



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

Frecuencia de Alteraciones Citogenéticas de Pacientes con Trisomía 21
del Hospital Infantil de México Federico Gómez.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

CLAUDIA GUADALUPE PALACIOS GUERRERO

TUTORA

DRA. VERÓNICA FABIOLA MORÁN BARROSO

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.

Hoja de Datos del Jurado

1. Datos del Alumno

Palacios Guerrero
Claudia Guadalupe
55 85 86 22
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
307003582

2. Datos del Tutor

Dra.
Verónica Fabiola
Morán
Barroso

3. Datos del Sinodal 1

Dra.
Patricia
Ramos
Morales

4. Datos del Sinodal 2

M. en C.
Bertha
Molina
Álvarez

5. Datos del Sinodal 3

Q.F.B.
Rosa María
Arana
Trejo

6. Datos del Sinodal 4

M. en C.
Alicia Beatriz
Cervantes
Peredo

7. Datos del trabajo escrito

Frecuencia de Alteraciones Citogenéticas de Pacientes con Trisomía 21 del Hospital Infantil de México Federico Gómez.
73 p.
2014

DEDICATORIA

A la persona más maravillosa,
que día a día dio todo por ser el mejor,
que me enseñó de coches, de deportes, de trabajo, de la vida.

A la persona que más admiro y
aún con su recuerdo me sigue sorprendiendo.

A mi amado padre,

Raúl Palacios†.

A mi mamá,
porque siempre estuviste al pie del cañón,
por compartir desvelos, preocupaciones, estrés,
porque aún en los momentos más difíciles has sido una guerrera incansable.

A ti, Graciela Guerrero.

AGRADEZCO

Al Programa de Becas de Inicio a la Investigación (PROBEI) de la Comisión Coordinadora de Institutos Nacionales de Salud y Hospitales de Alta Especialidad (CCINSHAE) de la Secretaría de Salud, por el apoyo brindado para la realización de este trabajo, siendo el protocolo *“Revisión de la frecuencia de alteraciones citogenéticas de pacientes con diagnóstico de T21 o Síndrome de Down diagnosticados en el laboratorio de Citogenética del Depto. de Genética del HIMFG de 1992 a 2011”* con número de registro HIMFG 2012/073 autorizado por la Dirección de Investigación del Hospital Infantil de México Federico Gómez.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por abrirme las puertas a tan maravilloso mundo.

A mi tutora Dra. Verónica Morán, por creer en mí, por el apoyo, la paciencia y el tiempo brindado durante la realización de este trabajo.

A mis sinodales la Dra. Paty Ramos, la M. en C. Bertha Molina, Q.F.B. Rosy Arana, y la M. en C. Alicia Cervantes por el tiempo invertido en la revisión de la tesis y sus valiosos comentarios.

A la M. en C. Alicia Cervantes, porque para mí fue mi segunda tutora. Por el tiempo invertido y la mejor disposición cada semana para las revisiones, por la paciencia que me tuvo, el apoyo brindado y por compartir cada día sus conocimientos, gracias.

A la Dra. Paty Ramos por darme la oportunidad de trabajar con los “humanitos”, por tener siempre la paciencia y la mejor actitud para enseñar. Por sus valiosos comentarios de este trabajo que me hicieron reflexionar sobre qué es ser bióloga.

Al médico residente Christian Arias, por el tiempo y el apoyo brindado en la revisión de expedientes clínicos cuando fue necesario,

Sin duda, a mis primeras maestras de Citogenética, Linda Muñoz y Ariadna Morales con quienes “hice mis pininos” en el área. Porque siempre tuvieron las mejores palabras ante mis arranques de estrés, por compartir su conocimiento, su gusto por la citogenética y su actitud positiva ante cualquier situación.

A Vicky, Lalo, Angie, su amistad es de las mejores cosas que me ha dejado la Facultad de Ciencias. Gracias por recorrer juntos el largo camino, por compartir sueños, por su apoyo, por sus sonrisas y abrazos aún en los momentos de estrés y locura total.

A mis maestras Gina, Adri, Laura y Karem y a mis compañeros y amigos del Diplomado Fer, Antonio y Paulina, por sus comentarios, consejos y porras a lo largo de esta travesía.

A mi familia Guerrero Cortés, por ser todos unos grandes ejemplos a seguir y por el apoyo incondicional que nos han brindado, en particular a mi Abue Conchita, que es la mejor persona que conozco, que alegría que pueda compartir contigo este logro. A mi tío Ger que nunca nos has dejado desprotegidas y durante los momentos más difíciles siempre has estado apoyándonos, aún recuerdo tu examen profesional, que gusto que ahora se invierten los papeles. A mi prima Diana, por compartir conmigo la pasión por correr.

A mis hermanas por tolerar mi estrés y los cambios de humor. A mis sobrinos por ser mi fuente de inspiración, porque sus sueños me obligan a ser una mejor tía. A mis papás que me han dado la mejor herencia: valores y una profesión. A Ustedes papás, gracias, porque hemos logrado una meta más.

A la familia Juárez Pérez, en especial a ti David, que siempre has estado de manera incondicional en los peores momentos, porque con tu cariño, me has ayudado a ser una mejor persona, a elevar mis sueños y seguir luchando por ellos. Gracias por esas tardes interminables en la biblioteca, por estar ahí cuando sentía que ya no podía más y cuando mi carácter, debido al estrés, no era el mejor. Gracias por compartir conmigo uno de tantos sueños.

ÍNDICE	Página
RESUMEN	8
1. INTRODUCCIÓN	
1.1 Cromosomas: estructura y organización	10
1.2 Cariotipo humano	14
1.3 División celular: mitosis y meiosis	16
1.4 Alteraciones cromosómicas	21
1.4.1 Alteraciones cromosómicas numéricas	21
1.4.2 Alteraciones cromosómicas estructurales	24
1.5 Técnicas Citogenéticas	26
1.5.1 Principales técnicas de bandeo	26
1.5.2 Técnicas moleculares	28
1.5.2.1 Hibridación <i>in situ</i> con fluorescencia (FISH)	28
1.5.2.2 Hibridación genómica comparativa (CGH)	29
1.5.2.3 Hibridación genómica en matrices (aCGH)	29
1.6 Indicaciones para la realización de estudios citogenéticos	31
1.7 Síndrome de Down o Trisomía 21	32
1.8 El cromosoma 21	33
1.9 Variantes citogenéticas causantes de trisomía 21	35
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	37

3. JUSTIFICACIÓN	38
4. OBJETIVOS	39
5. MATERIALES Y MÉTODOS	40
6. CRITERIOS	42
7. ANÁLISIS DE DATOS	43
8. CONSIDERACIONES ÉTICAS	43
9. RESULTADOS	44
10. DISCUSIÓN	54
11. CONCLUSIONES	66
12. REFERENCIAS	67
ANEXO 1	73

RESUMEN

El Síndrome de Down (SD) es debido a una trisomía del cromosoma 21 (T21) por una de 5 variantes citogenéticas, ocurre en uno de cada 700 recién nacidos vivos y cursa con retraso mental. Es el síndrome cromosómico más común y de mayor solicitud de consulta en el Hospital Infantil de México Federico Gómez (HIMFG), su valoración integral requiere del análisis citogenético para confirmar el diagnóstico y determinar el tipo de alteración por lo que la pregunta de investigación fue: ¿Cuál es la frecuencia de cada una de las variantes citogenéticas en los niños con SD diagnosticados en el laboratorio de citogenética del HIMFG?

JUSTIFICACIÓN: El SD es la primera causa de consulta en el departamento de Genética del HIMFG y no se ha determinado el tipo ni frecuencia de las alteraciones citogenéticas en estos pacientes. **OBJETIVOS. General:** Determinar el tipo y frecuencia de alteraciones del cromosoma 21 asociadas a SD. **Específicos:** Determinar la frecuencia de cada variante citogenética. Identificar si la edad de los padres es factor de riesgo en esta población. Identificar el lugar de procedencia más frecuente de los pacientes con SD. **MATERIAL Y MÉTODOS.** Diseño del estudio: transversal, descriptivo, observacional y retrospectivo. Muestra: se incluyeron los reportes de todos los casos con diagnóstico clínico de T21 de 1992 a 2011. Se revisaron los reportes de cariotipo del laboratorio de citogenética del HIMFG de 1992 a 2011. Se obtuvieron los porcentajes de los tipos de alteración cromosómica encontrados. Se analizó la edad de los padres por tipo de variante citogenética y se identificó el lugar de procedencia más frecuente de los pacientes con SD. **RESULTADOS.** En el periodo se reportaron un total de 9,862 cariotipos, de los cuales 2,018 (20.46%) fueron referidos por diagnóstico de SD, en 97 de ellos el resultado no confirmó el diagnóstico, correspondiendo a 96 casos con cariotipo normal (4.75%) y 1 caso (0.05%) con cariotipo anormal (48,XXXX). Se obtuvieron 1,921 resultados con T21, 1048 (54.56%) fueron de sexo masculino y 873 (45.44%) femeninos. La edad al diagnóstico comprendió un rango de 1 día a 25 años siendo el grupo etario más frecuente de 1 mes 1 día a 12 meses (857 pacientes). Se identificó el lugar de procedencia de 1,005 pacientes, de los cuales 523 fueron del Estado de México y 263 del Distrito Federal. Del total de los casos con T21, 1,795 (93.44%) correspondieron a la forma libre y 7 de ellos presentaron otras alteraciones citogenéticas. El 4.79% (92 pacientes) presentaron una translocación robertsoniana, siendo la más frecuente la t(14;21) en 59 casos. En 32 pacientes (1.67%) se identificó un mosaico, los mosaicos identificados incluyeron una línea celular normal, con trisomía libre, translocación u otros rearrreglos. Dos pacientes con

T21 (0.01%) presentaron aberraciones cromosómicas diferentes que involucran al cromosoma 21; uno fue un derivado del cromosoma 5 de una t(5;21)pat y otro fue un anillo doble del cromosoma 21 con mosaicismo dinámico con cariotipo 46,XX,+21, idic r(21;21)(::q22.3->p11.2?::p11.2?->22.3::). Se realizó cariotipo a padres y otros familiares de pacientes con T21, identificando a 7 madres portadoras de una translocación robertsoniana. Para la edad de los progenitores, el grupo etario más frecuente en las tres variantes citogenéticas fue 21-25 años. **DISCUSIÓN.** El 20.46% de los estudios realizados en el laboratorio de citogenética fueron por diagnóstico clínico de SD. El 4.75% de los estudios realizados no correspondió a T21, lo cual pudo deberse a que el número de células analizadas no fue suficiente para descartar un mosaico en baja proporción o no se usaron técnicas moleculares para detectar microduplicaciones. Por el número de casos reportados de T21 (1921), este trabajo es el segundo después del trabajo de Mutton *et al.*, (1996) en el cual, reportaron 5,737 casos de T21 en un periodo de estudio de 5 años. El porcentaje de pacientes masculinos vs femeninos (54.56% vs 45.44%) ya se ha reportado en la literatura y la causa aún es desconocida (Staples *et al.*, 1991; Mutton, *et al.*, 1996; Devlin y Morrison, 2004). La edad más frecuente de los pacientes fue de 1 mes hasta los 12 meses y en general, los pacientes acuden a valoración clínica durante los 2 primeros años de vida. El número de pacientes que provinieron del Estado de México puede deberse al tamaño de su población, a la cercanía que existe con el Distrito Federal y a los convenios entre Instituciones. La frecuencia de las variantes citogenéticas corresponde con la reportada en la literatura, sin embargo, en los casos con T21 libre y mosaicos sería conveniente analizar un número mayor de células para determinar mejor la frecuencia para cada una de estas, ya que algunas T21 libres podrían ser mosaicos en baja proporción que por el número de células analizadas no hayan sido detectados. La edad de los padres para las T21 libres y mosaicos indican un efecto de no disyunción; sin embargo, el grupo etario en las tres variantes coincide con la edad reproductiva óptima de nuestra población. **CONCLUSIONES.** La variante más frecuente de SD es la trisomía libre, seguida de translocaciones robertsonianas, en tercer lugar se encuentran los mosaicos, lo que concuerda con las alteraciones citogenéticas reportadas en la literatura internacional. Se observó un efecto de la edad materna en las T21 libres. Para los casos referidos con cariotipo normal y fenotipo compatible con T21, sería conveniente realizar estudios de FISH para descartar mosaicismo en baja proporción o rearrreglos crípticos.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Cromosomas: estructura y organización.

Los cromosomas de las células eucariotas están formados por cromatina, que es un complejo de DNA y proteínas y se encuentran dentro de la envoltura nuclear que los separa del citoplasma celular (Pierce, 2009). La cromatina está compuesta de DNA, RNA y proteínas histónicas y no histónicas que participan en la condensación del DNA para formar los cromosomas, y que también participan en la replicación, transcripción y reparación del DNA (Alberts, *et al.*, 2014).

La longitud aproximada del DNA total de los cromosomas humanos es de 3×10^9 pb (Lander, *et al.*, 2001), el DNA presenta diferentes niveles de condensación dentro de la célula (Fig. 1). La doble hélice de DNA mide aproximadamente 2 nm de diámetro, el primer nivel de condensación es el nucleosoma (11 nm), aproximadamente 146 pb del DNA se encuentran enrollados alrededor de un núcleo de una partícula nucleosómica, la cual está constituida por un octámero de histonas, compuesto de dos moléculas de cada histona H2A, H2B, H3 y H4, las dos primeras en 2 heterodímeros y las últimas en un tetrámero (Arents y Moudrianakis, 1993; Luger, *et al.*, 1997).

El DNA que se encuentra entre los nucleosomas es llamado DNA de unión y tiene una longitud que oscila entre 20-90 pb dependiendo de la especie, tejido, etc. (Van Holde, 1988). La histona H1 estabiliza la entrada y salida del DNA de la partícula central, formando el complejo cromatosoma. Las histonas son proteínas de baja masa molecular, aproximadamente de 12-16 kDa, están constituidas, con más del 20%, de lisina y arginina, aminoácidos de carga positiva que pueden unirse fuertemente al DNA por tener éste carga negativa (Arents y Moudrianakis, 1993; Hansen, 2002; Alberts, *et al.*, 2014).

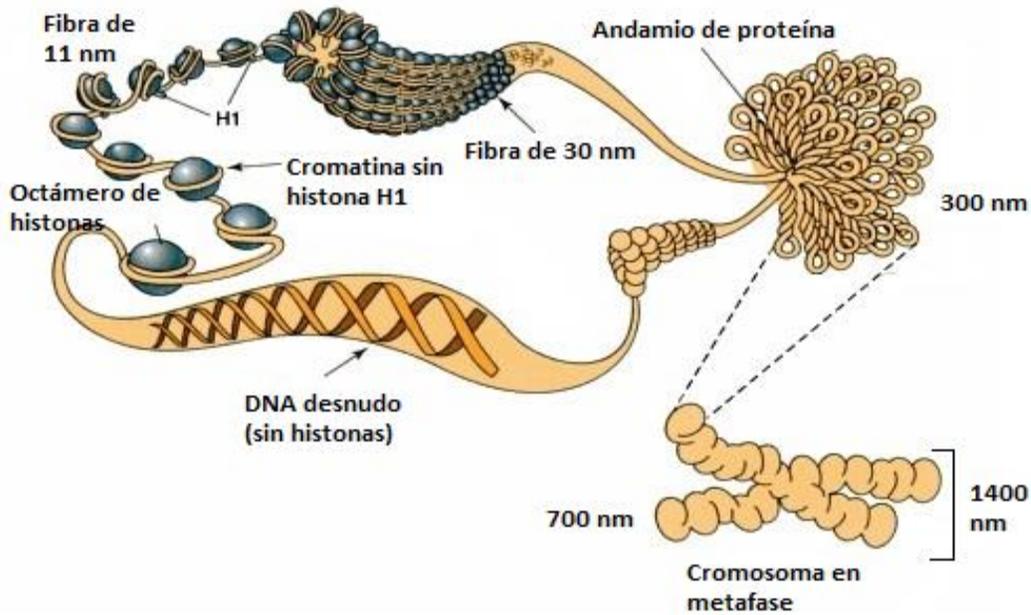


Fig. 1. Niveles de condensación del DNA. Se observa como el DNA comienza a compactarse formando los nucleosomas al enrollarse en los octámeros de histonas y la formación de los diferentes niveles de condensación de la fibra de cromatina. (Imagen modificada de Devlin, 2002).

El segundo nivel de condensación es la fibra de 30 nm formada por la interacción entre las histonas H1 de nucleosomas adyacentes en forma repetida. Existen dos modelos para explicar su estructura: uno de ellos es el del solenoide en donde se propone que la fibra de 30 nm forma una superhélice con 6-8 nucleosomas por vuelta y el DNA de unión se enrolla alrededor del eje central conforme el DNA enrolla a los nucleosomas. El segundo modelo es en una estructura en zig-zag, aquí los nucleosomas toman esta disposición y a diferencia del modelo anterior el DNA de unión atraviesa el eje central (Felsenfeld y McGhee, 1986; Finch y Klug, 1976) (Fig. 2).

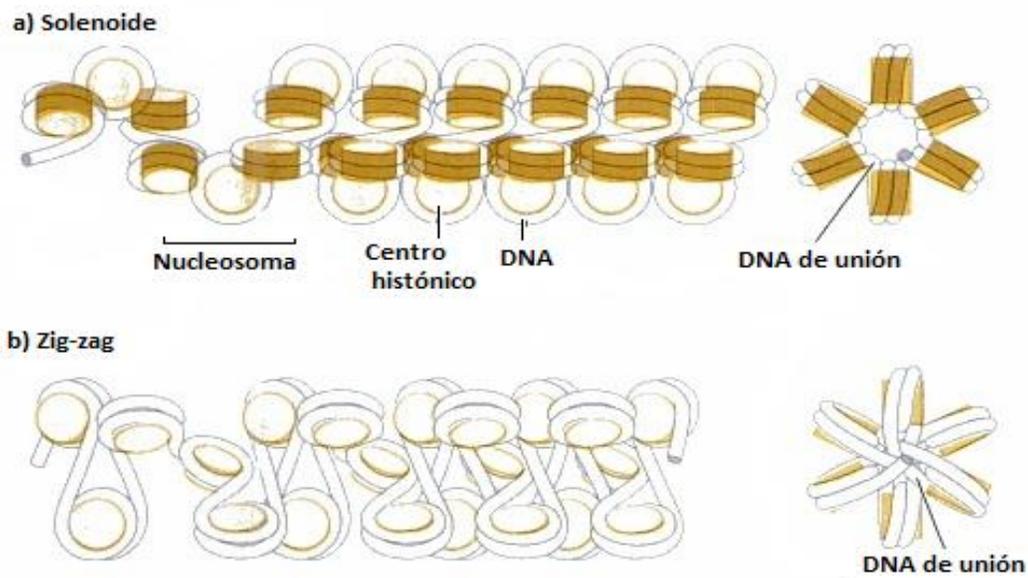


Fig. 2. Modelos de condensación de la fibra de cromatina de 30 nm. a) Estructura de solenoide con seis nucleosomas por vuelta; b) Nucleosomas en zig-zag. (Imagen modificada de Watson, *et al.*, 2004).

En el siguiente nivel de condensación, la fibra de 30 nm se pliega para formar asas o bucles de 20,000 a 100,000 pb de DNA con una longitud aproximada de 300 nm. Los bucles están anclados a un andamio proteico central, en donde se pliegan y condensan para formar fibras de 250 nm que a su vez se compactan de tal manera que presentan un espesor de 700 nm. Los cromosomas que se observan en metafase tienen una longitud de 1,400 nm (Miller y Therman, 2001).

En metafase los elementos que conforman a los cromosomas son un brazo corto (p), un brazo largo (q), un centrómero y un par de telómeros. El centrómero es la región de constricción primaria, en donde se mantienen unidas las cromátidas hermanas y en donde se forman los cinetocoros, que son complejos proteicos, cada uno unido a una cromátida hermana y a los cuales se unen los microtúbulos del huso acromático que son responsables junto con

moléculas motoras del movimiento de los cromosomas en la división celular (Fig. 3). El DNA centromérico está constituido de secuencias altamente repetidas en tándem e incluye un repetido de 171 pb presente en todos los centrómeros humanos (Willard, 1985; Miller y Therman, 2001).

Los telómeros son tramos de secuencias repetidas de TTAGGG, que forman los extremos de los cromosomas, estas secuencias se repiten de 500 a 5,000 veces aproximadamente. Los telómeros tienen como función conservar la integridad estructural del cromosoma y asegurar la replicación completa del DNA (Fig. 3) (Moyzis, *et al*, 1988).

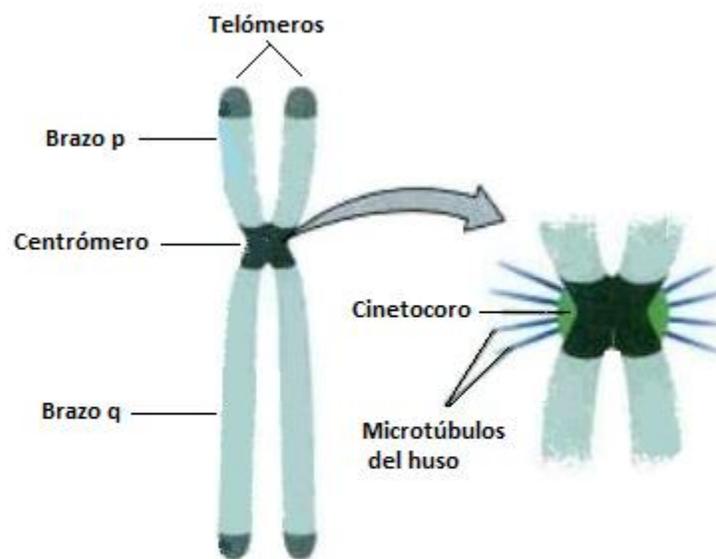


Fig. 3. Partes que conforman a un cromosoma. A la izquierda, se observan los dos brazos (p y q), los telómeros y el centrómero de un cromosoma submetacéntrico; A la derecha cinetocoros y microtúbulos del huso acromático (Imagen modificada de Pierce, 2009).

1.2 Cariotipo humano

El cariotipo describe el complemento cromosómico normal o anormal, constitutivo o adquirido de un individuo (ISCN, 2013); es el análisis de laboratorio habitual en donde los cromosomas son apareados, alineados y enumerados de acuerdo a su patrón de bandeo, posición del centrómero y tamaño (Mckinlay, *et al.*, 2011).

Los cromosomas, de acuerdo a la posición del centrómero pueden ser:

Metacéntricos. El centrómero se localiza en la parte media del cromosoma y por lo tanto los brazos son del mismo tamaño.

Submetacéntricos. El centrómero se ubica más cerca del extremo de uno de los brazos, lo que origina que un brazo sea más largo que el otro, brazo corto (p) y brazo largo (q).

Acrocéntrico. El centrómero se localiza casi en el extremo de uno de los brazos, provocando que el brazo corto, sea muy pequeño además presenta estructuras llamadas satélites (Fig. 4).

Las células somáticas humanas en condición diploide contienen 23 pares de cromosomas, 22 son autosomas y el par restante es de cromosomas sexuales, XX en la mujer y XY en el hombre. Los 23 pares de cromosomas se han clasificado en siete grupos según su tamaño y posición del centrómero, corresponden a los grupos A a la G (ISCN, 2013). Cada uno de los cromosomas humanos presenta una serie continua de bandas, consistentes y específicas de cada par que permiten identificarlos. Las bandas se localizan a lo largo de los brazos del cromosoma en diversas regiones que están delimitadas por puntos de referencia específicos (Fig. 5) (ISCN, 2013).

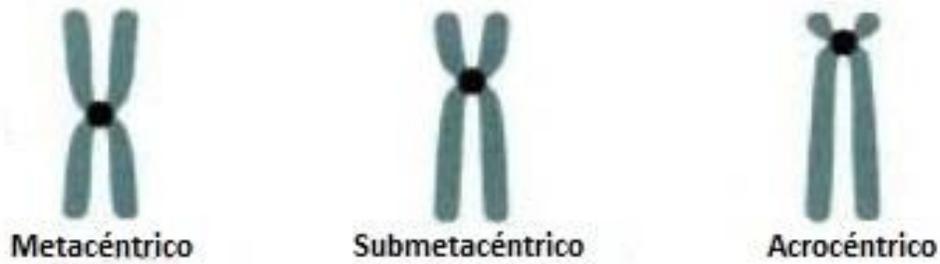


Fig. 4. Clasificación de los cromosomas de acuerdo a la posición del centrómero (Modificada de Pierce, 2009).

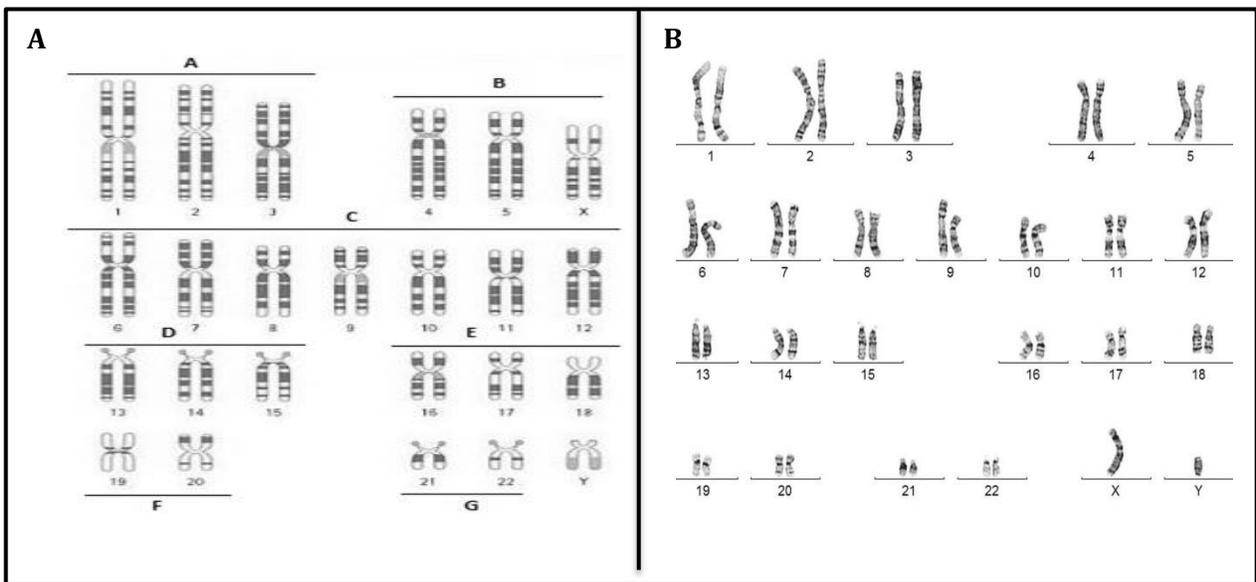


Fig.5. Clasificación de cromosomas por grupo. A) Idiograma de los cromosomas. Un idiograma es la representación esquemática de un cariotipo (Modificado de Turnpenny y Ellard, 2009). B) Cariograma 46,XY con técnica de bandas GTG obtenido por sistema automatizado (Biól. Linda Muñoz Martínez, Lab. de Citogenética. Depto. Genética, HIMFG). El cariograma es la imagen o fotografía digitalizada del arreglo de los cromosomas en el cariotipo.

1.3 División Celular: Mitosis y Meiosis

El ciclo celular es una serie de etapas en donde células madre darán origen a células hijas, las cuales heredan la información genética de las células que las originaron. Este ciclo se divide en cuatro fases: G1, Síntesis, G2 y Fase M (Strachan y Read, 2004).

La mitosis o fase M es un proceso de división celular en donde las moléculas del DNA replicado se reparten de manera exacta en dos células hijas, es decir contienen la misma cantidad de material genético que la célula de origen (conjunto diploide, $2n$). Esta fase se divide en seis estadios: profase, prometafase, metafase, anafase, telofase y citocinesis (Fig. 6) (Miller y Therman, 2001).

- Profase: En esta fase comienzan a ser evidentes las cromátidas hermanas. La cromatina se condensa cada vez más y el huso mitótico comienza a formarse.
- Prometafase: La envoltura nuclear se fragmenta y algunos de los microtúbulos se unen a los cinetocoros de cada cromosoma, formando los microtúbulos del cinetocoro.
- Metafase: Los cromosomas alcanzan su máxima condensación y se alinean en el plano ecuatorial.
- Anafase: Las cromátidas hermanas migran a través de los microtúbulos a polos opuestos.
- Telofase: Comienzan a formarse dos núcleos idénticos con sus respectivas envolturas. Los cromosomas se encuentran menos condensados.
- Citocinesis: Es la división del citoplasma y membrana celular, ésta se forma entre las dos células hijas separándolas como dos células diploides idénticas.

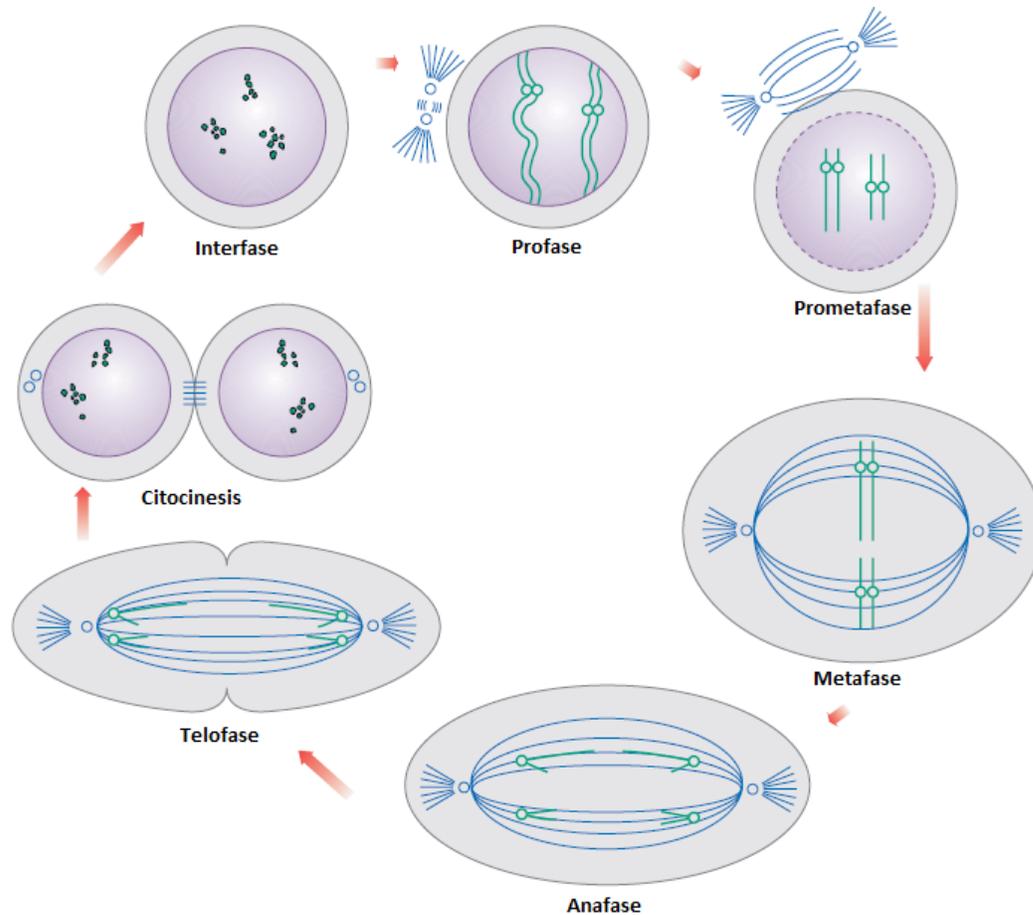


Fig. 6. Esquemas de cada una de las etapas de la mitosis. Una vez que las células replicaron su material genético entran a mitosis. Los cromosomas (de color verde) comienzan a ser visibles en la profase y el huso mitótico comienza a formarse. Durante la prometafase la envoltura nuclear se fragmenta y los microtúbulos se unen a los cinetocoros. Los cromosomas replicados se alinean sobre el plano ecuatorial y las cromátidas hermanas son separadas en la anafase. La división celular se completa cuando se forma la envoltura nuclear de las dos células hijas y cada una presenta su propio citoplasma (Imagen modificada de Moore y Best, 2007).

La meiosis es una división celular especializada que reduce el número cromosómico a la mitad (conjunto haploide, $1n$) a partir de una célula diploide, produciendo 4 células genéticamente variables o gametos, su adecuado desarrollo y terminación está relacionado con la fertilidad y el desarrollo normal de los descendientes al transferir la información íntegra y de manera adecuada a las siguientes generaciones. La reducción en el número de cromosomas se

produce por una sola ronda de replicación del DNA seguida de dos divisiones celulares, Meiosis I y Meiosis II (Hultén, 2010; Clift y Marston, 2011).

La meiosis I comprende cuatro fases: profase I, metafase I, anafase I y telofase I. La profase I a su vez, se divide en cinco fases: leptoteno, cigoteno, paquiteno, diploteno y diacinesis. La Meiosis II también comprende cuatro fases: profase II, metafase II, anafase II y telofase II (Fig. 7) (Page y Hawley, 2003).

- Profase I:
 - Leptoteno: Los cromosomas comienzan a compactarse y ser visibles. Cada cromosoma presenta dos cromátidas que están unidas por un centrómero, pero no son visibles como entidades separadas; sus regiones terminales están unidas a la membrana nuclear.
 - Cigoteno: Los cromosomas homólogos comienzan a aparearse formando bivalentes, cada uno compuesto de 4 cromátidas. Los cromosomas X e Y aparecen en la región pseudoautosómica que se encuentra en la región terminal de los brazos cortos de cada uno.
 - Paquiteno: Se ha completado la formación de bivalentes y se resuelve la recombinación como entrecruzamientos, lo cual es importante para la correcta segregación de los cromosomas.
 - Diploteno: La condensación de los cromosomas continúa, los quiasmas se han formado, representando los puntos de recombinación y los cromosomas homólogos comienzan a separarse.
 - Diacinesis: Los quiasmas se desplazan hacia los telómeros, la envoltura nuclear se fragmenta y la condensación de los cromosomas se ha completado.
- Metafase I: Los cromosomas homólogos se alinean en pares sobre la placa ecuatorial unidos por los quiasmas.
- Anafase I: Cromosomas homólogos se separan y se desplazan a polos opuestos mediante las fibras del huso acromático.

- **Telofase I:** La célula original se divide y se forman dos núcleos, cada uno con un conjunto haploide, pero cada cromosoma contienen dos cromátidas.
- **Profase II:** Comienza de nuevo la condensación de la cromatina y se forma el huso acromático.
- **Metafase II:** Los cromosomas se alinean sobre la placa ecuatorial. Los cinetocoros se encuentran adheridos a los microtúbulos de los polos.
- **Anafase II:** El centrómero de cada cromosoma se divide, las cromátidas hermanas se separan y cada una migra a un polo.
- **Telofase II:** Cada célula se divide y se forman dos núcleos, cada uno con un conjunto haploide, cada cromosoma con una cromátida. Los cromosomas comienzan a descondensarse. El producto final son cuatro gametos genéticamente distintos.

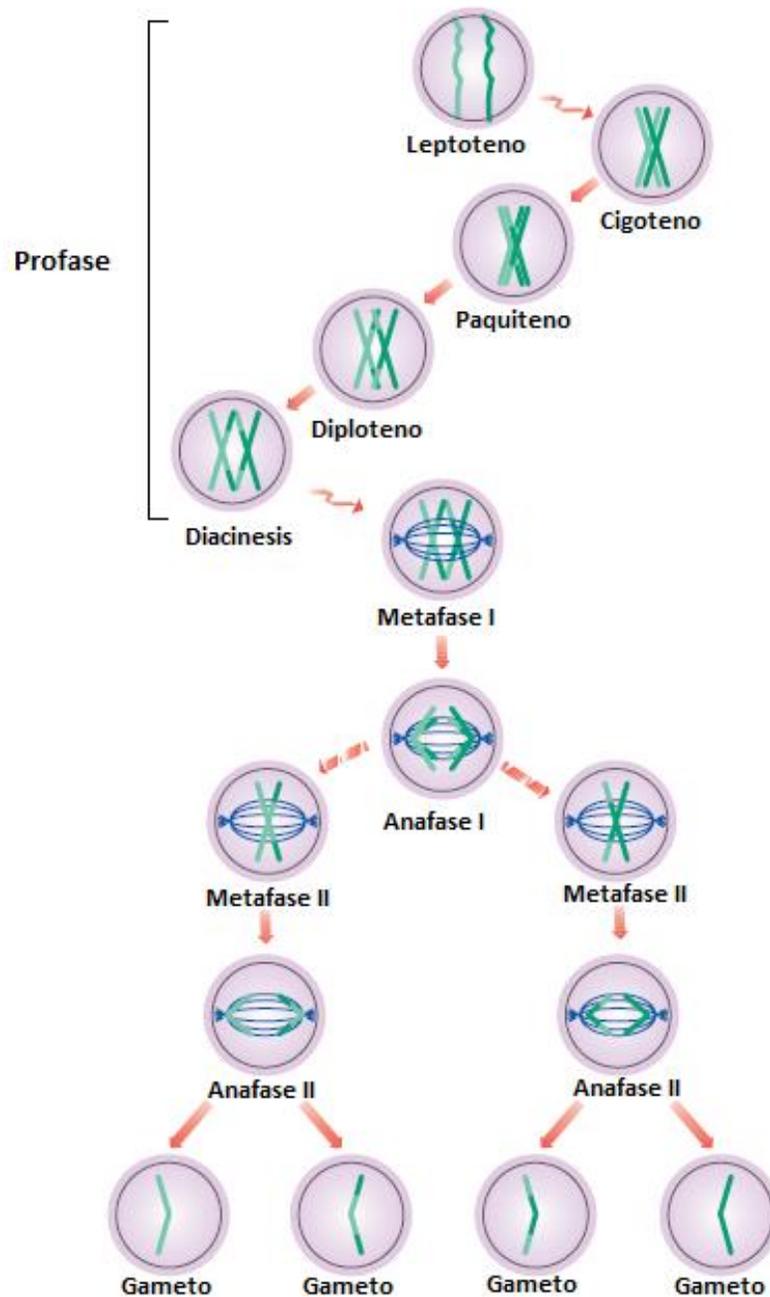


Fig. 7. Esquemas de cada una de las etapas de la meiosis. Después de la replicación del DNA, las células entran a profase I, la cromatina comienza a compactarse, los cromosomas homólogos se aparean y recombinan. La membrana nuclear se disgrega y los cromosomas están finalmente condensados. En la metafase I, los cromosomas se alinean sobre la placa ecuatorial, posteriormente en la anafase I se separan y migran a polos opuestos. En la telofase I se forman dos núcleos con un conjunto haploide. La meiosis II es similar a la mitosis, sólo que en la segunda fase de la meiosis, hay 23 cromosomas, cada uno compuesto de dos cromátidas que se separan en la anafase II para formar gametos haploides genéticamente distintos (Imagen modificada de Moore y Best, 2007).

1.4 Alteraciones Cromosómicas

Las alteraciones cromosómicas son cambios visibles al microscopio óptico que afectan el número y/o estructura de uno o más cromosomas (Strachan y Read, 2004). Existen dos tipos de aberraciones cromosómicas, las numéricas y las estructurales.

1.4.1 Alteraciones cromosómicas numéricas

En las alteraciones numéricas hay una variación en el número de cromosomas y se clasifican en dos tipos:

- Aneuploidía: es la ganancia o pérdida de uno o más cromosomas sin ser múltiplos del número haploide.
- Euploidía: es la ganancia de uno o más conjuntos haploides.

Las aneuploidías pueden deberse a ganancia o pérdida de cromosomas. La pérdida de un cromosoma en un gameto se llama nulisomía y la pérdida de un cromosoma en una célula diploide se denomina monosomía, mientras que la ganancia de uno o más cromosomas se denomina disomía en gametos y trisomía, tetrasomía, etc. en células diploides. Todos estos cambios se pueden producir tanto en la meiosis I como en la meiosis II, siendo la causa principal una no disyunción, ya sea de cromosomas homólogos o de cromátidas hermanas, respectivamente (Fig. 8) (Luthard, 2001). No obstante la no disyunción también puede ocurrir en mitosis, específicamente en las etapas iniciales del desarrollo de un cigoto, lo que provoca que el individuo tenga un mosaico, es decir dos o más líneas celulares diferentes (Girirajan, 2009; Mckinlay, *et al.*, 2011).

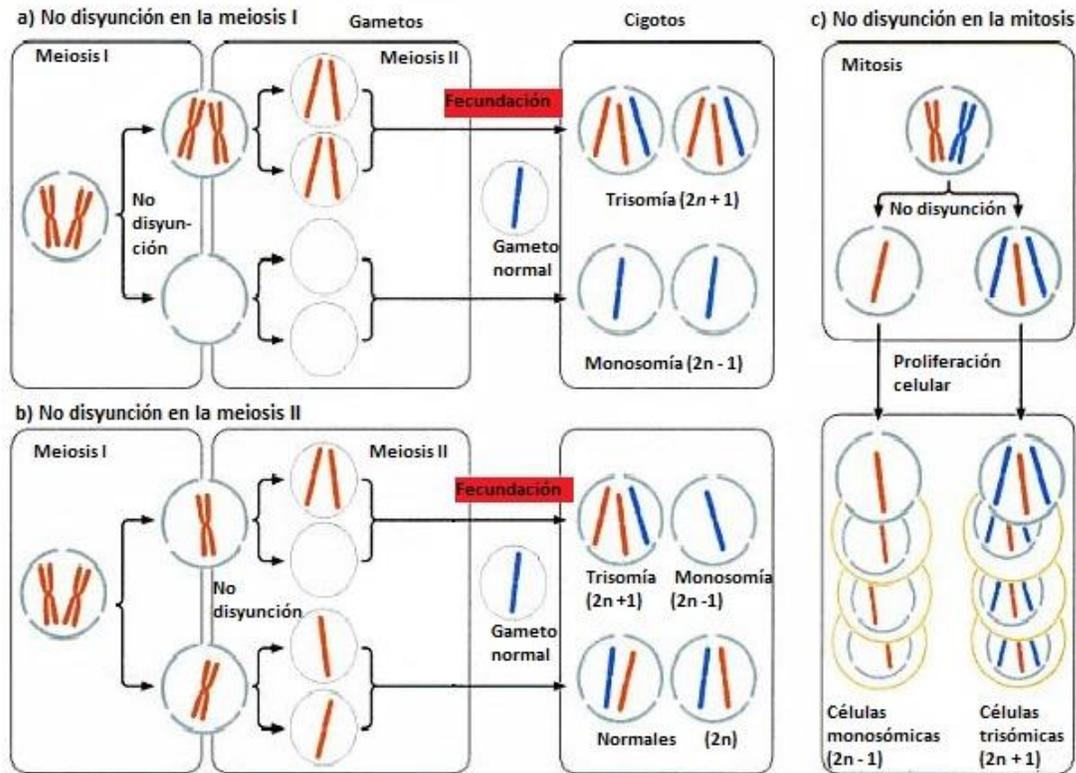


Fig. 8. Esquema de no disyunción en meiosis I (a), meiosis II (b) y mitosis (c). (Imagen modificada de Pierce, 2009).

Una de las alteraciones numéricas más frecuentes es la trisomía, ésta ocurre cuando las células presentan un cromosoma adicional al número normal de cromosomas, en el caso de los humanos presentan 47 cromosomas y se representa como $2n + 1$. Como ya se mencionó, el principal mecanismo para que ocurra una trisomía es la no disyunción, produciéndose con mayor frecuencia durante la meiosis I materna (Robinson y McFadden, 2002).

En los seres humanos, las trisomías de autosomas constituyen la aberración cromosómica más frecuente en productos de aborto espontáneo del primer trimestre (35%). Solo existen tres trisomías autosómicas viables en forma pura: la Trisomía 13 (Síndrome de Patau), la Trisomía 18 (Síndrome de Edwards) y la Trisomía 21 (Síndrome de Down) siendo esta última la más común (Robinson y McFadden, 2002).

La no disyunción meiótica, ha sido asociada con diversos factores de riesgo, entre ellos y el más importante es la edad materna avanzada. Una mujer con una edad a partir de los 35 años al momento de la concepción, tiene mayor probabilidad de tener eventos de no disyunción sin importar grupo étnico, zona geográfica o estatus socioeconómico. El efecto de edad materna se ha visto tanto en meiosis I, como en meiosis II, pero se ha observado que en la mayoría de los casos ocurre en meiosis I. Esto se asocia a que la división meiótica femenina se inicia en la etapa fetal y el primer ovocito permanece detenido en la primera etapa de la meiosis I (dictioteno) hasta que es ovulado en la etapa adulta, es decir, por lo menos 10 años y hasta 45-50 años en que será ovulado el último ovocito (Mikkelsen, *et al.*, 1995; Sherman, *et al.*, 2005).

En mujeres jóvenes, la maquinaria meiótica tiene un funcionamiento óptimo, lo que favorece una correcta segregación, a menos que se presenten errores en el patrón de recombinación o ausencia de quiasmas. Esto aunado a un control laxo de los puntos de monitoreo de los eventos de recombinación, hace que la frecuencia de aneuploidía en los ovocitos sea elevada (20-30%). A medida que la edad de la mujer se incrementa, la maquinaria meiótica está expuesta además a diversos factores ambientales, que la hacen menos eficiente y más susceptible a errores (Sherman, *et al.*, 2005).

Los efectos de no disyunción asociados a una edad materna avanzada podrían deberse a: 1) una acumulación de efectos tóxicos del ambiente durante el tiempo de arresto del ovocito; 2) a una degradación de la maquinaria meiótica a medida que transcurre el tiempo, mientras el ovocito está detenido; 3) cambios en el funcionamiento ovárico debido a señalizaciones hormonales subóptimas; 4) degradación del ambiente uterino y 5) cambios en las frecuencias y sitios de recombinación homóloga (Lamb *et al.*, 2005b; Sherman, *et al.*, 2005).

El efecto de edad paterna en la no disyunción durante la gametogénesis no ha sido tan relevante. Se sabe que de los casos con T21, la proporción entre errores de meiosis I y II en hombres es de 1:1 vs. 3:1 en mujeres. Para los errores de no disyunción, se ha propuesto que cerca del 6-10% se deben a errores de no disyunción paterna, lo que se asocia con una recombinación reducida entre los cromosomas 21 que no segregaron. Sin embargo, no se ha

podido asociar la edad paterna con errores de no disyunción, ya que la proporción de errores en la espermatogénesis comparada con los errores en la ovogénesis ha sido muy baja, el principal motivo es que los espermatozoides pasan por varios puntos de control estrictos durante la meiosis, por lo que la edad paterna avanzada y el riesgo de una no disyunción en la espermatogénesis, no es una relación directa (Lamb, *et al.*, 2005b; Sherman, *et al.*, 2005).

1.4.2 Alteraciones cromosómicas estructurales

Son los cambios en el arreglo de material e información de los cromosomas individuales y se producen en su gran mayoría, por la reparación de rupturas cromosómicas o por errores en los mecanismos de recombinación. Dependiendo de las etapas del ciclo celular en donde ocurrieron los errores, se afectará una o ambas cromátidas, es decir si la ruptura se lleva a cabo en la fase G1 y no se repara antes de la fase S, entonces la alteración afectará a ambas cromátidas, pero si la ruptura ocurre en la fase G2, la alteración puede ser sólo en una cromátida (Miller y Therman, 2001; Guízar-Vazquez, 2001).

Existen diferentes tipos de rearrreglos de los cromosomas, los que no involucran pérdida ni ganancia de material genético y el fenotipo es normal (balanceados) o los que involucran alguna pérdida o ganancia de material genético y como resultado un fenotipo anormal (desbalanceados):

1. Anillo: unión de extremos teloméricos rotos de un cromosoma.
2. Deleción: pérdida de un segmento de cromosoma.
3. Duplicación: segmento de cromosoma repetido en él mismo.
4. Inserción: adición de un segmento de cromosoma en un cromosoma no homólogo. En este rearrreglo no hay pérdida ni ganancia de material genético, es decir, es un rearrreglo balanceado.

5. Inversión: segmento cromosómico rotado 180° sobre el mismo cromosoma, sin pérdida ni ganancia de material genético.
6. Translocación recíproca balanceada: se origina cuando se da un intercambio de segmentos entre ambos cromosomas. En esta translocación la transferencia de material es completa ya que no hay una ganancia o pérdida de información además el fenotipo generalmente es completamente normal.
7. Translocación robertsoniana o fusión céntrica: Implica a los brazos largos de dos cromosomas acrocéntricos fusionados por los centrómeros o por intercambios a nivel de los brazos cortos. En este último caso se generan cromosomas dicéntricos. En este tipo de rearrreglo, aun cuando hay pérdida del material de los brazos cortos de los acrocéntricos, el fenotipo es normal. El material perdido corresponde a secuencias no codificantes altamente repetidas en tándem, DNA satélite y genes para RNA ribosomales (Mckinlay, *et al.*, 2011).

1.5 Técnicas Citogenéticas

La citogenética humana inició en 1956 tras el análisis y determinación del número de cromosomas humanos por Tjio y Levan (Tjio y Levan, 1956). Desde entonces la citogenética se ha convertido en un campo muy importante para el análisis de los cromosomas y su relación con las enfermedades humanas (Chial, 2008). La citogenética juega un papel importante para la genética clínica, por lo que técnicas convencionales clásicas y la citogenética molecular son utilizadas para el análisis cromosómico asociado al diagnóstico clínico.

Las técnicas citogenéticas han sido perfeccionadas con el paso del tiempo y actualmente se utilizan, dependiendo del caso, técnicas moleculares. La citogenética convencional incluye técnicas de tinción para cariotipo de resolución estándar y cariotipo de alta resolución. Con las técnicas convencionales sólo se pueden diagnosticar aberraciones numéricas y estructurales de los cromosomas dentro del rango de poder de resolución del microscopio óptico que es de 3-5 Mb (Speicher y Carter, 2006).

1.5.1 Principales técnicas de bandeo

1. Bandas GTG (bandas G por tratamiento enzimático con Tripsina utilizando colorante Giemsa): Es la técnica más usada, y consiste en desnaturalizar las proteínas cromosómicas con la enzima tripsina y se utiliza Giemsa como colorante para obtener un patrón de bandas claras y oscuras. Las bandas oscuras (positivas) son ricas en adenina y timina mientras que las bandas claras (negativas) son ricas en guanina y citosina; esta diferencia entre bandas también indica la cantidad de material genético presente, por ejemplo en las bandas oscuras hay poca cantidad de genes, mientras que en las bandas claras se encuentran la mayor cantidad de genes (Velagaleti y Tonk, 2004). La técnica de bandas GTG clásicamente es la técnica fundamental para realizar

estudios citogenéticos en la mayoría de los laboratorios de citogenética y proporciona un análisis cromosómico con una calidad de 400 a 550 bandas en una célula en metafase y de 850 bandas en una célula en prometafase por conjunto haploide en un cromosoma humano (Keagle y Gersen, 2005).

2. Bandas QFQ (bandas Q por Fluorescencia usando Quinacrina): Los cromosomas son teñidos con quinacrina. Se observan por microscopio de fluorescencia. Las bandas características son brillantes y opacas, siendo las primeras, regiones ricas en adenina y timina, equivalentes a las bandas G oscuras (Keagle y Gersen, 2005).
3. Bandas RHG (bandas R mediante desnaturalización térmica utilizando Giemsa): Las preparaciones son expuestas a alta temperatura para después ser teñidas con colorante Giemsa; las bandas resultantes son el reverso de las bandas G; las regiones eucromáticas de los cromosomas humanos, ricas en guanina y citosina se tiñen de manera oscura, mientras que las regiones heterocromáticas ricas en adenina y timina se tiñen de manera clara (Wyandt y Tonk, 2004).
4. Bandas CBG (bandas C por hidróxido de Bario utilizando colorante Giemsa): Se utiliza un tratamiento con soluciones alcalinas (NaOH, Ba(OH)₂), solución salina y Giemsa para degradar DNA de regiones eucromáticas, lo que provoca que las regiones de heterocromatina constitutiva (centrómeros, brazos cortos y satélites de acrocéntricos y telómeros), se tiñan fuertemente por la cantidad de heterocromatina constitutiva presente en esas zonas (Wyandt y Tonk, 2004).
5. Bandas THG (bandas T por desnaturalización térmica usando Giemsa): Se tiñen las regiones teloméricas de los cromosomas. Se considera como una variante del bandeo R ya que el tratamiento con calor es más severo, disminuyendo la tinción en la mayor parte de los cromosomas, excepto en los telómeros por la estabilidad que le confieren las secuencias ricas en guanina y citosina (Keagle y Gersen, 2005).
6. Bandas NOR (Región de Organización Nucleolar): Se tiñen complejos de ribonucleoproteínas indicativos de la actividad de los genes de RNA ribosomal que se localizan en las regiones de organización nucleolar presentes en los tallos de los satélites de los cromosomas acrocéntricos. Las bandas NOR son útiles para la identificación de cromosomas marcadores, rearrreglos o polimorfismos que involucran

a cromosomas acrocéntricos. Para la tinción se emplea nitrato de plata (Keagle y Gersen, 2005).

7. Alta resolución: Se utiliza para detectar alteraciones estructurales que no pueden ser analizadas con la resolución que se obtiene en cromosomas en metafase; para obtener cromosomas en profase o prometafase las células se pueden sincronizar y cosechar al inicio de la división celular o se pueden emplear técnicas químicas de elongación para evitar la condensación de los cromosomas. La resolución que se puede obtener con esta técnica es de 850 a 1250 bandas por conjunto haploide (Wyandt y Tonk, 2004).

1.5.2 Técnicas moleculares

Las técnicas de Citogenética molecular se desarrollaron hace aproximadamente 25 años y son empleadas cuando las alteraciones estructurales son submicroscópicas y se requiere de una resolución mayor. Su uso ha sido importante en el análisis prenatal y de cáncer, así como en la identificación de genes y enfermedades. Algunas de las técnicas moleculares utilizadas en Citogenética son la hibridación *in situ* con fluorescencia (FISH, *fluorescence in situ hybridization*) y la Hibridación genómica comparativa (CGH, *comparative genomic hybridization*) (Speicher y Carter, 2006; Vorsanova, *et al.*, 2010).

1.5.2.1 Hibridación *in situ* con fluorescencia (FISH)

La técnica de FISH es una técnica molecular que requiere de sondas de DNA marcadas con fluorocromos y permite analizar alteraciones numéricas y estructurales como deleciones, inversiones, duplicaciones, translocaciones, intercambios y rearrreglos cromosómicos directamente sobre los cromosomas en metafase o en células en interfase. Una sonda es una secuencia específica de DNA complementaria a una secuencia blanco monocatenaria. Existen diferentes tipos de sondas: las centroméricas, de secuencia única y de pintado cromosómico. Para analizar las alteraciones, la sonda y la muestra (secuencia blanco) se desnaturalizan a

alta temperatura sobre el portaobjetos en donde se colocó la muestra (de aquí que se llame “*in situ*”), posteriormente, a una temperatura más baja, la sonda marcada y el DNA de los cromosomas se hibridan por complementariedad de bases. El análisis de la muestra se realiza con un microscopio de fluorescencia ya que la sonda hibridada emite fluorescencia cuando se visualizan los cromosomas con una luz cuya longitud de onda estimula el colorante fluorescente (Miller y Therman, 2001).

1.5.2.2 Hibridación genómica comparativa (CGH)

La técnica de CGH permite detectar los cambios en el número de copias del DNA, es decir permite analizar pérdidas y/o ganancias de múltiples regiones del genoma sin la visualización directa de los cromosomas y sin previo conocimiento de la región a analizar, utilizando como sonda el DNA genómico. Consiste en la hibridación competitiva entre el DNA del paciente y el DNA normal sobre cromosomas metafásicos normales. Las dos muestras de DNA se marcan con fluorocromos, el DNA del paciente con un fluorocromo verde y el DNA control con un fluorocromo rojo. El análisis se realiza mediante un programa informático que cuantifica la proporción de color rojo y verde en todos los cromosomas, por lo que una desventaja de esta técnica es que no permite detectar alteraciones estructurales balanceadas, como las translocaciones o inversiones. La resolución de la técnica es de 2 Mb para las ganancias y 10-20 Mb para las pérdidas (Kallioniemi, *et al.*, 1992; Miller y Therman, 2001).

1.5.2.3 Hibridación genómica comparativa en matrices (aCGH)

La técnica de aCGH permite el análisis simultáneo de todos los pares de cromosomas y puede detectar pérdidas y ganancias de segmentos de cromosomas o cromosomas completos. Al igual que en CGH, hay una hibridación competitiva entre el DNA del paciente y el DNA normal, pero no sobre cromosomas metafásicos, sino en una micromatriz que consiste de una superficie sólida a la cual se han adherido un conjunto de sondas de DNA, anteriormente de cromosomas artificiales bacterianos (BAC) y actualmente de oligonucleótidos. La proporción

de DNA del paciente y el DNA control se determina con un escáner y se interpreta mediante un software especial. La resolución de aCGH para detectar alteraciones es de <1 Mb (Wolff y Schwartz, 2005).

1.6 Indicaciones para la realización de estudios citogenéticos.

Los pacientes que presentan una o varias características clínicas y/o fenotípicas de posibles alteraciones genéticas son valorados y diagnosticados por médicos genetistas, los cuales deben tomar en cuenta ciertas consideraciones para indicar un estudio citogenético, entre ellas las siguientes (Tamar, *et al.*, 2008):

1. Más de dos malformaciones mayores complejas.
2. Ambigüedad genital.
3. Retraso en el desarrollo psicomotor o discapacidad intelectual.
4. Crisis convulsivas.
5. Individuos femeninos con talla baja.
6. Infertilidad.
7. Aborto recurrente.
8. Padres de niños con alteración cromosómica estructural.
9. Mujeres con enfermedades recesivas ligadas al X.

1.7 Síndrome de Down o Trisomía 21

El SD es causado por la presencia de una copia extra del cromosoma 21 (T21) que provoca retraso mental. Se le denomina SD en honor al médico inglés John Langdon Haydon Down quien fue el primero en describir la enfermedad en la literatura médica en 1866. Posteriormente, en 1959 Lejeune, Gautrier y Turpin determinaron que el origen de la enfermedad se debía a la presencia de un cromosoma 21 extra (Down y Lond, 1866; Lejeune, *et al.*, 1959).

La presencia de la copia extra del cromosoma 21 es resultado de una no disyunción en la segregación de un cromosoma 21. La no disyunción puede ocurrir en la meiosis I, en la meiosis II o en la mitosis, en la mayoría de los casos es de tipo meiótica, es decir durante la formación de los gametos, el 90% de los errores de no disyunción ocurre en la meiosis materna y están asociados a un efecto de edad (Mikkelsen, *et al.*, 1995), como ya se mencionó en las alteraciones numéricas. La T21 también puede originarse por alteraciones cromosómicas estructurales, en donde el número cromosómico es de 46, pero por la dosis génica equivale a una trisomía 21. La T21 completa se puede originar por translocaciones robertsonianas o isocromosomas 21q (Bornstein, *et al.*, 2010).

La T21 es la principal causa de discapacidad intelectual de origen genético, ocurre en 1 de cada 700 recién nacidos (Abdul, *et al.*, 2006; Papageorgiou, *et al.*, 2011), en el caso de los Estados Unidos de América, la recurrencia es de 1 de cada 1000 (Abdul, *et al.*, 2006; Turnpenny y Ellard, 2009), en México la frecuencia se estima en 1 de cada 650 recién nacidos (Secretaría de Salud, 2007). En relación a las frecuencias o diferencias en los grupos étnicos del SD, se mantiene que la recurrencia es de 1 en 700 recién nacidos, sin embargo, esta frecuencia se ha modificado, más que por un grupo étnico, por la posibilidad (de acuerdo a la legislación en diferentes países) del diagnóstico preimplantación, diagnóstico prenatal, la interrupción de embarazo, la edad materna avanzada (35 años o más), nivel académico y factores culturales de los padres (Sherman, *et al.*, 2005; Bornstein, *et al.*, 2010; Morris, *et al.*, 2011; Agopian, *et al.*, 2012).

1.8 El cromosoma 21

El cromosoma 21 pertenece al grupo de cromosomas acrocéntricos y es el más pequeño de todos. Contiene ~46.7 Mb, lo equivalente a 1-1.5% del genoma humano, su densidad génica es baja con 153 pseudogenes y 243 genes codificantes para proteínas de los cuales al menos 16 participan en el desarrollo del sistema nervioso central, en la producción de energía por la mitocondria, además de intervenir en la regulación de la transcripción del metabolismo oxidativo de las proteínas de unión (http://uswest.ensembl.org/Homo_sapiens/Location/Chromosome?r=21:35853178-35953178)

Se ha asignado una región del cromosoma 21 como responsable de originar el fenotipo de Síndrome de Down, se localiza en 21q22.3 y tiene una longitud aproximada de 5.4Mb, a esta región se le llama región crítica del Síndrome de Down (DSCR) (Fig. 9) y es llamada así porque una dosis extra (triple dosis) de esta región es suficiente para originar la mayoría de los datos característicos del fenotipo de SD. Sin embargo, el resto de los genes del cromosoma 21 en una triple dosis, también están implicados en algunos datos del fenotipo de SD, esto es debido a que hay un incremento de 50% en los niveles de RNA y de proteínas derivados de cada gen, sin embargo, no todos los genes siguen el mismo patrón de sobreexpresión (Olson, *et al.*, 2007).

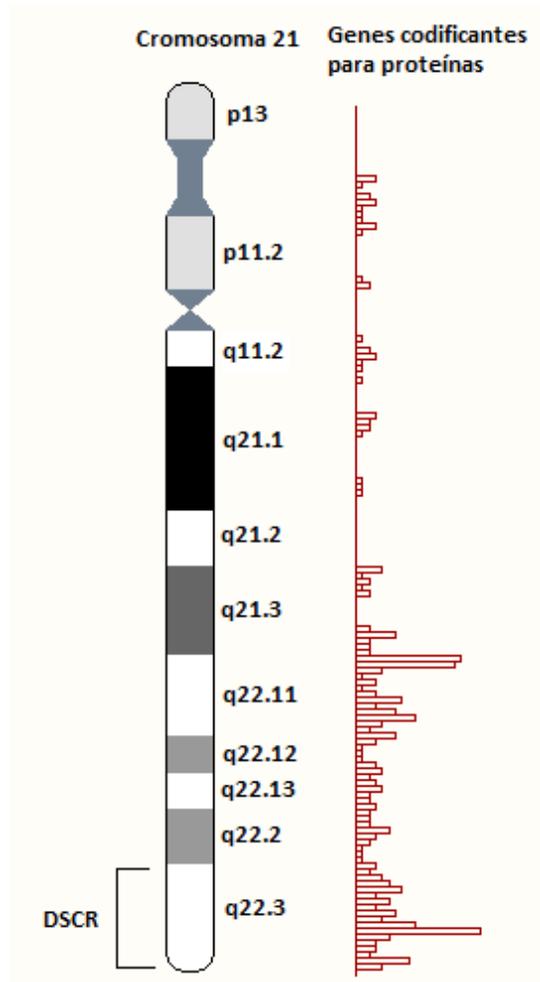


Fig. 9 Diagrama del cromosoma 21. A la izquierda, un diagrama del cromosoma 21 en donde se muestra la región crítica del Síndrome de Down. A la derecha se observa que la DSCR contiene una gran cantidad de genes que codifican para proteínas, comparada con el resto del cromosoma. (Imagen modificada de http://uswest.ensembl.org/Homo_sapiens/Location/Chromosome?r=21:35853178-35953178)

1.9 Variantes citogenéticas causantes de T21

Existen 5 variantes citogenéticas que pueden causar un fenotipo de SD, las cuales se describen a continuación:

1. Trisomía libre o regular. Es la más frecuente y se presenta en un 90-95% de los casos. Todas las células poseen 47 cromosomas (47,XX,+21 o 47,XY,+21), producto de una no disyunción (Fig. 10). Más del 80% de los casos están relacionados a una no disyunción materna, lo cual se vincula con la edad de la madre (Jyothy, *et al.*, 2000; Sherman, *et al.*, 2005).
2. Mosaicismo. Presencia de dos o más líneas celulares, una de ellas con un cromosoma 21 extra (47,XX,+21/46,XX o 47,XY,+21/46,XY). Se produce por una no disyunción de los cromosomas homólogos, en la división mitótica (postcigótica). Esta variante se presenta en el 2-4% de los casos (Petersen y Mikkelsen, 2000). Se han reportado casos de rescate trisómico, es decir el cromosoma 21 se pierde para formar una línea celular normal (46,XX o 46,XY) (McKinlay, *et al.*, 2004).
3. Translocación robertsoniana. El cromosoma 21 extra está translocado con otro cromosoma acrocéntrico, generalmente el 14 rob(14;21), o ambos cromosomas 21 están fusionados rob(21;21) o bien es un isocromosoma 21q i(21q) (Fig. 10). Un i(21q) se presenta cuando un cromosoma 21 por una división transversal anormal del centrómero da origen a estructuras con dos brazos cortos o dos brazos largos. Los dos componentes 21q suelen ser idénticos, por lo tanto el término correcto es isocromosoma y por citogenética convencional no es posible discriminar entre un i21q y una rob(21;21) porque los centrómeros se encuentran demasiado juntos. Al igual que en la variante anterior los pacientes tienen tres cromosomas 21 y por lo tanto tres brazos largos completos. La triple dosis de la DSCR hará que se presente el SD. La recurrencia para esta variante, es de 4%. La mayoría de los casos por translocación son *de novo* (3%) y en el 1% de los casos uno de los padres es un portador (McKinlay, *et al.*, 2004; Bornstein, *et al.*, 2010).

4. Duplicación de la DSCR (21q22.3). Como su nombre lo indica, la DSCR de uno de los cromosomas 21 se duplica, teniendo tres DSCR y por lo tanto un fenotipo con las características clínicas de SD, con 46 cromosomas. Es la variante menos frecuente y en la mayoría de los casos se origina por rearrreglos crípticos en los padres. Es difícil de detectar por citogenética convencional por lo que su diagnóstico requiere de técnicas moleculares como FISH (McKinlay, *et al.*, 2004).

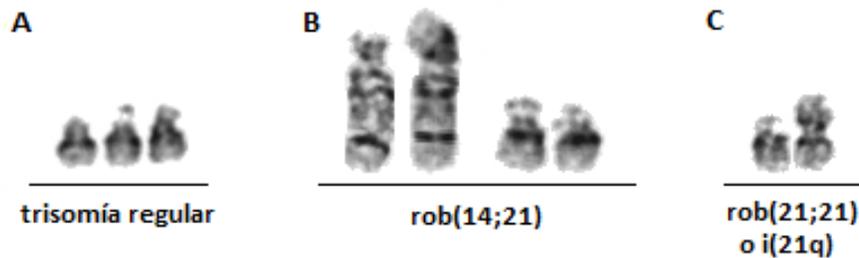


Fig. 10 Par del cromosoma 21 normal y algunas variantes citogenéticas de la trisomía 21. A) Se muestra una trisomía regular del cromosoma 21 de un individuo con SD; las fórmulas cromosómicas posibles para esta variante son 47,XX,+21 o 47,XY,+21. B) Translocación robertsoniana entre el cromosoma 14 y el cromosoma 21; un individuo con SD con esta variante presenta 46 cromosomas y tres cromosomas 21, es decir, 46,XX,rob(14;21),+21 o 46,XY,rob(14;21),+21. C) Posible translocación robertsoniana entre dos cromosomas 21, o bien, un isocromosoma 21(q). En ambos casos el paciente presenta 46 cromosomas, 46,XX,rob(21;21),+21 o 46,XY,i(21q),+21. (Imágenes Biól. Ariadna Morales Jiménez, Lab. de Citogenética. Depto. Genética, HIMFG).

Estudios citogenéticos en niños con SD en todo el mundo han reportado la T21 libre en la mayoría de los casos, seguida de las translocaciones robertsonianas y por último mosaicos, no obstante diversos estudios han indicado una prevalencia de mosaicos mayor al 4% (de 4.1 a 10.8%) (Thomas, *et al.*, 1992; González-Herrera, *et al.*, 1998; Jyothy, *et al.*, 2000; Chandra, *et al.*, 2010; Garduño-Zarazúa *et al.*, 2013). Por otro lado, también se han reportado casos con otras alteraciones cromosómicas además de T21 (Thomas, *et al.*, 1992; Mutton, *et al.*, 1996; Garduño-Zarazúa, *et al.*, 2013).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El SD es uno de los síndromes cromosómicos más comunes y de mayor solicitud de consulta en el Departamento de Genética del Hospital Infantil de México Federico Gómez, su valoración requiere del análisis citogenético para determinar la causa de la alteración. Aunque es de los síndromes más estudiados y con frecuencias documentadas en estudios en diferentes poblaciones, incluyendo la población mexicana en nuestra Institución no se cuenta con un registro de frecuencia para cada una de las variantes citogenéticas del SD, por lo que se planteó la siguiente pregunta de investigación:

1. ¿Cuál es la frecuencia de cada una de las variantes citogenéticas en los pacientes con T21 diagnosticados en el laboratorio de citogenética del Hospital Infantil de México Federico Gómez de 1992 a 2011?

3. JUSTIFICACIÓN

El SD o T21 es la primera causa de consulta de la población de pacientes que acude al Departamento de Genética del Hospital Infantil de México Federico Gómez, se han realizado estudios de cariotipo en esta población desde hace 40 años en nuestro laboratorio. No se ha determinado hasta la fecha cuántos pacientes y estudios de cariotipo asociados a T21 o SD se han realizado en el departamento de Genética y tampoco cuál es el porcentaje de alteraciones que presenta nuestra población. El conocer estos datos nos permitirá definir aún mejor el perfil de nuestra población.

4. OBJETIVOS

General

Determinar el tipo y la frecuencia de alteraciones citogenéticas (trisomía libre, mosaico, translocación robertsoniana o i(21q)) asociadas a T21 o SD.

Específicos

1. Determinar la frecuencia de cada una de las variantes citogenéticas asociadas a SD.
2. Identificar si la edad de los padres es un factor de riesgo en esta población.
3. Establecer el lugar de procedencia de los pacientes con SD y su frecuencia.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio realizado fue transversal, descriptivo, observacional y retrospectivo para un periodo de 20 años. Se incluyeron todos los reportes de cariotipo con bandas GTG realizados de 1992 al 2011 en el laboratorio de citogenética del Departamento de Genética del Hospital Infantil de México Federico Gómez, a pacientes con diagnóstico clínico de SD. Se revisaron las libretas de reporte de resultados de cariotipo del año 1992 al año 2011. Se identificaron los casos reportados con alteraciones del cromosoma 21 y se revisaron los reportes citogenéticos correspondientes a cada caso. Los datos colectados de los expedientes como la edad del paciente, edad de los padres al nacimiento y lugar de procedencia se vertieron en una hoja de concentración de información (Anexo 1). Los datos se analizaron para obtener las frecuencias de cada uno de los tipos de las alteraciones citogenéticas presentes en los pacientes con T21 o SD y compararlas con las reportadas en la literatura. En la Fig. 11 se muestra un resumen de la metodología.

Cuando se encontró una alteración del cromosoma 21 en el reporte citogenético que no correspondía con el diagnóstico clínico de SD, se realizó una revisión del expediente clínico (Dr. Christian Arias, Depto. de Genética, HIMFG), así como también en el caso de otras alteraciones del cromosoma 21 que se identificaron.

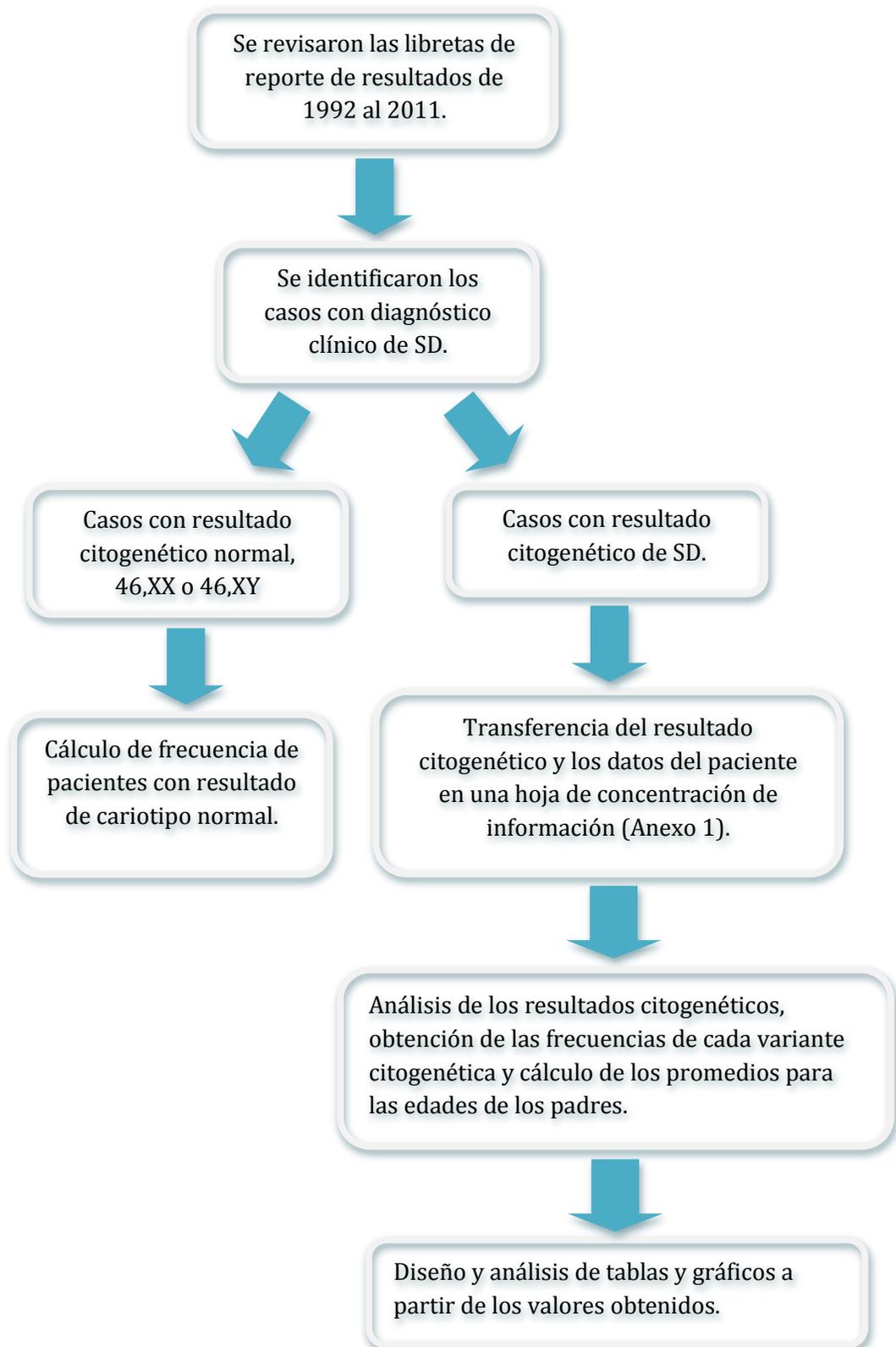


Fig. 11. Metodología realizada para la obtención de datos.

6. CRITERIOS

Criterios de inclusión

1. Todos los casos con diagnóstico clínico de SD y reporte de cariotipo registrados del año 1992 al año 2011.
2. Todos los casos con reporte de cariotipo con técnica de bandas GTG que indicaron alteraciones numéricas o estructurales del cromosoma 21.
3. Reporte de cariotipo con datos completos, legibles y sin ambigüedad en su nomenclatura.

Criterios de exclusión

1. Reporte de resultados no legible.
2. Sin reporte de resultados.

Criterios de eliminación

1. Resultados con fórmula cromosómica incompleta o no clara.
2. Resultados no relacionados con el cromosoma 21.

7. ANÁLISIS DE DATOS

Se obtuvieron porcentajes por el tipo de alteración citogenética, así como datos de la edad, género y lugar de procedencia del paciente y las edades materna y paterna. Se utilizó Microsoft Excel 2010.

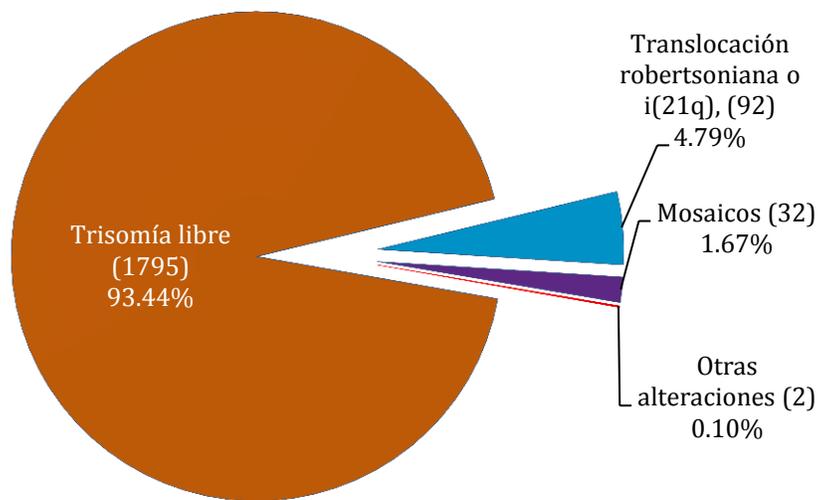
8. CONSIDERACIONES ÉTICAS

Se consideró investigación sin riesgo por tratarse de revisión de libretas, agendas y registros. Fue aprobado por el Comité de investigación, ética y bioseguridad del HIMFG con registro HIM 2012/073 “Revisión de la frecuencia de alteraciones citogenéticas de pacientes con diagnóstico de T21 o Síndrome de Down diagnosticadas en el laboratorio de Citogenética del Depto. de Genética del HIMFG de 1992 a 2011” y para su realización se contó con apoyo de las becas PROBEI de la Coordinación de Institutos Nacionales de Salud, de septiembre de 2012 a febrero de 2014.

9. RESULTADOS

9.1 Datos generales

Durante el periodo de estudio de 20 años se reportaron un total de 9,862 resultados de cariotipo realizados con técnicas de bandas GTG. De estos estudios 2,018 casos (20.46%) tuvieron un diagnóstico clínico de SD. De este grupo, 96 estudios (4.75%) fueron reportados con un complemento cromosómico normal, 1 caso (0.05%) presentó un resultado con alteraciones cromosómicas que no correspondieron a T21, siendo 48,XXXX. Los reportes restantes correspondieron a 1,921 estudios (95.2%) que tuvieron un resultado citogenético consistente con alguno de los tipos de alteración cromosómica reconocidos como causantes de T21 (Gráfica 1).

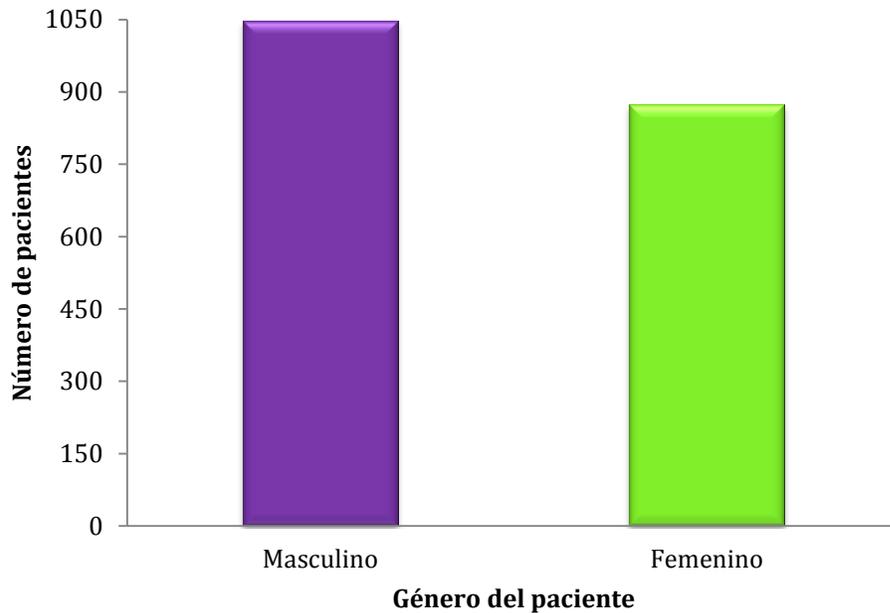


Gráfica 1. Frecuencia de las variantes citogenéticas identificadas en pacientes con SD.

9.2 Perfil clínico de los pacientes con SD y cariotipo reportado

9.2.1 Género

De los 1,921 pacientes con diagnóstico citogenético de T21, 1,048 (54.56%) fueron de género masculino y 873 (45.44%) de género femenino (Gráfica 2).



Gráfica 2. Género de los pacientes con resultado citogenético de T21.

9.2.2 Edad

La edad de los pacientes con T21 al momento de la valoración clínica en que fue indicado el estudio de cariotipo tuvo un rango de edad de 1 día a 25 años, la mayoría de pacientes (76.26%) estaba dentro del primer año de vida (Tabla I). Es importante resaltar que de los 1,921 casos con diagnóstico citogenético comprobado de T21, en 139 casos no estaba indicada la edad, por lo que si bien se tomaron en consideración para el reporte de estudio citogenético, no fueron incluidos en la clasificación de la edad, la cual se consideró de acuerdo a la información con que se contaba para este rubro en particular.

Tabla I. Número de pacientes agrupados por edad de diagnóstico

Período	Edad	Número de Pacientes
Neonato	1d - 30d	502
Lactante menor	1m1d - 12m	857
Lactante mayor	12m1d - 2a	175
Preescolar	2a1d - 5a	137
Escolar	5a1d - 10a	73
Pubertad	10a1d - 14a	27
Adolescentes	14a1d - 18a	10
Adultos jóvenes	18a1d - 30a	1
TOTAL		1782

a: años, d= días, m= meses.

9.2.3 Lugar de procedencia

Se estableció el lugar de procedencia de 1,005 pacientes, identificándose a 20 estados de la República Mexicana y 1 país de Centroamérica (Panamá). Entre los estados de donde se refirieron más frecuentemente pacientes se encuentran el Estado de México con 523, Distrito Federal con 263, Baja California con 71 y Guerrero con 30 (Tabla II).

Tabla II. Lugares de procedencia de pacientes con T21.

Lugar de procedencia	Número de pacientes	Lugar de procedencia	Número de pacientes
Aguascalientes	10	Puebla	9
Baja California	71	Querétaro	8
Chihuahua	1	San Luis Potosí	3
Distrito Federal	263	Sinaloa	2
Estado de México	523	Sonora	5
Guanajuato	8	Tamaulipas	2
Guerrero	30	Tlaxcala	2
Hidalgo	19	Veracruz	22
Michoacán	10	Zacatecas	1
Morelos	4	Centroamérica	1
Oaxaca	11		
		TOTAL	1005

9.3 Alteraciones citogenéticas reportadas

9.3.1 Trisomía 21 libre

La T21 libre fue la variante citogenética más frecuente con 1,795 casos identificados, esto equivale al 93.44% del total de los reportes con diagnóstico citogenético de T21.

De acuerdo a la revisión de las fórmulas cromosómicas registradas, se encontró que si bien siete pacientes habían sido referidos por presentar el fenotipo de SD, el estudio de cariotipo demostró que además de la T21 regular presentaban otras alteraciones citogenéticas. Las alteraciones encontradas correspondieron a dos casos con inversiones cromosómicas (involucrando a los cromosoma 3 y 9, respectivamente); un derivado (cromosoma 9), de una translocación; dos translocaciones, una balanceada entre los cromosomas 1 y 15 (este caso fue reportado por García-Delgado, *et al.*, 2010) y otra rob(13;4); dos casos con alteración de cromosomas sexuales, uno 48,XXY,+21 y el otro en mosaico (mos48,XXY,+21/47,XY,+21). Estas siete alteraciones identificadas equivalen al 0.36% del total (1,921) de los casos con T21 libre (Tabla III). El paciente con la alteración de cromosomas sexuales 48,XXY,+21 tuvo un fenotipo modificado, es decir, además de presentar un fenotipo de SD presentó características del Síndrome de Klinefelter. El número de metafases analizadas estuvo en un rango de 8 a 25,

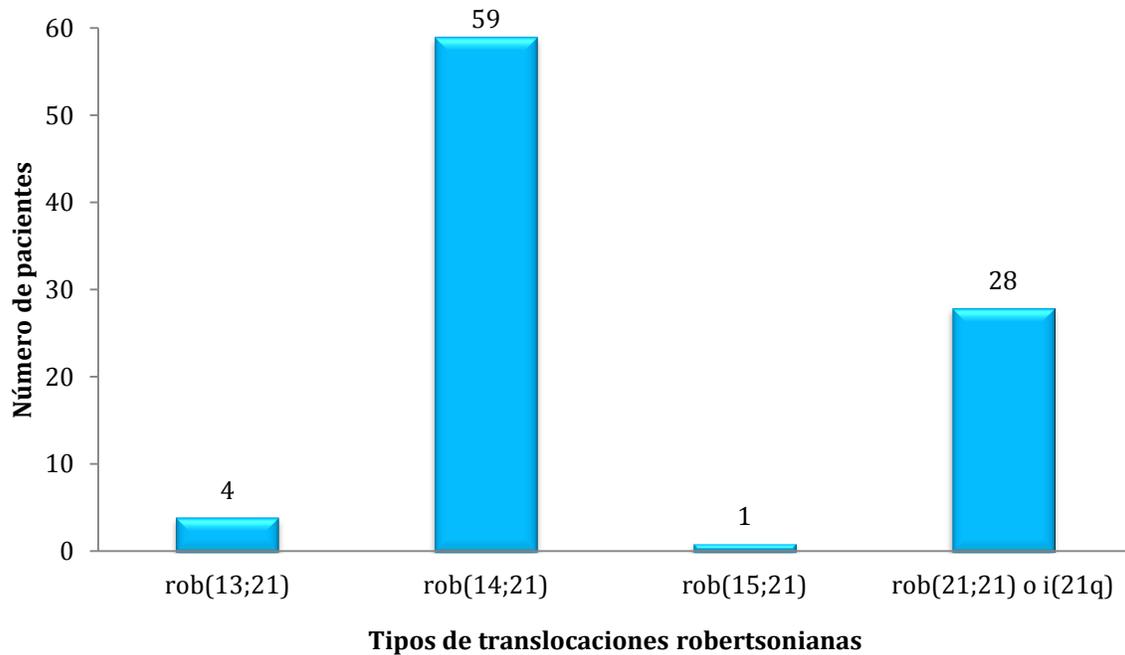
en los casos que presentaron alteraciones adicionales a la T21 este dato no se encontraba reportado en los resultados.

Tabla III. Casos con alteraciones cromosómicas adicionales a T21 libre

Número de caso	Alteración
1	47,XY,inv(3)(p12q24),+21
2	47,XX,inv(9)(p22q13)pat,+21
3	47,XY,der(9)(pter->q22::?),+21
4	47,XX,t(1;15)(q32;q22)pat,+21
5	46,XY,t(13;14),+21
6	48,XXY,+21
7	mos 48,XYY,+21/47,XY,+21

9.3.2 Pacientes con diagnóstico de T21 asociado a translocación robertsoniana.

Se identificaron 92 casos con translocaciones robertsonianas, siendo la más frecuente la rob(14;21) con 59 casos (64.13%), además de rob(21;21) o i(21q) con 28 casos (30.43%), 4 casos (4.34%) de rob(13;21) y un solo caso de rob(15;21) (1.1%) (Gráfica 3). Las metafases analizadas para esta variante sólo estaban indicadas en dos casos, por lo que no se consideraron para cada tipo de translocación robertsoniana.



Gráfica 3. Tipo de translocación robertsoniana identificada y número de pacientes.

9.3.3 Pacientes con diagnóstico citogenético de T21 en mosaico.

Los mosaicos fueron la variante citogenética menos frecuentemente reportada (32 casos) correspondiendo a menos del 2% de los casos con T21. Los 32 casos identificados tuvieron dos líneas celulares, 30 de ellos con una línea celular normal y otra con T21 libre. De los dos casos restantes, uno de ellos presentó una línea celular normal y otra con una rob(14;21); en el otro caso se encontró una línea celular normal y una línea celular con un isodiccéntrico del cromosoma 21 con punto de ruptura en q22.3. El número de células analizadas fue diferente para cada caso (30 a 100 metafases) o bien, no estaba indicado, por lo que se calculó el promedio de células analizadas para cada tipo de mosaico (Tabla IV).

Tabla IV. Mosaicos identificados en pacientes con T21.

Tipo de mosaico citogenético	Número de casos	Metafases analizadas	Rango de proporción de la línea trisómica
mos 47,XX,+21/46,XX	14	66	6-50%
mos 47,XY,+21/46,XY	16	59	8-75%
mos 46,XX,rob(14;21)(q10;q10),+21[16]/46,XX[84]	1	100	16%
mos 46,XX,+21,idic(21)(q22.3)[20]/46,XX[30]	1	50	40%

9.3.4 Otras alteraciones citogenéticas asociadas con SD

De los 1,921 casos de T21, se identificaron dos casos (0.10%) con aberraciones cromosómicas diferentes que involucran al cromosoma 21; uno corresponde a un derivado del cromosoma 5 de una t(5;21) que además de presentar T21, presenta síndrome de cri du chat. El segundo caso fue un anillo doble del cromosoma 21 con mosaicismo dinámico con cariotipo 46,XX,+21,idic r(21;21)(::q22.3->p11.2?::p11.2?->22.3::) (Tabla V).

Tabla V. Aberraciones cromosómicas diferentes asociadas con T21.

Número de caso	Alteración
1	46,XX,der(5)t(5;21)(p11;p11),+21
2	46,XX,+21,idic r(21;21)(::q22.3->p11.2?::p11.2?->22.3::)

9.3.5 Cariotipo a los familiares de pacientes con T21

Se realizó cariotipo a los padres y otros familiares de pacientes con T21, siendo 139 los estudios realizados. De estos, 76 correspondieron a padres de pacientes con T21 con translocación robertsoniana, en donde se identificaron a 7 madres portadoras (Tabla VI).

Por indicación médica se realizó cariotipo a 51 padres de pacientes con T21 regular, el estudio citogenético nos permitió identificar a 1 papá portador de una inversión del cromosoma 9 y otro portador de una translocación (1;15). Del mismo modo, se estudiaron a tres parejas con hijos con mosaicos, en los cuales el resultado fue normal (Tabla VII).

Además de estudiar a los padres, se realizó cariotipo a otros familiares, dos de ellos, hermanos de un paciente con trisomía regular, que resultaron portadores de un derivado del cromosoma 21 con fórmula cromosómica 46,XY,der(21)(?) y un hermano de otro paciente con un resultado normal 46,XY. En dos casos por translocación robertsoniana con madres portadoras, se estudió a las abuelas maternas resultando en un caso abuela con cariotipo normal 46,XX y otra portadora de una rob(14;21), de ésta última también se estudió a su esposo cuyo resultado fue 46,XY.

Tabla VI. Cariotipos realizados a padres de pacientes con T21 con translocación robertsoniana.

Relación familiar con el <i>Propositus</i>	Reporte de cariotipo	Número de casos
MADRES	46,XX	34
	45,XX,rob(14;21)	6
	45,XX,rob(21;21)(q10;q10)	1
PADRES	46,XY	35
TOTAL		76

Tabla VII. Cariotipos realizados a padres de pacientes con T21 regular y mosaicos.

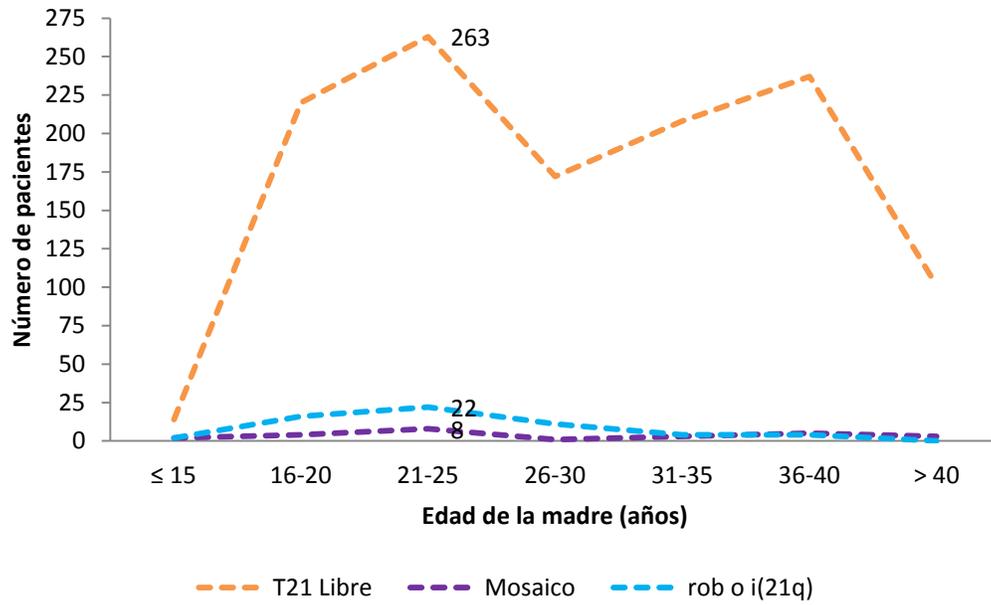
Variante citogenética	Reporte de cariotipo		Número de casos
	MADRES	PADRES	
T21 libre	46,XX (26)	46,XY (23)	49
		46,XY,inv(9)(p12q13)	1
		46,XY,t(1;15)(q32;q22)	1
Mosaico	46,XX (3)	46,XY (3)	6
TOTAL			57

9.4 Edad de los padres

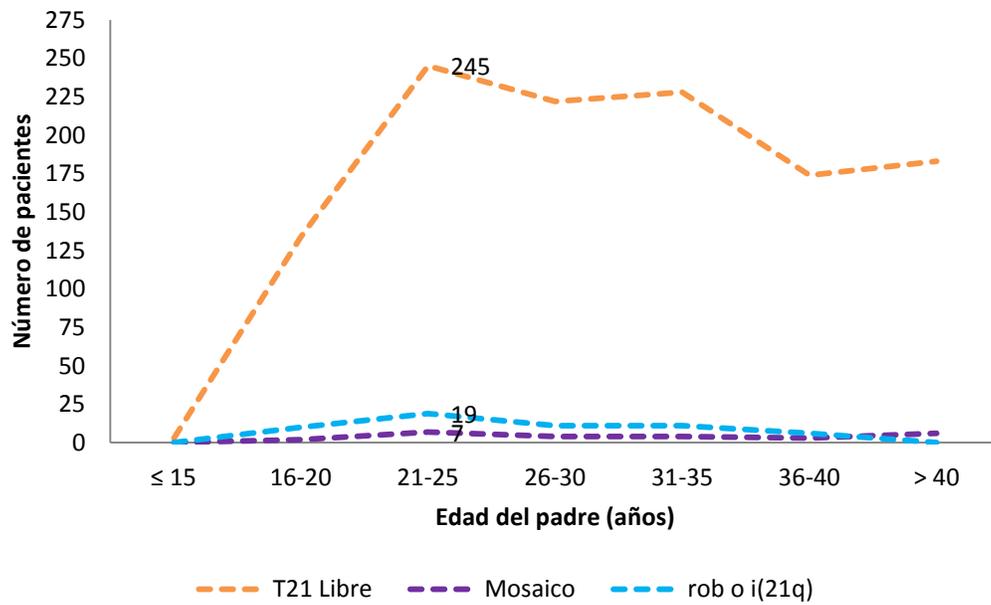
La edad promedio de los padres a la concepción para las trisomías 21 libres fue de 29 años para las madres y 31 años para los padres; en las translocaciones robertsonianas la edad promedio para las madres fue de 24 años y 27 años para los padres. En el caso de los mosaicos la edad promedio para las mamás es de 28 y 32 para los papás. El rango de edad de las madres fue de 13 a 48 años, siendo el grupo etario más frecuente de 21 a 25 años para las tres variantes citogenéticas. En el caso de los padres la edad más frecuente fue de 21 a 25 años con relación a las tres variantes citogenéticas identificadas, con un rango de edad de 14 a 64 años (Tabla VIII). En las Gráficas 5 y 6 se observan las diferencias en las edades maternas y paternas, respectivamente, con relación a la incidencia de las variantes citogenéticas asociadas a la T21.

Tabla VIII. Edades de los padres para cada variante citogenética

Variante Citogenética	Edad Promedio		Mediana		Moda		Rango de Edad		Grupo etario más frecuente	
	Madre	Padre	Madre	Padre	Madre	Padre	Madre	Padre	Madre	Padre
T21 libre	29	31	29	30	19	29	13 - 48	14 - 64	21 - 25	21 - 25
Translocación	24	27	23	25	20	20	15 - 39	17 - 40	21 - 25	21 - 25
Mosaico	28	32	25	30	25	24	15 - 42	17 - 51	21 - 25	21 - 25



Gráfica 4. Edad materna y tipo de variante citogenética.



Gráfica 5. Edad paterna y tipo de variante citogenética.

10. DISCUSIÓN

En este trabajo se determinaron las variantes citogenéticas del SD en una población infantil en un periodo de estudio de 20 años. La determinación de las frecuencias de las variantes citogenéticas del SD nos permitió identificar la incidencia para cada una de éstas. En este análisis identificamos que de los 9,862 resultados de cariotipo con técnica de bandas GTG reportados en 20 años, 2,018 tuvieron un diagnóstico clínico de T21 que corresponde al 20.46% de todos los estudios realizados, es decir que prácticamente la quinta parte del total de cariotipos efectuados en el laboratorio de citogenética 1992 a 2011 estuvieron relacionados con la atención a pacientes con SD. Esta cifra puede explicarse principalmente por dos motivos, uno de ellos es que el HIMFG es un centro de tercer nivel de atención y uno de los centros de referencia a nivel nacional para pacientes con alteraciones genéticas, siendo la principal causa de solicitud de atención en el Departamento de Genética el diagnóstico de T21. Se atienden en promedio 100 nuevos casos por año, tanto de pacientes que acuden al hospital, como de solicitudes referidas para estudio citogenético (Registros del Departamento de Genética y de Archivo Clínico y Bioestadística del HIMFG).

El 4.75% de los pacientes referidos clínicamente con diagnóstico de SD (96 pacientes) tuvieron un cariotipo normal, esto descartó por una parte que tuviesen T21 y por otra que el fenotipo estuviera asociado a otra alteración citogenética. El que pacientes con diagnóstico clínico de SD por fenotipo tengan un reporte de cariotipo normal ha sido descrito en otros estudios, siendo reportado en 5.4% a 12.22% de los casos (Astete, *et al.*, 1991; Garduño-Zarazúa, *et al.*, 2013). Esta discrepancia entre el diagnóstico clínico y el citogenético puede deberse a diferentes factores, entre ellos, que algunos de los casos fueron referidos únicamente para el análisis citogenético en la muestra de sangre y algunos no fueron valorados por médicos especialistas en genética por lo que no hubo confirmación inter-observadores. Sin embargo, en ocasiones el diagnóstico clínico de T21 se mantuvo después de una nueva valoración clínica. En estos pacientes será necesario analizar un número mayor de células para descartar mosaicismo o una trisomía parcial de 21q que incluya la región crítica (Sharkey, *et al.*, 2005). Existe también la posibilidad de que se tratara de casos en mosaico con una proporción mínima de células anormales en sangre, mismas que no fueron detectadas por el número de células analizadas con bandas GTG. Con las técnicas actuales (por ejemplo FISH

para la región crítica) sería posible descartar esta posibilidad ya que se puede analizar mayor número de células en caso de que la clínica del paciente en cuestión no dejara duda del diagnóstico de SD. El uso del FISH también permitiría detectar casos con rearrreglos crípticos que incluyan a la región 21q22.3 y que con las técnicas citogenéticas convencionales no serían detectados. Estas consideraciones se especificaron de acuerdo al caso en su momento y de acuerdo a la disponibilidad de la técnica debido a la época en que se realizaron los estudios, quedando a criterio del médico tratante.

Es posible que en algunos casos por las condiciones de los pacientes (prematurez, edema, etc.) no se pudiesen definir los datos clínicos con claridad o se consideró el diagnóstico de SD como un diagnóstico diferencial o para su exclusión. Si bien es cierto que el cuadro clínico del SD está bien definido, es necesario realizar el diagnóstico citogenético como prueba objetiva una vez que la sospecha diagnóstica ha sido planteada. Esto puede aplicarse a uno de los casos descritos en este trabajo, en que la paciente tuvo indicación para realizar cariotipo para descartar la T21, sin embargo, el resultado fue 48,XXXX (polisomía del X), la paciente presentó dismorfias faciales y otras malformaciones que fueron indicación de análisis de cariotipo y se consideró el diagnóstico diferencial de SD.

En el 95.2% de los reportes citogenéticos de este estudio se confirmó un resultado de T21, tomando en cuenta el número de estudios totales realizados, el presente es el reporte más amplio en cuanto al número de estudios en nuestro país (González-Herrera, *et al.*, 1998; Garduño-Zarazúa, *et al.*, 2013) y uno de los más extensos en comparación con estudios internacionales reportados (Tabla IX). Cuando se considera el periodo de estudio en años y el número de casos reportados, este trabajo es el segundo después del estudio de Mutton *et al.*, (1996), con más de 5,000 pacientes en 5 años, en tercer lugar se ubica el trabajo de Abdel-Hady, *et al.*, (2011) con 712 pacientes en 10 años.

Tabla IX. Estudios citogenéticos de pacientes con SD. (Modificada de Garduño-Zarazúa, *et al.*, 2013).

Referencia	Astete 1991	Staples 1991	Thomas 1992	Mutton 1996	Gonzalez 1998	Jyothy 2000	Devlin 2004	Catovic 2005	Abdul 2006	Azman 2007	Sheth 2007	Chandra 2010	Wang 2010	Jaouad 2010	Abdel 2011	Garduño 2013	HIMFG 2014
País	Chile	Australia	India	Inglaterra	México	India	Inglaterra	Bosnia	Qatar	Singapur	India	India	China	Singapur	Egipto	México	México
Años de estudio	10	29	ND	5	ND	20	5	12	6	4	12	28	ND	15	10	24	20
Pacientes estudiados	243	733	365	5737	99	1001	208	155	146	149	382	1020	86	852	712	510	1921
T21 (%)	92.6	93.9	86.6	95	60.6	87.9	94.7	89.7	99.3	94.6	86.9	84.2	93.02	96.24	96.1	87.3	93.49
rob o i(21q)(%)	3.3	4.1	7.7	3.8	0	4.4	1.4	5.8	0	0.7	9.2	5	3.49	3.17	3.1	4.3	4.79
Mosaico (%)	4.1	2	5.8	1.2	39.4	7.7	3.8	4.5	0.7	4.7	3.9	10.8	3.49	0.59	0.8	8.4	1.72
Total (%)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

ND = no determinado

Género de los pacientes con T21

De los 1,921 pacientes con diagnóstico citogenético de T21 hubo un mayor porcentaje de pacientes masculinos vs femeninos (54.56% vs 45.44%) (Gráfica 2). Si bien por tratarse de una alteración relacionada con un autosoma, podría esperarse que no hubiese diferencia en la proporción entre los géneros, en nuestro estudio la diferencia fue cercana al 10%. Esta situación de pacientes con mayor porcentaje de género masculino vs femenino, se ha reportado en otros estudios (Staples, *et al.*, 1991; Mutton, *et al.*, 1996; Devlin y Morrison, 2004; Sheth, *et al.*, 2007; Jaouad, *et al.*, 2010; Abdel-Hady, *et al.*, 2011). Este efecto se ha observado en la T21 libre y no en translocaciones. Se ha sugerido que esta desproporción entre los géneros se asocia *per se* con la T21 libre y no a una selección basada en el género proponiéndose la hipótesis de que podría haber un mecanismo de no disyunción paterna en que el cromosoma 21 segrega preferencialmente con el cromosoma Y (Mutton, *et al.*, 1996). Sin embargo, esto resulta poco probable si consideramos que más del 80% de las trisomías 21 libres se deben a una no disyunción materna (Sherman, *et al.*, 2005).

Edad de los pacientes con T21

La población que atiende el HIMFG corresponde desde recién nacidos hasta los 18 años de edad. En el caso del Departamento de Genética por tratarse de estudios familiares y según las características del caso o de la solicitud y a criterio médico, así como al seguimiento de los casos que se ha dado durante los más de 40 años que tiene el Departamento, el rango de edad en este estudio fue más amplio, de 1 día a 25 años.

La edad más frecuente fue de 1 mes hasta los 12 meses (lactante menor), seguida de los neonatos (1 día – 30 días), en tercer lugar se encuentran los pacientes lactantes mayores. Los datos anteriores indican que los pacientes con T21 atendidos en esta Institución (o en su caso la solicitud del estudio) acuden a valoración clínica dentro de los dos primeros años de vida. La atención a pacientes adolescentes no se encuentra asociada a otro motivo que no sea SD y no se conoce la causa del retraso en su solicitud de atención.

Lugar de procedencia de los pacientes con T21

Una de las variables consideradas para este estudio fue el lugar de residencia de los pacientes que se logró identificar en 1,005 casos, los faltantes se debieron a que la información no fue registrada en la solicitud del cariotipo. De los 20 Estados de la República Mexicana identificados como lugar de procedencia de los pacientes con T21 que acuden al HIMFG, el más frecuente es el Estado de México, seguido del Distrito Federal.

Estos resultados reflejan que el HIMFG es un centro de referencia al cual acuden pacientes de todo el país. Si bien el Distrito Federal y el Estado de México cuentan con otros centros de referencia a los cuales las personas con SD pueden acudir, el número de pacientes identificados puede deberse a que son los Estados con mayor población. El Estado de México hasta el año 2010, tenía una población total de 15,175,862 habitantes, mientras que el Distrito Federal tenía 8,851,080 (INEGI, 2010), esto puede explicar en parte el porqué el número de pacientes del Estado de México, además de la cercanía que tenemos con el mismo, así como a los diferentes convenios establecidos para referencia de pacientes o de estudios con diversas Instituciones.

El número de pacientes recibidos del Distrito Federal se pudo diluir debido a que el HIMFG no es el único centro de referencia de tipo pediátrico, a que hay otras Instituciones en donde los pacientes con T21 pueden ser atendidos, al tamaño de la población y por último a que no se pudo recavar el lugar de procedencia de todos los pacientes.

Casos identificados con Trisomía 21 libre

La T21 libre es la variante citogenética más frecuente en los pacientes con SD, en este estudio la frecuencia para dicha variante fue de 93.49% y está en relación con la frecuencia estimada en la literatura internacional, así comparando la frecuencia obtenida con otras reportadas para esta variante, el porcentaje de T21 libre es cercana a la de Staples, *et al.*, (1991) (93.9%) y es discretamente más baja que la frecuencia reportada en otros países por o dos o tres puntos porcentuales (Tabla IX). Sin embargo, hay una gran diferencia con cuatro estudios realizados en la India y dos realizados en México, en donde la frecuencia para T21 libre es del 84.2-87.9% (Thomas, *et al.*, 1992; Jyothy, *et al.*, 2000; Sheth, *et al.*, 2007, Chandra, *et al.*, 2010) y 60-87.3% (González-Herrera, *et al.*, 1998; Garduño-Zarazúa, *et al.*, 2013) respectivamente;

en todos los casos esta fue la alteración citogenética más frecuente. La discrepancia entre los estudios anteriores y el resto, puede deberse al número de células analizadas. En este trabajo se analizaron un rango de metafases de 8-25, con lo que se descartó la detección de un mosaico en una proporción del 15-46%, pero si se hubiesen analizado 100 metafases hubiera sido posible detectar un mosaico del 3%, es decir, a mayor número de células analizadas es mayor la probabilidad de detectar un mosaico en baja proporción, lo que coincide con los porcentajes obtenidos y el número de metafases analizadas para la variante de mosaicos que se discutirá más adelante (Hook, 1977).

T21 libre asociada con otras alteraciones citogenéticas.

Siete pacientes (0.36%) (Tabla II) presentaron otras alteraciones citogenéticas asociadas con la T21, como anomalías estructurales y/o numéricas de otro cromosoma. Esta situación ha sido previamente reportada con un rango de 0.45-2.4% (Mutton, *et al.*, 1996; Abdul, *et al.*, 2006; Sheth, *et al.*, 2007; Chandra, *et al.*, 2010; Garduño-Zarazúa, *et al.*, 2013).

Las alteraciones estructurales adicionales a la T21 libre fueron resultado de una segregación adyacente tipo 1, excepto la rob(13;14) y la t(1;15) que fueron resultado de una segregación alterna. El cariotipo de los padres del paciente con la inv(3) y del paciente con el der(9) se desconocen, del paciente con la inv(9) y del paciente con la t(1;15) sí se logró estudiar a ambos padres y en ambos casos se encontró que el portador era el padre. En su momento, las consideraciones de estudio para este caso familiar fueron determinadas por el médico tratante (McKinlay, *et al.*, 2011). En el caso del paciente con la rob(13;14) tampoco se realizó cariotipo a los padres, lo que no permitió identificar si la translocación robertsoniana era familiar, no obstante se sabe que es la translocación robertsoniana *de novo* más frecuente presentandose en 75% de los casos (McKinlay, *et al.*, 2011).

El paciente con la alteración numérica de cromosomas sexuales 48,XXY,+21, pudo haber heredado ambas alteraciones por una no disyunción en la meiosis I o II de la madre debido al control laxo de paquitenio durante la meiosis materna (Miller y Therman, 2001); o bien una de ellas de cada meiosis, ya que el 47,XXY se debe en la mitad de los casos a una no disyunción en la meiosis I paterna (Hassold, *et al.*, 2007). Por último, el paciente 48,XXY,+21/47,XY,+21 es probablemente resultado de una no disyunción poscigótica, en donde el cromosoma Y no

segregó correctamente o bien por un rezago anafásico a partir de un cigoto con ambas trisomías. En el resultado de este paciente no estaba indicada la proporción de las líneas celulares, sería deseable estudiar otros tejidos, por ejemplo mucosa oral para tratar de identificar el momento en que ocurrió la no disyunción. Si bien estos pacientes presentaban otras alteraciones citogenéticas y dismorfias asociadas a éstas, el fenotipo predominante fue el de SD, a esto se debe la indicación para el estudio citogenético.

Pacientes con T21 por translocación

Las translocaciones robertsonianas se encuentran reportadas como la segunda variante citogenética más frecuente para la T21. En este trabajo la frecuencia de las translocaciones robertsonianas fue de 4.79% (92 casos), un poco mayor a la frecuencia reportada generalmente en la literatura (Tabla IX), sin embargo, se ha reportado en cuatro estudios una frecuencia mayor con un rango de 5-9.2% (Thomas, *et al.*, 1992; Catovic, *et al.*, 2005; Sheth, *et al.*, 2007; Chandra, *et al.*, 2010). En este estudio, la rob(14;21) fue la más frecuente con 64.1%, seguida de 30.4% para la rob(21;21) o i(21q), 4 casos para la rob(13;21) (4.4%) y un solo caso para la rob(15;21) (1.1%). Estos datos coinciden con otros estudios que señalan a la rob(14;21) y rob(21;21) o i(21q) como las translocaciones robertsonianas más frecuentes en SD (Mutton, *et al.*, 1996; Sheth, *et al.*, 2007), lo que se puede asociar a que las bandas subteloméricas de los cromosomas 14 y 21 son similares en secuencia, lo que facilita la recombinación no homóloga entre estos cromosomas y por tanto, aumenta la frecuencia de aparición (McKinlay, *et al.*, 2011).

Cerca del 25% de estas translocaciones robertsonianas son heredadas de un progenitor portador, siendo el riesgo de recurrencia más elevado, sin embargo, la mayoría de las translocaciones robertsonianas ocurren *de novo* (McKinlay, *et al.*, 2011). Para ambos padres portadores el riesgo teórico de recurrencia de tener un hijo con SD por una rob(14;21) es del 33%. Para una mujer portadora el riesgo empírico de recurrencia es del 10-15% y para un hombre portador el riesgo es de aproximadamente 1-5%. Esta diferencia puede explicarse por los puntos de control a lo largo de la meiosis en hombres y mujeres, siendo en éstas menos estricto (Miller y Therman, 2001). Para ambos padres portadores de una rob(21;21) el riesgo empírico de recurrencia es del 100% (McKinlay, *et al.*, 2011). Cuando se trata de translocaciones robertsonianas, está indicado realizar cariotipo a los padres para identificar si

la translocación es heredada y así dar un asesoramiento genético y riesgo de recurrencia adecuado. En nuestro estudio se logró hacer cariotipo a 76 padres de pacientes con T21 por translocación robertsoniana, encontrando a 7 madres portadoras, esto se discutirá más adelante.

Casos de T21 en mosaico

Los mosaicos como variante citogenética del SD ocupan el tercer lugar de frecuencia siendo reportada en 2-4% de los casos (Petersen y Mikkelsen, 2000), si bien la frecuencia de mosaicos en este estudio (1.72%) es poco menor a la frecuencia reportada en la literatura es importante mencionar que la mayoría de los estudios epidemiológicos más recientes reportan una frecuencia mayor al 3% (Mutton, *et al.*,1996; Abdul Wahab, *et al.*,2006; Sheth, *et al.*,2007; Chandra, *et al.*,2010).

Una explicación a las diferencias encontradas podría ser el número de células analizadas, pues si bien, el número promedio de metafases analizadas para los mos 47,XX,+21/46,XX fue de 66 con un rango de línea trisómica de 6-50%. En los mos 47,XY,+21/46,XY el promedio de metafases fue de 59 y el rango de línea trisómica de 8-75%. Aunque en ambos casos, no se superaron las 70 metafases analizadas, los rangos más bajos pueden indicar que el paciente no presentaba todas, pero sí algunas características clínicas de SD y por tal motivo se hizo la indicación del estudio cromosómico, sin embargo, sería conveniente analizar más células para definir con certeza la proporción de la línea trisómica en todos los casos y así poder establecer el grado de mosaicismo, porque la gravedad del cuadro clínico en tales casos con SD está relacionada con el grado y distribución tisular de la línea trisómica (Hultén, *et al.*, 2013). En el mos 46,XX,rob(14;21)(q10;q10),+21[16]/46,XX[84] el número de células analizadas permitió identificar una línea trisómica en 16%, mientras que en el mos 46,XX,+21,idic(21)(q22.3)[20]/46,XX[30] la línea trisómica representó el 40%, esto refleja que a mayor número de metafases analizadas más confiable es la proporción de la línea trisómica detectada, como ocurrió en los estudios de González-Herrera, *et al.*, 1998 y Garduño-Zarazúa, *et al.*, 2013, en donde se analizaron hasta 100 células por paciente, logrando identificar un mayor número de mosaicos, 39.4% y 8.4%, respectivamente. Se sabe que con 100 células analizadas se puede detectar un mosaico que se encuentre hasta en el 3% y con más de 450 células se puede detectar un mosaico del 1% con un grado de

confidencialidad de 0.99 (Hook, 1977), con esto se puede decir que la frecuencia de mosaicos para T21 es más alta de lo que se pensaba.

Hultén y colaboradores (2013) han encontrado que en pacientes con SD el grado de mosaicismo no es igual en todos los tejidos y que la proporción de la línea trisómica está relacionada con el cuadro clínico del paciente, por ello y como ya había sido expuesto, en todos los casos de T21 sería de utilidad realizar un estudio citogenético con un mayor número de metafases o bien con técnicas moleculares que nos permitan detectar una copia extra de la DSCR, además de analizar células en dos o más tejidos. Por otro lado, Hultén y colaboradores han postulado que todas las personas podemos ser mosaico para T21 en al menos un tejido y que la mayoría de las mujeres, sino es que todas, somos mosaico en línea germinal, razón por la cual es de gran importancia realizar cariotipo a las madres de pacientes con mosaicos o T21 libre para descartar que sean portadoras de un mosaico para T21.

Otras alteraciones citogenéticas no clásicas asociadas a SD

El primer caso con una alteración cromosómica diferente que involucra al cromosoma 21 es un derivado del cromosoma 5 de una $t(5;21)$ que además de presentar T21, presenta síndrome de cri du chat, pero éste aparentemente no fue indicativo de cariotipo ya que el diagnóstico clínico y por el cual fue realizado el estudio fue de SD. No se sabe si alguno de los padres es portador del rearrreglo, ya que no fue posible estudiarlos, si alguno de los dos fuera portador de la translocación balanceada, el paciente, por una segregación adyacente 1, heredó un cromosoma 21 y el derivativo del cromosoma 5, teniendo así dos cromosomas 21 normales, más el cromosoma 21 unido al der(5).

El segundo caso fue un anillo doble del cromosoma 21 con mosaicismo dinámico con cariotipo $46,XX,+21,idelic r(21;21)(::q22.3->p11.2?::p11.2?->22.3::)$. Se consideró mosaicismo dinámico debido a la inestabilidad que genera el anillo doble del cromosoma 21, es decir, el paciente presentó más líneas celulares en baja proporción con diferente constitución respecto al anillo, que se pudieron haber generado en la anafase de la mitosis cuando las cromátidas hermanas en su intento por separarse, terminaron rompiendo el anillo generando células sin anillo, células con dos anillos, células con dobles anillos o fragmentos cromosómicos (Miller y Therman, 2001).

Cariotipo a los familiares de pacientes con T21

Se estudiaron a 76 padres de pacientes con T21 por translocación robertsoniana, de los cuales 7 madres resultaron portadoras, lo que equivale al 10% y coincide con el riesgo de recurrencia reportado en la literatura (Mckinlay, *et al.*, 2011). De las 7 madres portadoras, 6 fueron portadoras de una rob(14;21) y una mamá portadora de la rob(21;21) que son las translocaciones robertsonianas más frecuentes y de mayor recurrencia. Para los papás, el riesgo de ser portadores de una translocación robertsoniana es de 1-5%, sin embargo, no se identificó a ningún padre portador.

De los 51 padres estudiados de pacientes con trisomía regular, se encontró a un papá portador de una inversión del cromosoma 9 cuyo arreglo cromosómico fue heredado a su hijo con SD. La inv(9) se encuentra reportada como un polimorfismo, por lo que no está implicada en el fenotipo del papá ni en el del paciente. Otro papá resultó ser portador de una t(1;15), de igual modo la hija también era portadora del arreglo balanceado, la cual heredó por una segregación alterna en donde los dos cromosomas involucrados en el arreglo segregaron juntos, teniendo así una translocación balanceada (García-Delgado, *et al.*, 2010). En ambos casos, el cariotipo de los hijos fue indicativo de estudio a los padres para saber si alguno de ellos era el portador de las alteraciones, lo cual tiene implicaciones para el asesoramiento genético.

En tres parejas con hijos con SD por mosaico se indicó cariotipo para descartar que alguno fuera mosaico para T21, no obstante el cariotipo fue normal, lo que podría explicarse por el número de células que se analizaron (dato que no se conoce), por el tipo de tejido analizado o bien porque no existía tal mosaico en ninguno de los padres.

De los estudios correspondientes a otros familiares, en los dos hermanos portadores de un derivado del cromosoma 21, no fue posible estudiar a los padres, desconociéndose si alguno de ellos era portador de un rearrreglo que incluyera tal derivativo. Además, esta alteración parece no estar involucrada en el resultado del hermano con SD, ya que éste presentó trisomía libre con los tres cromosomas 21 aparentemente normales. En el hermano de otro paciente con T21 libre, con algunos datos clínicos de SD, el resultado fue normal y podría deberse a que en el hermano con SD hubo una no disyunción en la meiosis de mamá o a que la mamá fuera mosaico en línea germinal.

En los casos, en donde dos madres de pacientes con translocación robertsoniana resultaron portadoras, se estudió a las abuelas, siendo una de ellas portadora de la rob(14;21). La translocación en la mamá del paciente fue producto de una segregación alterna, mientras que en el paciente la segregación fue adyacente 1.

Edad de los padres

La edad materna de los pacientes con SD es la causa principal para determinar riesgos de recurrencia. Para este trabajo, tanto la edad materna como la edad paterna fueron variables importantes. Se sabe que para cualquier mujer existe un riesgo de recurrencia del 1% y después de los 35 años el riesgo incrementa al 2.4%. Una razón para explicarlo, es que durante los años que está detenido el ovocito en profase I, queda expuesto a diversos factores ambientales que pudieran influir en el correcto funcionamiento de la maquinaria meiótica (Sherman, *et al.*, 2005). Es importante mencionar que la población estudiada en términos generales se trata de una población abierta, es decir, muchos de los casos corresponden a madres jóvenes, en algunos estudios se han analizado poblaciones en riesgo, incluyendo diagnóstico prenatal o embarazo de alto riesgo (Morris, *et al.*, 2001).

En este estudio, el rango de edad fue amplio para ambos progenitores, para las madres fue de 13-48 años y para los padres de 14-64 años (tabla VIII). El grupo etario más frecuente tanto para las mamás como para los papás fue el mismo en las tres variantes citogenéticas, 21-25 años. Estos datos indican que hay más madres jóvenes, porque son las que se encuentran en edad reproductiva óptima y las madres de edades más avanzadas se encuentran en menor proporción porque disminuye su capacidad reproductiva.

Para la variante de T21 libre, la edad de las madres en general fue mayor respecto a las demás variantes. La edad promedio y la mediana de las mamás fueron de 29 años con una moda de 19. En el caso de los mosaicos, la edad promedio de las mamás (28 años) es similar a la T21 libre, pero no para la mediana y la moda (25 años). La edad materna en las translocaciones robertsonianas es diferente a las variantes anteriores, siendo la edad promedio de 24 años con una mediana de 23 y una moda de 20. Los datos anteriores no permiten visualizar claramente un efecto de edad, aunque si tomamos la moda, esta variable es menor para las T21 libres. Sin embargo, en la gráfica 4 se observan dos picos para la T21 libre, el primero

representa la edad promedio a la cual se están reproduciendo las mujeres y en el segundo la elevación de la curva muestra el aumento de casos por efecto de edad materna. Aunque en menor proporción, este efecto también ocurre en los mosaicos con un efecto de edad en la no disyunción postcigótica o por rescate trisómico. Debido a que las translocaciones robertsonianas en los pacientes con SD son generalmente una alteración estructural *de novo*, originada principalmente en la meiosis materna, o a la segregación de una translocación balanceada en padres portadores sanos, el efecto de edad materna no se observa en la gráfica, el único pico para esta variante corresponde a la edad reproductiva promedio. Un comportamiento similar para las tres variantes ha sido reportado en la literatura, siendo la edad mayor para las trisomías 21 libres (>30 años) y mosaicos (>28 años), mientras que para las translocaciones robertsonianas se ha reportado una edad menor a 25 años (Astete, *et al.*, 1991; Mutton, *et al.*, 1996; Sheth, *et al.*, 2007; Chandra, *et al.*, 2010; Garduño-Zarazúa, *et al.*, 2013).

En cuanto a la edad de los padres, la edad promedio en la T21 libre fue de 31 años, con una mediana de 30 y una moda de 29. En los mosaicos la edad promedio fue de 32 años, con una mediana de 30 y una moda de 24. Para las translocaciones robertsonianas la edad promedio es de 27 años, con una mediana y moda de 25 y 20, respectivamente. Al analizar estos datos, si tomamos la moda parecería haber un efecto de edad paterna para las trisomías libres. En la gráfica 5, no se observa un efecto de edad para los padres, el único pico en las T21 libres corresponde a la mayoría de los nacimientos. En general, en la literatura no se encuentra reportada la edad de los padres, debido a que no es considerada como un factor de riesgo para SD, no obstante, sí se ha señalado que en promedio es mayor por 1-2 años que la edad de las madres siguiendo un patrón similar (Mutton, *et al.*, 1996).

11. CONCLUSIONES

1. Durante el periodo estudiado, el 20.46% de los pacientes que llegaron a la consulta de Genética del HIMFG tuvieron un diagnóstico clínico de SD, siendo la principal solicitud de atención del departamento de Genética.
2. La T21 libre fue la variante citogenética más frecuente en un 93.44%, seguida de las translocaciones robertsonianas en 4.79% y por último los mosaicos que representaron un 1.67%. Las frecuencias de las variantes citogenéticas para este estudio concuerdan con las frecuencias reportadas en la literatura. En los casos por translocación robertsoniana, la madre fue portadora de la translocación en 5.3% de ellos. El porcentaje de pacientes de género masculino vs. femeninos es más alto (54.56% vs 45.44%), como se ha reportado en otros estudios.
3. No todos los pacientes que presentaron un diagnóstico clínico de SD, tuvieron un resultado citogenético de T21. La confirmación inter-observadores y las condiciones del paciente, son factores importantes en el diagnóstico clínico y la solicitud de cariotipo. La realización de estudios citogenéticos permitió descartar o confirmar el diagnóstico clínico de SD y la asociación del fenotipo con otras alteraciones citogenéticas. El número de metafases analizadas es fundamental en un resultado citogenético para la identificación de mosaicismo.
4. El grupo etario más frecuente en ambos padres es de 21-25 años, que es la edad reproductiva óptima. La edad materna promedio de las trisomías 21 libres (29 años) y mosaicos (28 años), fueron mayores respecto a las translocaciones robertsonianas (24 años), indicando un efecto de edad materna en la no disyunción. La mayoría de los casos por translocaciones robertsonianas se presentan *de novo*, por lo que la edad materna avanzada no es un factor de riesgo en esta variante. La edad de los padres no se considera un factor de riesgo para T21.
5. El HIMFG es un centro de referencia en México para el estudio de pacientes con T21. Los pacientes provenientes del Estado de México y del Distrito Federal son los que se atienden con mayor frecuencia.

12. REFERENCIAS

- Abdel-Hady SY, Mohamed S. y Faeza ED. 2011. Cytogenetic and comorbidity profile of Down syndrome in Mansoura University children's hospital, Egypt. *Indian J Hum Genet*, 17: 157-163. DOI: 10.4103/0971-686692092.
- Abdul A, Bener A, Sandridge A. y Hoffman G. 2006. The pattern of Down syndrome among children in Qatar: A population-based study. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 76: 609-612.
- Agopian A, Marengo L. y Mitchell L. 2012. Predictors of trisomy 21 in the offspring of older and younger women. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 94:31-35. DOI: 10.1002/bdra.22870.
- Alberts B, Bray D, Hopkin K, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, y Walter P. 2014. DNA and chromosomes. En *Essential Cell Biology*. Garland Science, New York. Pp. 171-193
- Arents G. y Moudrianakis E. 1993. Topography of the histone octamer surface: repeating structural motifs utilized in the docking of nucleosomal DNA. *Proc Natl Acad Sci USA*, 90: 10489-10493.
- Astete C, Youlton R, Castillo S, Be C. y Daher V. 1991. Análisis clínico y citogenético en 257 casos de síndrome de Down. *Rev Chil Pediatr*, 62: 99-102.
- Azman Z, Ankathil R, Siti I, Suhaida A, Norhashimah M, Tarmizi B, Nor A, Kannan P. y Zilfalil A. 2007. Cytogenetic and clinical profile of Down syndrome in Northeast Malaysia. *Singapore Med J*, 48: 550-554.
- Bornstein E, Lenchner E, Donnenfeld A, Jodicke C, Keeler S, Kapp S. y Divon M. 2010. Complete trisomy 21 vs translocation Down syndrome: a comparison of modes of ascertainment. *Am J Obstet Gynecol*, 4: 391-395. DOI: 10.1016/j.ajog.2012.06.019
- Catovic A. y Kendic S. 2005. Cytogenetic findings at Down syndrome and their correlation with clinical findings. *Bosn J Basic Med Sci*, 5:61-67.
- Chandra N, Cyril C, Lakshminarayana P, Nallasivam P, Ramesh A, Gopinath P. y Marimuthu M. 2010. Cytogenetic evaluation of Down syndrome: a review of 1020 referral cases. *Int J Hum Genet*, 10: 87-93.
- Chial H. 2008. Cytogenetic methods and disease: flow cytometry CGH and FISH. *Nature Education*, 1:76
- Clift D. y Marston A. 2011. The role of shugoshin in meiotic chromosome segregation. *Cytogenet Genome Res*, 133: 234-242.

- Devlin T. 2002. Textbook of biochemistry with clinical correlations. John Wiley & Sons, New Jersey. 1240 pp.
- Devlin L. y Morrison P. 2004. Accuracy of the clinical diagnosis of Down syndrome. *Ulster Med J*, 73: 4-12.
- Down J. y Lond M. 1866. Observations on an ethnic classification of idiots. *Clin Lect Rep London Hosp*, 3: 259-262.
- Felsenfeld G. y McGhee J. 1986. Structure of the 30 nm chromatin fiber. *Cell*. 44, 375-377.
- Finch J. y Klug A. 1976. Solenoidal model for superstructure in chromatin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 73: 1897-1901.
- García-Delgado C, Bahena-Martínez E, Aparicio-Onofre A, Guevara-Yañez R, Cervantes-Peredo A, Azotla-Vilchis O, Estrada-Mena J, Luna-Angulo A, Villa-Morales J. y Morán-Barroso V. 2010. A familial reciprocal translocation t(1;15) in three generations identified in a regular trisomy 21 patient. *Genet Couns*, 21: 299-306.
- Garduño-Zarazúa L, Giammatteo L, Kofman-Epstein S. y Cervantes A. 2013. Prevalencia de mosaicismo para la trisomía 21 y análisis de las variantes citogenéticas en pacientes con diagnóstico de síndrome de Down. Revisión de 24 años (1986-2010) del Servicio de Genética del Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga. *Bol Med Hosp Infant Méx.*, 70: 31-37.
- Girirajan S. 2009. Parental-age effects in Down syndrome. *J Genet*, 88: 1-7.
- González-Herrera L, Pinto-Escalante D. y Ceballos-Quintal J. 1998. Prevalencia de mosaicos en 100 individuos con diagnóstico de síndrome de Down. *Rev Biomed*, 9: 214-222.
- Guízar-Vazquez J. 2001. Genética clínica: diagnóstico y manejo de las enfermedades hereditarias. 3a ed. El manual moderno. 985 pp.
- Hansen J. 2002. Conformational dynamics of the chromatin fiber in solution: determinants, mechanisms, and functions. *Annu Rev Biophys Biomol Struct*. 31:361-392.
- Hassold T, Hall H. y Hunt P. 2007. The origin of human aneuploidy: where we have been, where we are going. *Hum Mol Genet*, 16: 203-208. DOI: 10.1093/hmg/ddm243.
- Hin Tjio J. y Levan A. 1956. The chromosome number of man. *Hereditas Genetiskt Arkiv*, 1-8.
- Hook E. 1977. Exclusion of chromosomal mosaicism: tables of 90%, 95%, and 99% confidence limits and comments on use. *Am J Hum Genet*, 29:94-97.
- Hulten M. 2010. Meiosis. En: *Encyclopedia of Life Sciences (ELS)*, John Wiley & Sons, Ltd. Chichester. DOI: 10.1002/9780470015902a0005772.pub2.

- Hulten M, Jonasson J, Iwarsson E, Uppal P, Vorsanova SG, Yurov YB. y Iourov IY. 2013. Trisomy 21 mosaicism: we may all have a touch of Down syndrome. *Cytogenet Genome Res*, DOI: 10.1159/000346028.
- ISCN. 2013: An international system for human cytogenetic nomenclature. Shaffer L, McGowan -Jordan J, Schmid M. (eds.). S Karger, Basel.
- Jaouad C, Cherkaoui S, Sbiti A, Natiq A, Elkerch F. y Sefiani A. 2010. Cytogenetic and epidemiological profiles of Down syndrome in a Moroccan population: a report of 852 cases. *Singapore Med J*, 51: 133-136.
- Jyothy A, Kumar K, Rao G, Rao V, Swama M, Devi B, Sujatha M, Kumari C. y Reddy P. 2000. Cytogenetic studies of 1001 Down syndrome cases from Andhra Pradesh, India. *Indian J Med Res*, 111: 133-137.
- Kallioniemi A. Kallioniemi OP, Sudar D, Rutovitz D, Gray JW, Waldman F. y Pinkel D. 1992. Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science*, 258: 818-821.
- Kaminker P. y Armando R. 2008. Síndrome de Down. Segunda parte: estudios genéticos y función del pediatra. *Arch Argent Pediatr*, 106: 334-340.
- Keagle M. y Gersen S. 2005. Basic Laboratory Procedures. En: *The principles of clinical cytogenetics*. Gersen S. y Keagle M. (eds.). Human Press, New Jersey. Pp. 63-79
- Lamb N, Yu K, Shaffer J, Feingold E. y Sherman S. 2005b. Association between maternal age and meiotic recombination for trisomy 21. *Am J Hum Genet*, 76: 91-99.
- Lander E, Linton L, Birren B, Nusbaum C, Zody M, Baldwin J, Devon K, Dewar k, Doyle M, FitzHugh W, et al. 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, 409: 860-921.
- Lejeune J, Turpin R. y Gautier M. 1959. Le mongolisme premier exemple d'aberration autosomique humaine. *Ann Genet*, 1: 41-49.
- Luger K, Mäder A, Richmond R, Sargent D. y Richmond T. 1997. Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. *Nature*, 389: 251-260.
- Luthardt F, Keitges E. 2001. Chromosomal syndromes and genetic disease. En: *Encyclopedia of Life Sciences (ELS)*, John Wiley & Sons, Ltd. Chichester, DOI:10.1038/npg.els.0001446.
- Mckinlay R, Sutherland G. y Shaffer L. 2011. *Chromosome abnormalities and genetic counseling*. 4th ed. Oxford. 649 pp.

- Mikkelsen M, Hallberg A, Hanne P, Merete F, et al. 1995. Epidemiology study of Down's syndrome in Denmark, including family studies of chromosomes and DNA markers. *Dev Brain Dysfunct*, 8:4-12.
- Miller O. y Therman E. 2001. *Human chromosomes*. 4th ed. Springer Science & Business Media, Detroit. 501 pp.
- Moore M. y Best R. 2007. Chromosome Mechanics. En: *Encyclopedia of Life Sciences (ELS)*, John Wiley & Sons, Ltd. Chichester, DOI: 10.1002 /9780470015902 .a000 1441.pub2.
- Morris J, Alberman E, Mutton D, y Jacobs P. 2011. Cytogenetic and epidemiological findings in Down syndrome: England and Wales 1989-2009. *Am J Med Genet A*, 158: 1151-1157.
- Moyzis R, Buckingham J, Scott L, Dani M, Deaven L, Jones M, Meyne J, Ratliff R. y Wu J. 1988. A highly conserved repetitive DNA sequence, (TTAGGG)_n, present at the telomeres of human chromosomes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 85: 6622-6626.
- Mutton D, Alberman E. y Hook E. 1996. Cytogenetic and epidemiological findings in Down syndrome, England and Wales 1989 to 1993. *F Med Genet*, 33: 387-394.
- Olson LE, Roper RJ, Sengstaken CL, Peterson EA, Aquino V, Galdzicki Z, Siarey R, Pletnikov M, Moran TH, Reeves RH. 2007. Trisomy for the Down syndrome "critical region" necessary but not sufficient for brain phenotypes of trisomic mice. *Hum Mol Genet*, 16: 774-782.
- Page S. y Hawley R. 2003. Chromosome choreography: the meiotic ballet. *Science*. 301: 785-789.
- Papageorgiou E, Karagrigoriou A, Tsaliki E, Velissariou V, Carter P. y Patsalis C. 2011. Fetal-specific DNA methylation ratio permits noninvasive prenatal diagnosis of trisomy 21. *Nat Med*, 17: 1-5.
- Petersen M. y Mikkelsen M. 2000. Nondisjunction in trisomy 21: origin and mechanisms. *Cytogenet Cell Genet*, 91: 199-203.
- Pierce B. 2009. *Genetics: A conceptual approach*. Freeman and Company, New York. 3rd ed. 832 pp.
- Secretaría de Salud. 2007. Centro nacional de equidad de género y salud reproductiva. Atención integral de la persona con síndrome de Down. Lineamiento técnico. Secretaría de Salud. 78 pp.
- Sharkey F, Maher E. y FitzPatrick D. 2005. Chromosome analysis: what and when to request. *Arch Dis Child*, 90: 1264-1269.
- Sherman L, Freeman B, Allen G. y Lamb E. 2005. Risk factors for nondisjunction of trisomy 21. *Cytogenetic Genome Res*, 111: 273-280.

- Sheth F, Rao S, Desai M, Vin J. y Sheth J. 2007. Cytogenetic analysis of Down syndrome in Gujarat. *Indian Pediatrics*,
- Speicher M. y Carter N. 2006. The new cytogenetics: blurring the boundaries with molecular biology. *Nat Rev Genet*, 6: 782-792.
- Staples A, Sutherland G, Hann A. y Clisby S. 1991. Epidemiology of Down Syndrome in South Australia, 1960-89. *Am J Hum Genet*, 49: 1014-1024.
- Strachan T. y Read A. 2004. *Human molecular genetics*. Garland Science, New York. 4th ed. 782 pp.
- Robinson W. y McFadden D. 2002. Chromosomal genetic disease: numerical aberrations. En: *Encyclopedia of Life Sciences (ELS)*, John Wiley & Sons, Ltd. Chichester, DOI: 10.1038/npg.els.0001451.
- Tamar C, Contreras N, y Fonseca D. 2008. Utilidad de la citogenética en la medicina actual: visión histórica y aplicación. *Acta Med Colomb*. 33: 309-316.
- Thomas I, Rajangam S. y Hedge S. 1992. Cytogenetic investigations in Down syndrome patients and their parents. *Indian J Med Res*, 96: 366-371.
- Turnpenny P. y Ellard S. 2009. *Emery, Elementos de Genética Médica*. Elsevier. Madrid. 13a ed. 440 pp.
- Van K. 1988. The proteins of chromatin. I. Histones. En: *Chromatin*. Rich A. (ed.). Springer-Verlag, New York. Pp. 69-148
- Velagaleti G. y Tonk V. 2004. Methods of studying human chromosomes and nomenclature. The normal human karyotype. En: *Atlas of human chromosome heteromorphisms*. Wyandt H, y Tonk V. (eds.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. Pp. 11-32
- Vorsanova S, Yurov Y. y Lourov I. 2010. Human interphase chromosomes: a review of available molecular cytogenetic technologies. *Molecular Cytogenetics*, 3: 1-15.
- Wang YF, Lin L, Chen ZY. 2010. Cytogenetic study of Down syndrome cases in southern Hainan Province and report of a rare case of abnormal karyotype. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 30: 2592-2595.
- Watson J, Baker T, Belk S, Gann A, Levine M. y Losick R. 2013. *Molecular biology of the gene*. 7a ed. Benjamin-Cummings Publishing Company. 912 pp.
- Willard H. 1985. Chromosome-specific organization of human alpha satellite DNA. *Am J Hum Genet*, 37: 524-532.
- Wolff D. y Schwartz S. 2005. Fluorescence in situ hybridization. Pp. 455-489, en: Gersen S. y Keagle M. (eds.). *The principles of clinical cytogenetics*. Human Press, New Jersey.

Fuentes electrónicas

e!Ensembl:http://uswest.ensembl.org/Homo_sapiens/Location/Chromosome?r=21:35853178-35953178

INEGI en internet: <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/default.aspx?e=9>

ANEXO 1: HOJA DE CONCENTRACION DE DATOS.

Número de caso	Nombre del paciente	Género	Edad	Edad de la madre	Edad del padre	Lugar de procedencia	Diagnóstico	Resultado