



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

DEPARTAMENTO DE GENÉTICA

ANÁLISIS CLÍNICO, CITOGÉNÉTICO Y MOLECULAR DE UN CASO DE REARREGLO
CROMOSÓMICO COMPLEJO CON CARIOTIPO 46,XY,add(11)(q25).

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

ESPECIALISTA EN GÉNÉTICA MÉDICA

PRESENTA:

DR. LEONARDO JAVIER MEJÍA MARÍN

TUTORA: DRA. VERÓNICA FABIOLA MORÁN BARROSO

ASESORES DE TESIS:

DRA. CONSTANZA GARCÍA DELGADO

M. EN C. ALICIA BEATRIZ CERVANTES PEREDO



Ciudad de México, Febrero 2016





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Directora de tesis:



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

Asesoras de tesis:



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



M. en C. Alicia Beatriz Cervantes Peredo
Servicio de Genética, Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga
Facultad de Medicina UNAM

Dedicatoria

A mi madre Laura Marín, mi padre Javier Mejía y mi hermana Ximena Mejía.

Por su amor que siempre me acompaña a donde vaya, su confianza y su apoyo. Gracias por todo familia, los amo. Sé que estas orgulloso de mi, gracias papá.

A mi familia Mejía Meráz y Marín Dorado.

De alguna u otra manera siempre me apoyaron en los planes que he tenido así como a lo largo de esta carrera. Gracias.

A mis amigos de LA HERMANDAD.

Tenemos muchos años de ser compañeros, le agradezco los momentos que hemos compartido y apoyo que siempre me han expresado. En especial a Ulises Martínez, gracias por estos más de 20 años de amistad y sobre por los últimos ya que me has demostrado que siempre puedo contar contigo, gracias hermano.

A Neiba Luján

Por lo que hemos compartido y por lo que aún nos falta, gracias por tu amor, cariño y apoyo. Gracias mi Neiba.

A la Dra. Verónica Fabiola Morán Barroso.

Por sus enseñanzas y su tiempo invertido en nuestra formación como genetistas, sin usted esta residencia no sería igual. Gracias.

A mis maestros la Dra. Constanza García Delgado y al Dr. Francisco Flores Ramírez.

Por todo lo que compartieron conmigo, sus enseñanzas y orientación. Gracias

A la M. en C. Alicia Cervantes Peredo.

Por compartir el amplio conocimiento que posee, por mostrarnos la pasión que tiene por su trabajo. Gracias

A mis amigos y compañeros de residencia: Rodrigo, Maura, Carolina, Christian, Alejandra, Paulina, Nayla, Yola, Luis, Mirena y América.

Por su amistad, conocimiento y apoyo. Me siento afortunado de haber podido conocer a personas tan hermosas como ustedes, sobre todo a mis hermanitas Mire y Ame, no pude haber tenido mejores compañeras. Gracias

Al Hospital Infantil de México Federico Gómez y sus pacientes.

Por darme esta gran oportunidad aprender y la dicha de poder servirles de la mejor manera. Gracias.

INDICE

Resumen.....	4
1.-Marco teórico.....	5
1.1.-Estructura del DNA.....	5
1.2.- Antecedentes del estudio cromosómico.....	10
1.3.-Estructura de los cromosomas humanos.....	10
1.4.- Ciclo celular.....	15
1.4.1.- Mitosis.....	18
1.4.2.- Meiosis.....	21
1.5.- Clasificación de los cromosomas humanos.....	23
1.6.- Técnicas de citogenética.....	25
1.6.1.- Cariotipo.....	25
1.6.2.- Análisis por hibridación <i>in situ</i> con fluorescencia.....	28
1.6.3.- Cariotipo molecular o hibridación genómica comparativa.....	30
1.6.4.- Cariotipo molecular o hibridación genómica comparativa sobre microarreglos (aCGH).....	31
1.6.5.- Microarreglos de SNP.....	34
1.7.- Indicaciones para la realización de cariotipo.....	34
1.7.1- Alteraciones cromosómicas.....	36
1.7.1.1- Alteraciones cromosómicas numéricas.....	36
1.7.1.2- Alteraciones cromosómicas estructurales.....	38
1.8.- Características del cromosoma 10 humano.....	44
1.8.1.- Síndrome por trisomía 10p.....	46
1.9.- Características del cromosoma 11 humano.....	49
1.9.1.- Síndromes por deleción terminal 11q.....	51
2.- Planteamiento del problema.....	54
3.- Justificación.....	55
4.- Objetivos.....	56
4.1.- Objetivo general.....	56
4.2.- Objetivos secundarios.....	56
5.- Material y métodos.....	57
6.- Resultados del análisis estadístico.....	59
6.1.- Descripción de los casos clínicos.....	59
6.2.- Presentación del caso clínico.....	62
6.2.1.- Resultados de los estudios citogenéticos y moleculares.....	65
7.- Discusión.....	71
8.- Conclusiones.....	85
9.- Bibliografía.....	86
Anexos	
Anexo I: Técnica de cariotipo bandas GTG.....	93
Anexo II: Técnica de FISH.....	95
Anexo III: Consentimiento informado para toma de muestra de sangre periférica para cariótipo.....	96
Anexo IV: Técnica de microarreglos de SNP.....	97
Anexo V: Consentimiento informado para toma de muestra para DNA.....	98
Anexo VI: Carta de consentimiento informado para fotografías.....	99

RESUMEN

Introducción: Las anomalías cromosómicas estructurales no balanceadas tienen una incidencia aproximada de 1 en 1,100 recién nacidos vivos pueden ser secundarias a duplicaciones, inserciones, rupturas cromosómicas o entrecruzamientos desiguales, estas alteraciones pueden originar patología debido a trisomía o monosomía de regiones cromosómicas y estos eventos pueden ser heredados de algún padre o ser eventos *de novo*. Se han reportado más de 60 casos de trisomía 10p, sin embargo, los casos de trisomía 10p pura son pocos, pero es gracias a ellos que se ha podido relacionar un fenotipo con esta alteración. La trisomía 10p se caracteriza por discapacidad intelectual, dismorfias, pie equino varo, retraso del desarrollo y crecimiento. Las deleciones terminales en 11q se presentan con una incidencia de <1 en 100,000. Usualmente es un evento *de novo* (85%); sin embargo, en 15% de los pacientes son resultado de una segregación desbalanceada secundaria a una translocación balanceada familiar. Las características fenotípicas varían mucho dependiendo de la región perdida, así como de la presencia o no de otro cromosoma involucrado en el rearrreglo. **Objetivo principal:** Describir y analizar las características clínicas, citogenéticas y moleculares en un paciente que presenta material adicional en uno de sus cromosomas 11. **Justificación:** El abordaje de un paciente con alteraciones del desarrollo y dismorfias incluye el descartar alteraciones cromosómicas, requiriendo según el caso técnicas citogenéticas y moleculares, aportando información sobre los genes involucrados en las región afectadas proporcionando conocimiento nuevo. En esta tesis se analiza en caso de un paciente con un rearrreglo cromosómico complejo que involucró los cromosomas 10 y 11. **Material y métodos:** Se realizó el estudio clínico, citogenético con cariotipo con bandas GTG y FISH, así como mapeo genómico con Cytoscan HD de Affymetrix Inc® al propósito y estudio familiar. **Resultados:** El cariotipo inicial del paciente fue: 46,XY,add(11)(q25)[25], ambos padres tuvieron un cariotipo normal. El análisis con microarreglo del alta densidad demostró una ganancia de 25.5 Mb en el cromosoma 10(p12.1-pter) y pérdida de 1 Mb en el cromosoma 11 (11q25-qter). El análisis con FISH corroboró las regiones cromosómicas implicadas. **Discusión:** Se describe el caso de un paciente con una trisomía 10p12.1-pter y monosomía 11q25-qter *de novo*. La mayoría de las características clínicas del paciente son compatibles con las presentes en los casos reportados de trisomía 10p pura, siendo relevantes la presencia de retraso psicomotor, hipotonía, crisis convulsivas, dismorfias menores y pie equino varo bilateral. La monosomía 11q probablemente contribuye poco al fenotipo. Se otorgó a los padres del paciente asesoramiento genético con base a los datos moleculares.

1.- Marco teórico.

1.1.- Estructura del DNA.

El ácido desoxirribonucleico (DNA) está constituido de cuatro diferentes nucleótidos, cada uno formado por tres componentes químicos: un fosfato (PO_4); una pentosa (desoxirribosa); y una base nitrogenada que puede ser purina (adenina o guanina) o bien pirimidina (timina o citosina). Cada desoxirribosa presenta un extremo 5' y uno 3', por lo que estos extremos se emplean para describir la dirección en que se ordenan los nucleótidos.^{1,2}

Las bases nitrogenadas pueden formar puentes de hidrógeno en un código de apareamiento que define que una guanina (G) puede unirse a una citosina (C), mientras que una adenina (A) sólo se puede unir a una timina (T). Entre G y C se forman 3 puentes de hidrógeno y entre A y T se forman dos puentes de este tipo. Debido a este apareamiento entre las bases se puede inferir que la cantidad de A es igual a la de T así como la cantidad de G es igual a la de C.^{1,2}

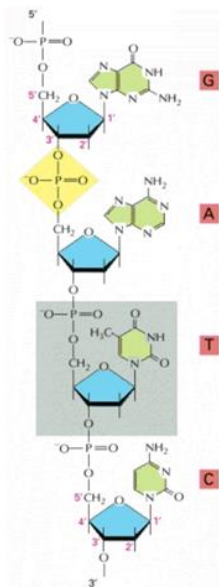


Figura 1. Se muestra un polinucleótido formado por los cuatro nucleótidos presentes en el DNA. Una de las uniones fosfodiéster se encuentra resaltada en amarillo y uno de los nucleótidos está sombreado en gris. Los nucleótidos se unen mediante los enlaces fosfodiéster entre átomos de carbono específicos de la ribosa, conocidos como átomos 5' y 3'. Imagen modificada de Strachan T *et al*, 2010.²

Los nucleótidos que constituyen al DNA se ordenan uno tras otro formando dos cadenas de fosfatos y desoxirribosa unidos en forma alternada. Las cuatro bases nitrogenadas están orientadas hacia el centro de la doble cadena de fosfatos y desoxirribosa. Las secuencias de ácidos nucleicos siempre se escriben en dirección 5' -> 3'. Cuando se representa de manera gráfica la cadena que sigue este sentido de izquierda a derecha se considera la cadena sentido o codificante ya que tiene la secuencia que servirá de molde para la formación del ácido ribonucleico (RNA) y que posteriormente codificará para la secuencia de aminoácidos de la proteína traducida.^{1,2}

Las cadenas de nucleótidos se disponen de manera antiparalela, entrelazadas formando una alfa hélice derecha que tiene 10 pares de bases por vuelta, con una distancia entre cada vuelta de 3.6 nm. Las bases nitrogenadas se pueden apreciar como estructuras aplanadas apiladas en el centro de la alfa hélice. Los puentes de hidrógeno sirven para mantener la estructura, dando cohesión y estabilidad. Por la disposición espacial de las bases nitrogenadas y la desoxirribosa al formarse la hélice, se generan dos surcos denominados mayor y menor (Figura 2). El DNA puede adoptar distintas formas, bajo condiciones fisiológicas la mayoría del DNA en bacterias y eucariontes adoptan una forma B, que presente una giro hacia la derecha (su espiral sigue las manecillas del reloj) y tiene 10 pares de bases por vuelta. Las formas raras incluyen al DNA-A (giro hacia la derecha con 11 pares de bases por vuelta) y el DNA-Z (giro a la izquierda con 12 pares de bases por vuelta).^{1,}

2

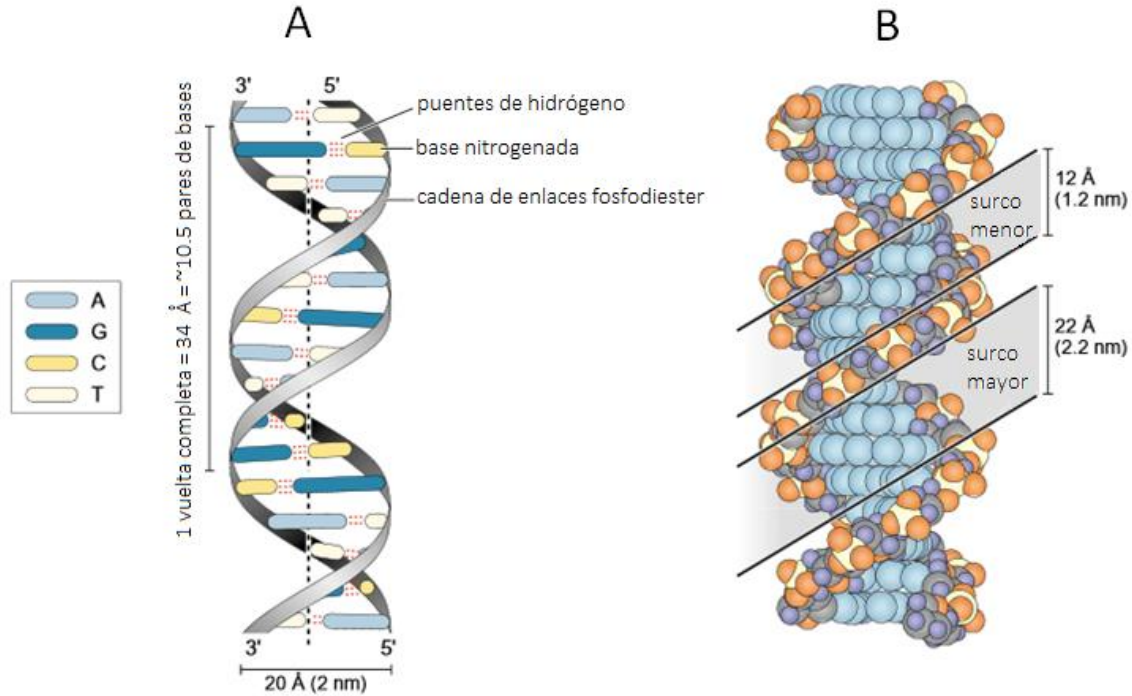


Figura 2. Estructura helicoidal del DNA. (A) Figura esquemática de la doble cadena. En la primera imagen se están señalados los puentes de hidrogeno, las bases y los enlaces fosfodiéster, además de que por cada giro del DNA corresponden a casi 10 pares de bases. (B) Figura tridimensional con se aprecian ambos surcos: mayor y menos. Imagen modificada de Watson JD *et al*, 2004.³

En el núcleo de las células eucariontes se encuentra la cromatina que es una macromolécula compuesta por DNA, RNA y proteínas, que posteriormente por los procesos de compactación, forma los cromosomas. El primer nivel de empaquetamiento corresponde al nucleosoma, formado por un núcleo o *core* compuesto por 146 nucleótidos que dan 1.7 vueltas alrededor de un complejo de proteínas llamadas histonas (8 histonas: H2A, H2B, H3 y H4). Participa también la histona H1 que interactúa con el DNA ligador que costa de aproximadamente de 60 pb (Figura 3).^{2,4}

El segundo nivel de organización es el empaquetamiento de los nucleosomas en una fibra de cromatina de 30 nm, la cual se encuentra en la cromatina en interfase y en la mitosis. Se han propuesto modelos para explicar la estructura de seta fibra de cromatina como son el modelo del solenoide y del zigzag. En el primero los nucleosomas se encuentran alineados en la fibra de

cromatina y en el segundo se forman dos líneas de nucleosomas, permitiendo la interacción entre los nucleosomas adyacentes.^{12, 13}

El tercer nivel de organización es el enrollamiento en la fibra de 300 nm, se forman asas y esto se lleva a cabo a través de la unión de las proteínas de andamiaje, las cuales son proteínas ácidas no histonas, que son esenciales para los siguientes niveles de organización (Figura 3). Las proteínas no histonas SMC (Structure and Maintenance of Chromosomes) tienen una función primaria en la organización de la estructura de los cromosomas eucariontes. Este tipo de proteínas son polipéptidos de hasta 1,300 aminoácidos, son proteínas diméricas con un dominio único con función de ATPasa, están altamente conservadas ya que se han encontrado también en bacterias y están involucradas en la compactación de los cromosomas.^{12, 13}

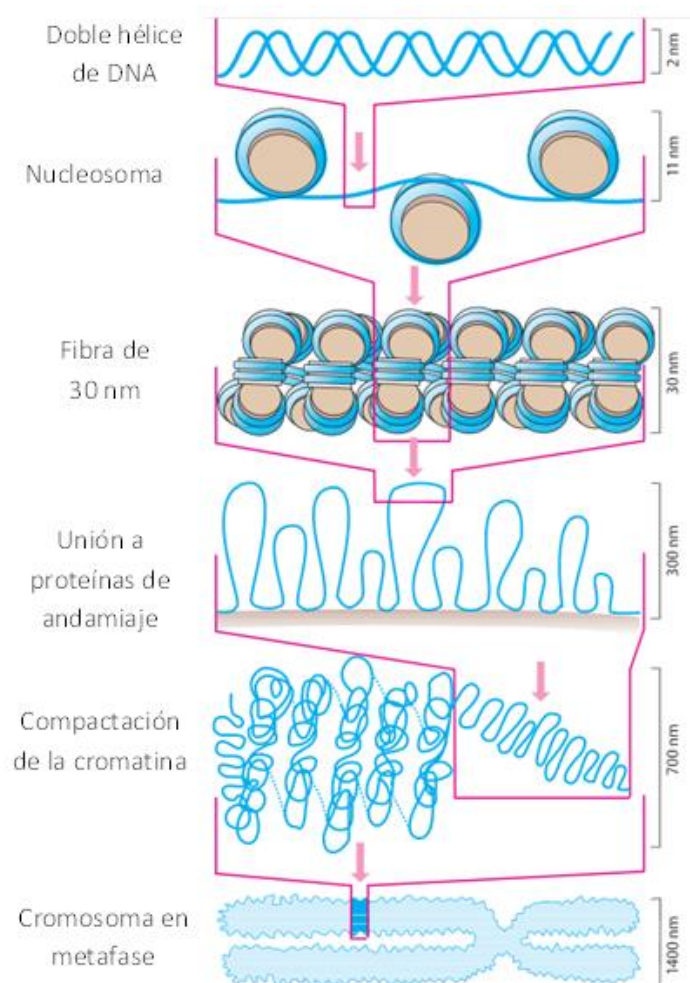


Figura 3. Esquema de organización del empaquetamiento del DNA. Imagen modificada de Passerge E *et al*, 2001.¹²

El siguiente paso en la compactación de la cromatina es la de un enrollamiento para formar un espiral de 700 nm de diámetro la cual se compacta alrededor de 10,000 veces para formar un cromosoma en metafase. De acuerdo al contenido de GC, se determina la densidad génica de la región. Las regiones con mayor densidad génica son ricas en GC y las que tienen poca densidad son pobres en GC (Figura 3).^{12, 13}

La cromatina que se mantiene compactada durante la interfase se conoce como heterocromatina para distinguirla de la eucromatina la cual está dispersa. Los genes transcripcionalmente activos se encuentran en la eucromatina. En la heterocromatina se caracteriza por no transcribir ya que son regiones altamente condensadas.^{12, 13}

La heterocromatina se puede encontrar en dos formas: facultativa y constitutiva. La constitutiva, idéntica para todas las células del organismo y que carece de información genética, incluye a los telómeros y centrómeros del cromosoma que no expresan su DNA. La heterocromatina constitutiva contiene un tipo particular de DNA denominado DNA satélite, formado por gran número de secuencias cortas repetidas en tándem. Los tipos principales de este DNA son el DNA satélite alfa, y los DNA satélite I, II y III. Estas secuencias de DNA satélite son capaces de plegarse sobre sí mismas y pueden tener un papel importante en la formación de la estructura altamente compacta de la heterocromatina constitutiva. La heterocromatina constitutiva es estable y conserva sus propiedades heterocromáticas durante todas las etapas del desarrollo y en todos los tejidos. Es altamente polimórfica, probablemente debido a la inestabilidad del DNA satélite. Estos polimorfismos pueden afectar, no solamente a su tamaño sino también a la localización de la heterocromatina, y aparentemente no tiene un efecto fenotípico. Se encuentra fuertemente teñida en la técnica de bandas C, lo que es el resultado de una renaturalización muy rápida del DNA satélite tras la desnaturalización. La heterocromatina facultativa se inactiva de manera específica durante ciertas fases de desarrollo, son embargo, puede volverse eucromatina, un ejemplo de este tipo de heterocromatina es la que se aprecia en la inactivación de uno de los cromosomas X en las mujeres. La heterocromatina facultativa no es particularmente rica en DNA satélite, y por ello, no es polimórfica. La heterocromatina facultativa no se tiñe nunca con la técnica de bandas C.^{5,6}

1.2.- Antecedentes del estudio cromosómico.

Los cromosomas fueron descubiertos en el siglo diecinueve. La primera ilustración de los cromosomas humanos fue realizada por un citólogo austriaco Walther Flemming, de igual manera él llamó por primera vez a la porción que se podía teñir del núcleo cromatina y utilizó el término mitosis. Posteriormente, fue Waldeyer quien en 1888 acuña el nombre de cromosoma, que deriva del griego *chroma* (color) y *soma* (cuerpo), debido a su afinidad por distintas tinciones.^{4,6,7}

El DNA se encuentra unido a múltiples proteínas y dentro de las células humanas está altamente compactado ya que tiene una longitud de dos metros y se encuentra dentro de un núcleo de micrómetros de diámetro. Los cromosomas son la presentación más compacta del material genético y gracias a su estabilidad permite su adecuada segregación durante las divisiones celulares.^{5,8,9}

El número de cromosomas es específico de cada especie y varía mucho entre ellas. Las células diploides son aquellas que poseen dos copias de cada cromosoma lo que se describe como $2n$. A partir de las células germinales se originan los gametos que son células con número haploide de cromosomas esto se refiere a que poseen solo una copia de cada cromosoma lo que se describe como $1n$. En 1923, Painter TS estudia los cromosomas derivados de muestras de testículo humano, reportando que el número cromosómico diploide humano era de 48. Posteriormente con los avances en las técnicas de tinción, Tjio y Levan en 1956 reportan que el número de cromosomas humanos es de 46 y no 48, lo que posteriormente es confirmado por los trabajos de Ford y Hamerton.^{10,11}

1.3.- Estructura de los cromosomas humanos.

El total de la información genética se encuentra contenida dentro de los 23 pares de cromosomas humanos. Presentan distintos tamaños, con una estructura y morfología bien definida para cada uno de los pares de cromosomas homólogos. El análisis de los cromosomas humanos se realiza en el estudio de cariotipo, en el cual se utilizan los cromosomas en su estado más condensado durante

la etapa de prometáfase–metafase. La técnica de tinción más comúnmente utilizada es la de bandas GTG.^{1,4}

Los cromosomas metafásicos consisten en dos cromátidas hermanas, cada una está compuesta por DNA de doble cadena altamente empaquetado. El centrómero es una constricción primaria que divide a las cromátidas hermanas en brazos cortos (p) y largos (q), los extremos de los cromosomas son nombrados telómeros (Figura 4).¹¹

En eucariontes existen al menos seis diferentes tipos de proteínas SMC y forman heterodímeros en una combinación específica. SMC1 y SMC3 se unen para conformar el núcleo del complejo de cohesinas que media la cohesión entre cromátidas hermanas. SMC2 y SMC4 conforman el complejo de condensinas que es esencial en el ensamblaje y segregación de los cromosomas. Las restantes SMC5 y SMC6 están implicadas en la reparación del DNA y los puntos de control del ciclo celular.^{13,}

14

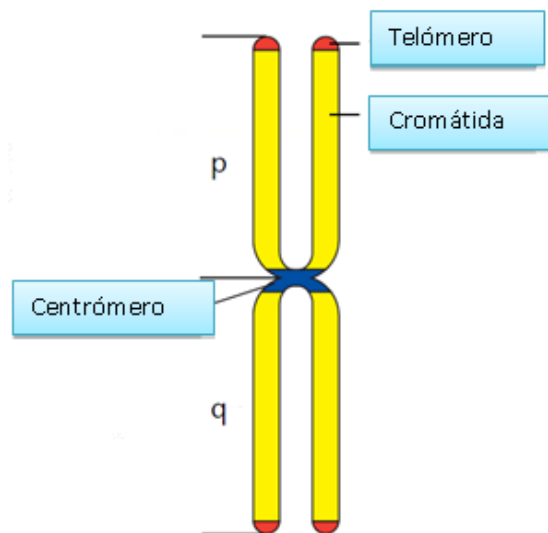


Figura 4. Diferentes partes de un cromosoma. Imagen modificada de Speicher RM *et al*, 2006.⁴

El centrómero está conformado por secuencias de DNA altamente repetitivas llamadas DNA α satélite, conformados por monómeros de 169 – 172 pares de bases. Tiene una función esencial durante la división celular ya que en el centrómero se ensamblan los cinetocoros, que son estructuras especializadas que se unen a los microtúbulos del huso mitótico, de esta manera se

asegura una correcta segregación de los cromosomas durante los procesos de división celular. Se requieren al menos 100 proteínas distintas para la correcta formación de los sitios de unión para microtúbulos del huso mitótico.

La correcta formación y especificación del centrómero es necesaria para la supervivencia celular. En contraste con los cinetocoros, los cuales tienen un ensamblaje y función específica durante la mitosis, la heterocromatina centromérica y un grupo de 17 proteínas llamadas red constitutiva asociada al centrómero o CCAN por sus siglas del inglés *Constitutive Centromer Associated Network*, están presentes a lo largo de todo el ciclo celular.^{15, 18}

En forma similar a las secuencias del DNA centromérico, las proteínas involucradas en la estructura y función del centrómero están altamente conservadas evolutivamente y en conjunto se denominan proteínas asociadas al centrómero o CENP (por sus siglas del inglés *Centromere Proteins*). Las proteínas centroméricas constitutivas CENP-B, CENP-G y CENP-H, se mantienen asociadas al centrómero durante todo el ciclo celular.

El DNA α satélite se une a CENP-A que es una histona H3 especializada a la que reemplazan en los nucleosomas centroméricos y se encuentra localizada en la placa interna del cinetocoro de los centrómeros activos. Mediante la organización de los nucleosomas centroméricos, CENP-A provee al centrómero de una estructura de cromatina específica. CENP-A es necesario para la interacción de otra proteína esencial que es CENP-C para su unión a la placa interna del cinetocoro (Figura 5).^{15,}

16

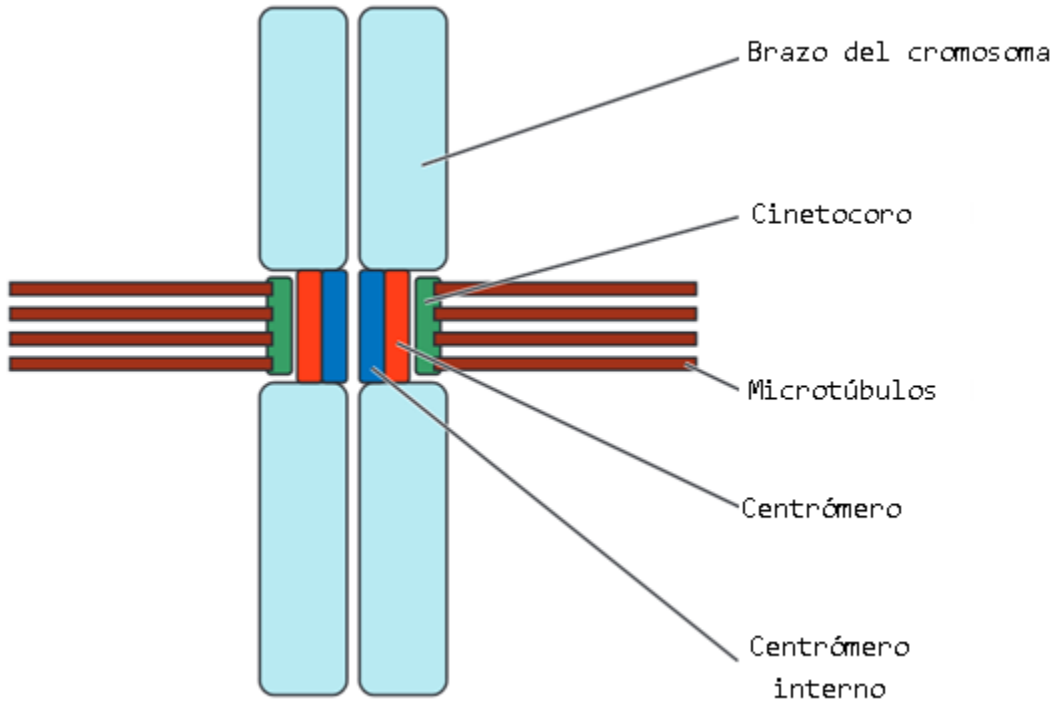


Figura 5. Estructura del centrómero. Imagen modificada de Przewloka *et al*, 2009.¹⁵

CENP-B se une a una región de 17 pares de bases en la secuencia llamada “caja CENP-B” que se encuentra en el DNA α satélite. Su localización tanto en centrómeros activos como inactivos, su ausencia en el cromosoma Y y la viabilidad de ratones *knockout* para *Cenpb*, sugieren que CENP-B no es esencial para la función del centrómero, sin embargo, puede facilitar su formación y estabilizarla. Estudios subsecuentes han revelado que CENP-B participa en la formación de heterocromatina durante la formación *de novo* de un centrómero, también parece participar en el correcto reclutamiento de CENP-C a los cinetocoros. CENP-H y CENP-I participan en la localización de CENP-C en el cinetocoro. El complejo similar a nucleosoma CENP-T-W-S-X parece contribuir con la formación de cromatina específica centromérica.^{15, 18}

Los telómeros se localizan en los extremos de los cromosomas y tienen características esenciales para una correcta función y organización cromosómica. Una de sus principales funciones es la de mantener la integridad del cromosoma, así como asegurar la replicación y adecuada posición del cromosoma.²⁰

Los cromosomas humanos poseen en los telómeros repeticiones múltiples de una secuencia de 6 nucleótidos 5'TTAGGG3' que terminan en una cadena sencilla rica en G de aproximadamente 300 nucleótidos, que se denomina saliente o asa T. El mecanismo para mantener la integridad y longitud de los telómeros se basa en la acción de una enzima llamada telomerasa, la cual participa en el encapuchamiento del telómero y en la respuesta de daño al DNA (Figura 6).²¹

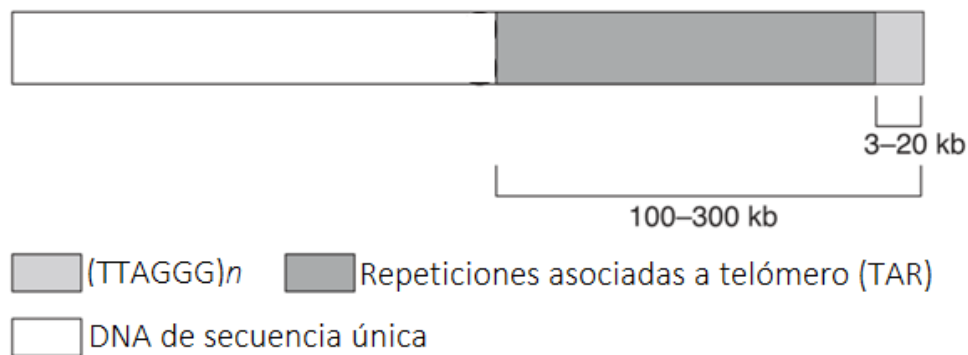


Figura 6. Esquema de la región telomérica de cromosomas humanos. En color gris claro se aprecia la región telomérica compuesta por los repetidos TTAGGG, el área gris oscura representa la región subteloamérica en donde se localizan las TAR y la parte blanca representa el DNA de secuencia única. Imagen modificada de Martin CL *et al*, 2015.²¹

Los telómeros se encuentran asociados a lo largo de todo el ciclo celular a un grupo de seis proteínas conocidas como el complejo de la shelterina, el cual consiste de TRF1, TRF2, POT1, TIN2, TPP1 y RAP1. Las proteínas TRF1 y TRF2 se unen a la región de doble cadena de repetidos teloméricos. Por otro lado POT1 es una proteína de unión a cadena sencilla que se encarga de proteger a la cadena rica en G que fue desplazada como consecuencia de la invasión de la región 3' saliente sobre la cadena rica en C. Las proteínas TIN2 Y TPP1 se encargan de formar la conexión

entre las proteínas de unión a doble cadena y las proteínas de unión a cadena sencilla, en tanto que RAP1 se encuentra asociada a TRF2. Además del complejo de la shelterina, existen proteínas que se asocian con el telómero de manera transitoria durante el ciclo celular tales como las proteínas que intervienen en la reparación/replicación del DNA.^{20, 21}

1.4.- Ciclo celular.

El ciclo celular consiste de una serie de etapas en donde las células dan origen a células hijas. El ciclo celular se divide en las fases: G₁, S (síntesis), G₂ y M. La fase G₁ se puede definir como el estado normal de la célula, la mayoría de ellas permanece en esta fase o en una fase modificada llamada G₀; la fase S se caracteriza porque durante este periodo se lleva a cabo la replicación de la cromatina; durante la fase G₂ la célula se prepara para llevar a cabo la mitosis; finalmente es durante la fase M que se lleva a cabo el proceso de división celular (Figura 7).^{2, 4, 30}

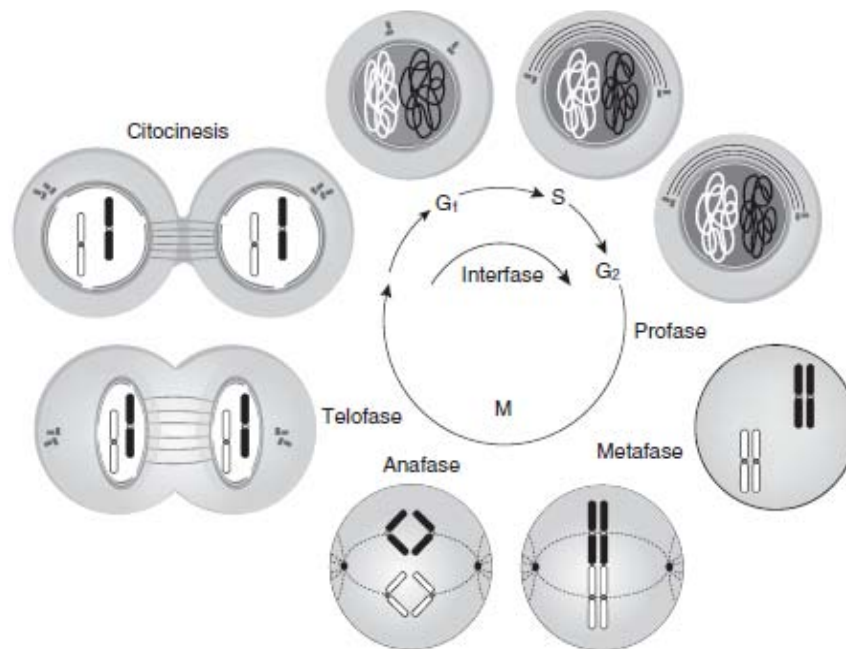


Figura 7. Etapas de la división celular somática posterior a la interfase y a la replicación con las 5 etapas de la mitosis: profase, metafase, anafase, telofase y citocinesis. Imagen modificada de Lisker R *et al*, 2013.²⁵

Tanto la proliferación celular como el progreso del ciclo celular se encuentran funcionalmente unidos a la expresión de genes asociados con el control del crecimiento. Existe relación entre causa y efecto de los factores que modulan el ciclo celular, reflejando una señalización multidireccional entre segmentos de cascadas de regulación que operan selectivamente para células específicas y tejidos.^{23, 24}

El ciclo celular de la mayoría de las células está formado por cuatro procesos coordinados: crecimiento celular, replicación del DNA, distribución de los cromosomas a las células hijas y la división celular. Para una célula típica con rápida proliferación un ciclo celular completo dura alrededor de 24 horas, la fase G1 dura al menos 11 horas, la fase S dura 8 horas, G2 dura 4 horas y la fase M 1 hora.^{23, 24}

En todas las fases del ciclo su progreso está controlado por una serie de procesos moleculares entre los cuales destacan la síntesis y degradación de proteínas denominadas ciclinas (CNL), que actúan como subunidades reguladoras de un grupo de cinasas dependientes de ciclinas (CDK). Es la actividad enzimática de los complejos CDK/CNL la que determina el inicio y duración de cada fase.^{23,}

^{24, 26}

Para marcar el final de cada fase, esta obedece a la eliminación de las ciclinas, que ocurre una vez que pequeños péptidos denominados ubiquitinas son adicionados a las ciclinas, marcándolas para su posterior destrucción. Este proceso llamado ubiquitinación está controlado por unas enzimas llamadas ligasas de ubiquitina del tipo E3 como SFC (Spk1, cullin, F-box) y APC/C (*Anaphase Promoting Complex/Cyclosome*). Además de las CDK hay tres cinasas más relevantes durante la mitosis que son: Aurora A y B y la PLK1 (Polo like kinase).^{23, 24}

La fase G1 o “gap” crea un espacio entre las fases S y M, en el cual la célula es capaz de integrar información del entorno para determinar su siguiente paso en el ciclo. Durante esta fase además las células son capaces de responder a estímulos locales o sistémicos. En ocasiones la célula puede tomar un fenotipo de manera definitiva con lo cual entraría a un estado diferenciado; también puede responder a estímulos de muerte y finalmente llegar a la apoptosis. De igual manera durante esta fase la célula puede responder a estímulos proliferativos y antiproliferativos; para los proliferativos es necesaria la actividad de dos cinasas (CDK4 y 6) y de dos grupos de ciclinas: D1, D2

y D3, que actúan durante la mayor parte de G1, y la ciclina E, que se activa en la transición a S.^{23, 24,}

26

La fase S se distingue porque en ella se realiza la replicación del DNA, lo cual en las células humanas requiere un tiempo aproximado de 3 a 6 horas, esto depende también del tipo celular y etapa del desarrollo; esta fase está principalmente controlada por la CDK2 con unión a la ciclina A. La replicación se inicia al mismo tiempo en distintos lugares de cada cromosoma, estos sitios se denominan orígenes de replicación y cada cromosoma cuenta con aproximadamente 25 sitios de este tipo. La actividad de cinasa del complejo CDK2/ciclina A previene que la replicación ocurra más de una vez dentro de un mismo ciclo ya que fosforila a CDK6 y esto promueve su destrucción, sin CDK6 no se puede iniciar la replicación. De manera similar la fosforilación de las proteínas en los orígenes de replicación previene que sean reclutadas para una nueva replicación, estas marcas son retiradas por la CDC25 al final de la fase M para permitir la replicación en el próximo ciclo. La replicación del DNA se basa en la complementariedad de bases, este proceso tiene varios mecanismos de regulación, solo presenta un error por cada mil millones de nucleótidos que se incorporan ($1/10^9$).^{23, 24}

La fase G2 o "gap 2" representa un segundo espacio en el cual la célula crece y se verifica la correcta replicación del DNA y se detectan alteración como bases mal apareadas o rupturas de DNA de cadena única o de doble cadena. Se inicia la formación de proteínas necesarias para la fase M.^{23,}

24

Existen varios puntos de control en el ciclo celular para asegurar que los cromosomas dañados o incompletos no se hereden a las células hijas. Uno de los más estudiados es el punto control localizado en G2 y que previene el inicio de la mitosis hasta que se complete la replicación del DNA. Este punto de control censa al DNA no replicado y genera una señal que finalmente causa una detención en el ciclo celular.^{23, 24, 26}

El daño al DNA no solo detiene el ciclo en G2, sino que también se detiene en fase S debido al punto de control en G1. Este arresto en G1 puede llegar a reparar daño antes de que la célula entre la fase S, donde el DNA dañado se replicaría. En los mamíferos el punto de control en G1 está controlado por la proteína p53, que es rápidamente inducida por el daño al DNA. Es interesante que en

muchos tipos de cáncer esta proteína se encuentre mutada. La pérdida de la función de p53 tiene como consecuencia que las alteraciones en G1 no se reparen y el DNA dañado se replique y pase a las células hijas. La herencia de DNA dañado contribuye a la inestabilidad genómica y posteriormente al desarrollo de cáncer.^{23, 24}

Otro punto de control importante en el ciclo celular es el que se da en la mitosis, más específicamente durante la metafase. Este punto de control monitorea la formación correcta del huso mitótico, el alineamiento de los cromosomas y su unión al huso. En caso de detectarse alguna alteración, los cromosomas no se separaran hasta que tengan una unión bipolar y de esta manera asegurar la correcta segregación de las cromátidas hermanas a cada célula hija (Figura 8).^{23, 24, 26}

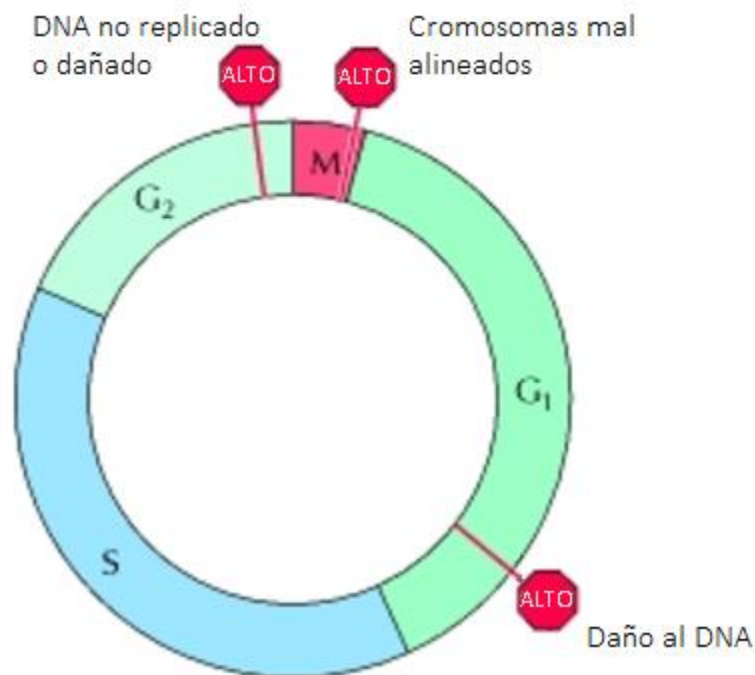


Figura 8. Puntos de control del ciclo celular. Distintos puntos de control funcionan para asegurar la correcta y completa transmisión de material genético a ambas células hijas. Imagen modificada de Cooper GM, 2000.²⁶

1.4.1.- Mitosis.

La fase M es el periodo más dramático del ciclo celular, involucra una reorganización mayor de prácticamente todos los componentes celulares. Durante la mitosis los cromosomas se condensan,

la membrana nuclear se degrada, el citoesqueleto se reorganiza para formar las fibras del huso mitótico y las cromátidas hermanas se mueven hacia polos opuestos. La segregación cromosómica usualmente es seguida por la división celular (citocinesis). La fase M se ha dividido en cinco etapas: profase, metafase, anafase, telofase y citocinesis (Figura 9).^{7, 23, 2}

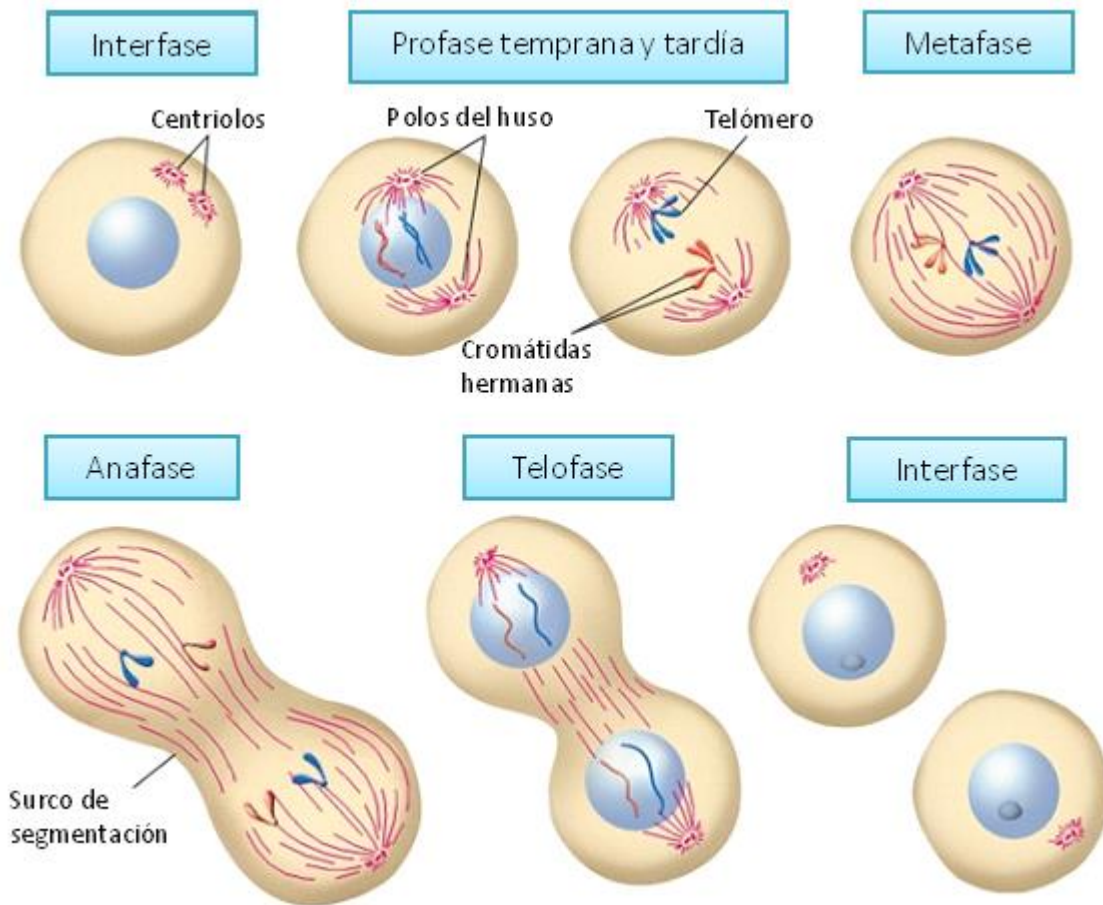


Figura 9. Mitosis. Se muestran solo dos pares de cromosomas. Imagen modificada de Lodish H *et al*, 2000.¹⁹

La profase inicia cuando la envoltura nuclear es degradada para lo cual es necesaria la interacción del complejo CDK1/ciclina B, que al fosforilar las láminas nucleares desestabiliza sus interacciones y favorece su degradación. Los centrómeros de cada cromosoma se asocian a las proteínas que conforman los cinetocoros y con los complejos pasajeros de los cromosomas o CPC (del inglés *Chromosome Passenger Complexes*), que incluyen a las cinasas Aurora B y PLK1. Al mismo tiempo comienzan a migrar los centriolos a los polos opuestos de la célula para comenzar a formar el huso acromático, este consiste de 3 tipos de microtúbulos: a) microtúbulos astrales que fijan a los centriolos a los polos celulares; b) microtúbulos interpolares que se unen formando puentes estables entre los dos centriolos y c) microtúbulos de los cinetocoros que se unen a los centrómeros vía el centriolo de las cromátidas hermanas.^{23, 24, 25}

Durante la metafase los cromosomas están altamente condensados y se ubican en el plano del ecuador de la célula o placa metafásica. La fuerza de los microtúbulos que nacen de cada centriolo se equilibra en el punto medio, lo que permite la alineación de los cromosomas en el centro. Durante esta etapa también existe un punto de control en el cual se detecta si alguno de los cinetocoros no está unido al huso mitótico.^{9, 23, 24}

La anafase se caracteriza por la migración de las cromátidas hermanas hacia polos opuestos acercándose a cada centriolo. Estos eventos están regulados por el complejo CDK1/ciclina B; durante las fases previas la actividad de este complejo va aumentando, alcanzando su nivel más alto en esta etapa. Ya que se alinearon todos los centrómeros en el plano medio de la célula se activa el complejo promotor de la anafase (APC/C). El complejo CDK1/ciclina B favorece la afinidad de APC por su subunidad activadora, la proteína CDC20, el resultado es la formación del complejo APC/CDC 20 que tiene actividad de ligasa de ubiquitina; que tiene como blanco a la ciclina B lo que causa una disminución abrupta de la actividad del complejo CDK1/ciclina B causando la inestabilidad de ciertas estructuras: a) activando a la separasa que rompe las cohesinas que mantenían unidas las cromátidas hermanas; b) proteínas centroméricas y c) terminales de los microtúbulos de los cinetocoros. El acortamiento de los microtúbulos del huso atrae a cada cromátida hermana hacia los centrosomas.^{23, 24}

El comienzo de la telofase se da cuando las cromátidas llegan a cada uno de los polos opuestos de la célula. Durante esta fase los microtúbulos interpolares y astrales se despolarizan y la envoltura nuclear comienza a formarse de nuevo, formando los núcleos de dos células hijas.^{23, 24}

La citocinesis se inicia con la constricción de la membrana celular en el plano del ecuador de la célula. La cinasa Aurora B permanece unida a complejos proteicos de la placa metafásica y participa en el control de la citocinesis. Durante la metafase se depositan filamentos de actina unidos a miosina en la membrana celular a nivel de la placa metafásica, durante la citocinesis se pierde la inhibición de la constricción por la eliminación del complejo CDK1/ciclinaB, esto favorece la constricción de las fibras de actina y miosina, lo que culmina con la separación completa de la membrana celular y la formación de dos células hijas (Figura 9).^{23, 24, 25}

1.4.2.- Meiosis.

Es el mecanismo mediante el cual se producen los gametos en las gónadas de los organismos que tienen reproducción sexual. Consiste en un ciclo de replicación de DNA seguido de dos divisiones nucleares. Las dos divisiones meióticas I y II se dividen en el mismo número de fases que la mitosis. La profase I a su vez se divide en 5 fases (leptoteno, zigoteno, paquiteno, diploteno y diacinesis) que se diferencian por la variación en el grado de organización de los cromosomas en cada fase.^{27, 2}

La Meiosis I tiene tres rasgos cruciales que la distinguen de la mitosis: el apareamiento de cromosomas homólogos, la recombinación recíproca y además un proceso de dos pasos para la liberación de la cohesión de las cromátidas hermanas lo que permite la segregación de cromosomas homólogos en la primera división, seguida de la separación de las cromátidas hermanas en la meiosis II.^{27, 28, 29}

La meiosis solo se produce en las células de la línea germinal. Ocasiona la formación de células reproductoras (gametos), cada una con solo 23 cromosomas: uno de cada clase de autosomas y un Y o un X.^{4, 26}

Durante el leptoteno la condensación de cromatina comienza y los cromosomas se hacen visibles como estructuras largas y delgadas, como parte de este proceso de condensación los cromosomas forman un núcleo de proteínas compuesto por cohesinas y dos proteínas del complejo

sinaptonémico, SYCP2 y SYCP3; los telómeros se unen a la membrana nuclear y comienzan a localizarse en un área limitada de la membrana.

La transición de leptoteno a cigoteno está marcada por el inicio del apareamiento de cromosomas. El elemento central del complejo sinaptonémico está compuesto por la proteína SYCP1. La sinapsis comúnmente inicia en la parte final de los cromosomas. Las proteínas de recombinación de DNA como RAD51 y DMC1, marcan los ejes no apareados hasta que la sinapsis se completa. El cigoteno termina y el paquiteno comienza en el momento en el cual se alcanza el mayor grado de sinapsis. ya está el complejo sinaptonémico maduro o tripartita completo a lo largo de los cromosomas

Durante el paquiteno se da el entrecruzamiento de los cromosomas homólogos; la posición de los intercambios está marcada por la proteína de reparación de bases mal apareadas MLH1. La transición a diploteno está marcada por la separación del apareamiento de los cromosomas homólogos, un proceso llamado terminación de la sinapsis; los oocitos humanos sufren un arresto durante esta etapa y se mantienen así hasta que son fecundados. Durante la diacinesis, la conformación de la sinapsis o de los quiasmas se completa y los cromosomas homólogos se mantienen unidos por las regiones donde se dio la recombinación recíproca, visibles ahora como quiasmas, los cromosomas continúan condensándose.^{27, 28}

Durante la metafase I pares de los cromosomas homólogos, cada uno con dos cromátides, se alinean en el plano ecuatorial y hay disyunción de homólogos hacia polos opuestos durante anafase I. La telofase I es generalmente muy corta y puntualiza la culminación de la división celular. En la meiosis II hay 23 cromosomas, cada uno compuesto de dos cromátides que pasan por disyunción en anafase II para formar gametos haploides (Figura 10).^{26, 29}

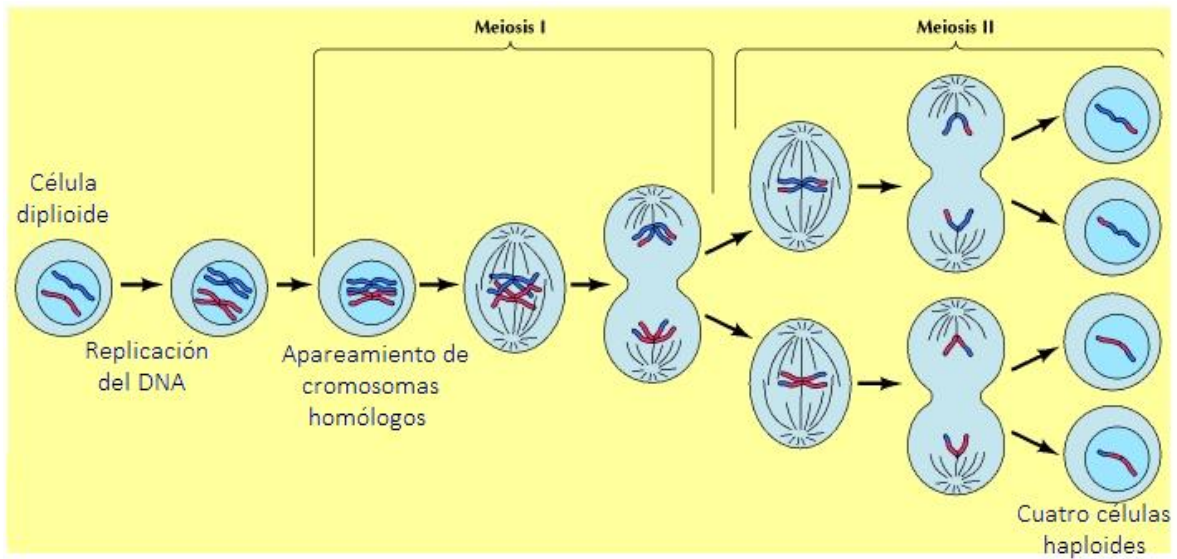


Figura 10. Representación esquemática de dos pares de cromosomas en meiosis I y II con sus diferentes fases. Al final, en Telofase II, se pueden apreciar 4 células hijas con número haploide de cromosomas. Imagen modificada de Cooper GM, 2013.²⁶

1.5.- Clasificación de los cromosomas humanos.

Según la localización del centrómero, los cromosomas se clasifican en:

Metacéntricos: cuando el centrómero se localiza en la parte central, a la mitad del cromosoma.

Submetacéntrico: cuando el centrómero está localizado más cerca de uno de los extremos, determinando un brazo corto (p) y uno largo (q).

Acrocéntrico: cuando el centrómero está muy desplazado al final de un extremo del cromosoma, en la parte distal se encuentran estructuras denominadas satélites (Figura 11).⁴

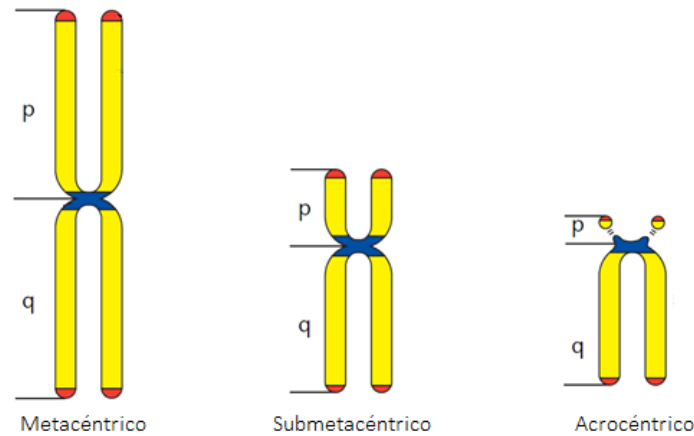


Figura 11. Tipos de cromosomas de acuerdo a la localización centromérica. Imagen modificada de Speicher RM *et al*, 2006.⁴

Con excepción de las células que producen los gametos (línea germinal), todas las células que contribuyen a la formación de las estructuras corporales se denominan somáticas. El genoma contenido en el núcleo de las células somáticas humanas está constituido por 46 cromosomas, dispuestos en 23 pares (2n). De estos 23 pares, 22 son semejantes en hombres y mujeres y se denominan autosomas; su numeración va desde el más grande al más pequeño. El par restante está constituido por los cromosomas sexuales: dos cromosomas X en las mujeres y la combinación de un cromosoma X y uno Y en los hombres.^{5, 10}

Los cromosomas humanos se han ordenado de acuerdo a su tamaño en siete grupos que se designan por letras de la A a la G.²²

- Grupo A: Incluye los pares 1, 2 y 3, que son los cromosomas más grandes. Los cromosomas 1 y 3 son metacéntricos mientras que el 2 es submetacéntrico.
- Grupo B: Pares 4 y 5 son submetacéntricos.
- Grupo C: Pares del 6 al 12 son submetacéntricos y debido a su tamaño se incluye en este grupo al cromosoma X.
- Grupo D: Pares 13, 14 y 15 son acrocéntricos.
- Grupo E: Pares 16, 17 y 18 son submetacéntricos, (el cromosoma 16 tiene su centrómero más cercano al centro).
- Grupo F: Pares 19 y 20 son metacéntricos.

- Grupo G: Pares 21 y 22 son los más pequeños y son acrocéntricos. Se incluye por tamaño en este grupo al cromosoma Y, que no tiene satélites y es submetacéntrico.²²

1.6.- Técnicas de citogenética

1.6.1. Cariotipo

La preparación y bandeo de cromosomas se puede considerar tanto un arte como ciencia. Los cromosomas son visibles individualmente durante la mitosis y por eso las técnicas se han desarrollado para estimular a un gran número de celular a comenzar la división mediante mitógenos como la fitohemaglutinina. Actualmente existen numerosos métodos para identificar los cromosomas y preparar un cariotipo con propósitos clínicos y de investigación, la habilidad para su análisis depende del tamaño de los cromosomas así como que tan bien fijados, separados y teñidos se encuentren.^{8,30}

Bandas Q:

Fue a finales de 1960 cuando Caspersoon postuló que las diferencias en la composición de las bases del DNA podrían producir una intensidad de fluorescencia diferencial en patrones a lo largo de los cromosomas. El patrón de bandas Q, en el cual se utiliza mostaza de quinacrina, se realizó por primera vez en cromosomas humanos en 1971. Las regiones ricas en adenina y timina, que son relativamente abundantes tienden a producir una fluorescencia más intensa, mientras que las regiones que contienen guanina y citosina muestran una fluorescencia tenue. El bandeo con quinacrina es relativamente sencillo de realizar, sin embargo, para su visualización es necesario un microscopio de fluorescencia y además el patrón de fluorescencia tiene una vida corta.⁸

Bandas G:

Posteriormente al descubrimiento de las bandas Q, se desarrolló un segundo método, el bandeo con Giemsa, en el cual se utilizaba este colorante común posterior al uso de diversos tratamientos químicos y enzimáticos sobre los cromosomas. Este método ofrece la ventaja de producir un patrón de bandeo permanente que además se puede estudiar bajo un microscopio estándar. El patrón de bandas G es muy similar al de bandas Q. Para producirlo un método frecuentemente empleado, da

un pre-tratamiento a los cromosomas con tripsina seguido de la tinción con Giemsa. Las bandas oscuras en las bandas G corresponden a regiones de replicación tardía en el genoma. Estas bandas contienen pocos genes activos. Las bandas claras corresponden típicamente a las regiones de replicación temprana y por lo tanto ricas en genes (Figura 12 y Anexo I).^{8,30}

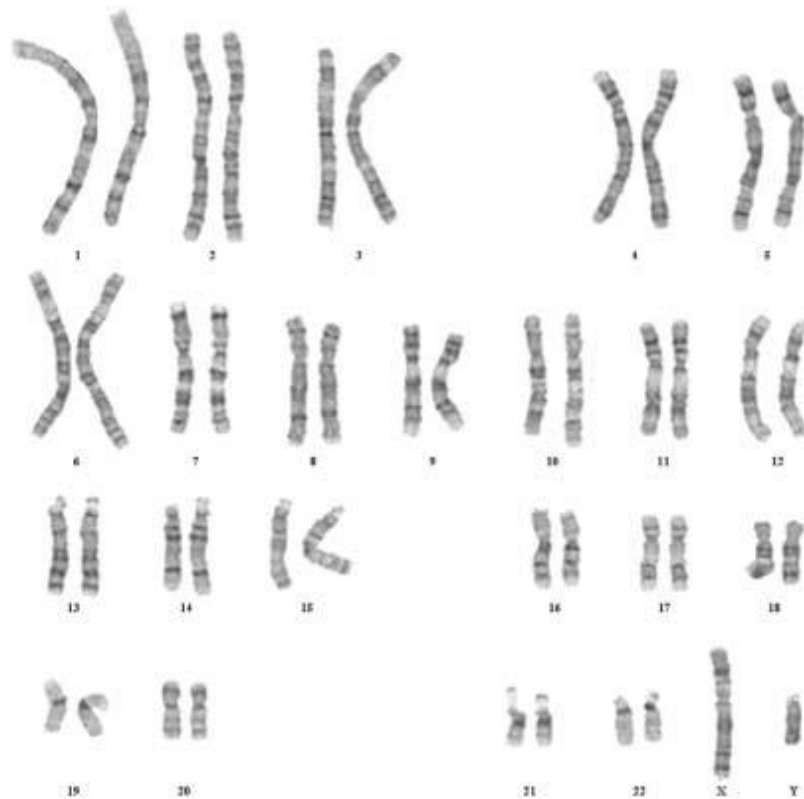


Figura 12. Cariotipo de un individuo masculino normal, realizado con técnica de bandas GTG. Imagen modificada de Shaffer L *et al*, 2005.³⁰

El centrómero es esencial para la correcta segregación de los cromosomas durante la división celular, los cromosomas normalmente solo tienen un centrómero. Un cromosoma dicéntrico tiene dos centrómeros y un cromosoma acéntrico carece de centrómero. Como resultado de los procesos de tinción necesarios para producir el patrón de bandas descrito de bandas G, esencial para la identificación de cada cromosoma, se obtienen bandas y sub-bandas con una localización asignada que identifica el brazo del cromosoma, la región y el número específico como se publicó en 1995 por el Sistema Internacional de Nomenclatura para la Citogenética Humana. El patrón de bandas es necesario para identificar los rearrreglos estructurales específicos ya sea dentro de un mismo cromosoma o involucrando a más de uno.^{41,43}

Bandas R:

Este patrón se aproxima al opuesto producido por las bandas G y Q. El patrón fluorescente de las bandas R se produce al marcar las regiones ricas en GC con sustancias que son afines a ellas como la cromomicina A3, olivomicina y mitramicina. Se puede resaltar su patrón agregando otro colorante como distamicina A, verde de metilo, actinomicina D o netropsina. También pueden ser producidas sometiendo las laminillas a altas temperaturas seguidas de la tinción con Giemsa o naranja de acridina. Las bandas R ofrecen la ventaja de teñir cromatina rica en genes, lo que permitiría visualizar pequeños rearrreglos en las partes del genoma que causan más comúnmente alteraciones fenotípicas y que aparecen como regiones claras en las bandas G.⁸

Bandas C

El patrón de bandas C se produce tras el tratamiento de la cromatina con ácido y luego con soluciones básicas seguida de tinción con Giemsa. Los brazos cortos y satélites de los cromosomas acrocéntricos, heterocromatina pericéntrica, regiones heterocromáticas de los cromosomas 1, 9, 16 y la mayoría del brazo largo del cromosoma Y, son bandas C positivas, regiones que no contienen genes activos y muestran variaciones de tamaño en individuos normales. Por ello su principal utilidad está en el estudio de cromosomas marcadores y polimorfismos de las regiones heterocromáticas en la población.⁸

Bandas NOR

En 1975 Goodpasture y Bloom presentaron la metodología para teñir de manera selectiva las regiones organizadoras nucleolares (NOR) para lo cual se utiliza nitrato de plata. En las regiones NOR se encuentran los genes para RNA ribosomal (rRNA) 18S y 20S y el nitrato de plata tiñe selectivamente estas regiones que fueron transcritas de forma activa durante la interfase y presentes en cromosomas condensados en la metafase subsecuente. En los humanos, estas regiones están localizadas en los tallos de los brazos cortos de los cromosomas acrocéntricos por lo que este tipo de bandas son útiles para determinar con precisión puntos de ruptura en rearrreglos que implican cromosomas acrocéntricos. Asimismo es útil para identificar polimorfismos y para determinar el origen de cromosomas marcadores satelitados.²²

1.6.2. Análisis por hibridación *in situ* con fluorescencia (FISH).

Las técnicas de hibridación *in situ* permiten detectar secuencias específicas de ácidos nucleicos en cromosomas, núcleos de células o secciones de tejido. Esto se logra marcando sondas con moléculas reporteras fluorescentes y después detectando los complejos que forman con el DNA o RNA complementario. Los fluorocromos con colores diferentes en el espectro visible e infrarrojo permiten la detección simultánea de múltiples sondas. Dos filtros son necesarios para que cada fluoróforo sea visualizado: un filtro de excitación que dirige los rayos UV hacia el espécimen en un rango de longitud de onda que ocasiona fluorescencia y un filtro barrera que dirige hacia afuera la luz ajena emitida por el espécimen para permitir que sólo el color de interés sea visualizado. La técnica originalmente usaba sondas marcadas con radioisótopos; donde la autoradiografía era la única manera de detectar las secuencias que habían hibridado. Debido a los problemas asociados a la radioactividad se desarrollaron métodos con sondas no marcadas con isótopos y que utilizan fluorocromos lo que permitió su detección por un tiempo mayor y mejores medidas de seguridad.^{11,}

^{31, 32}

Las sondas y los cromosomas que se van a someter al estudio son ambos desnaturalizados, para lo cual se utiliza calor, lo que causa que tanto la sonda como el DNA blanco se separen y queden como cadenas únicas. Las secuencias complementarias entre la sonda y el DNA blanco son posteriormente realineadas lo que permite su hibridación. Después se someten a lavados astringentes lo que remueve las sondas que no se unieron de manera específica y la señal fluorescente se detecta posteriormente con la ayuda de un microscopio de fluorescencia (Anexo II).^{33, 34}

El análisis con técnicas de citogenética molecular como el FISH puede detectar microdeleciones y duplicaciones que no son visibles ni siquiera con técnicas de bandeo de alta resolución. Otra ventaja importante del FISH y otras técnicas moleculares es que el número cromosómico y secuencias específicas de DNA pueden ser identificadas en células que no se encuentran en división.^{33, 34}

Existen distintos tipos de sondas y la elección de la misma es crucial para el investigador y depende de la aplicación que se le dará al estudio de FISH. Las sondas para RNA tienen su mayor aplicación para detectar mRNA lo que se traduciría en detectar la expresión de genes estudiados en células o

tejidos. Las sondas para oligonucleótidos se pueden utilizar cuando se conoce la secuencia blanco y es lo suficientemente grande para visualizarla en un microscopio de fluorescencia (>1 Kb)^{33, 34}. Dentro de los diferentes tipos de sondas para FISH se encuentran las siguientes:

Sondas para secuencia repetitiva única. Se utilizan principalmente para evaluar centrómeros que están compuestos por secuencias de DNA α satélite, también pueden ser familias de DNA satélite III compuestas de monómeros de 5 pb. Las sondas de FISH para estas regiones dan una señal intensa que puede ser visualizada tanto en interfase como en metafase. Estas sondas tienen su mayor utilidad en poder enumerar cromosomas individuales. Entre los cromosomas 13 y 21 o 14 y 22 se comparten secuencias lo que complica su especificidad. Otra ventaja de este tipo de sondas, es que es posible utilizarlas en células en interfase con lo se puede eliminar el tiempo del cultivo necesario para obtener las preparaciones con cromosomas metafásicos (Figura 13).^{8, 34}

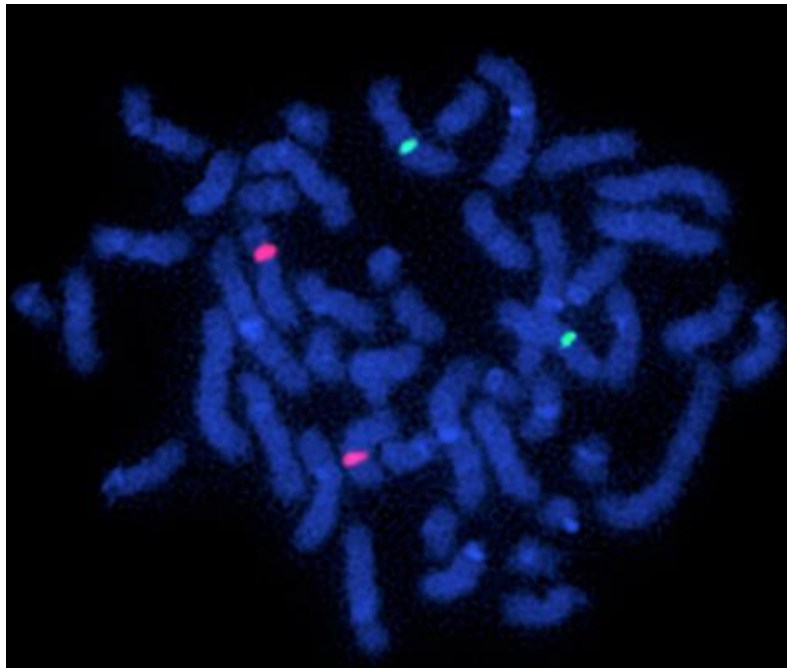


Figura 13. Metafase humana donde se ejemplifica un estudio de FISH con la hibridación de las regiones centroméricas de los cromosomas 7 (verde) y 8 (rojo), utilizando sondas α satélite específicas. Imagen modificada de Moore MC *et al*, 2001.⁸

Sondas para secuencia única. Este tipo de sondas se utiliza principalmente para detectar secuencias específicas de DNA en el genoma y es especialmente útil para detectar deleciones o duplicaciones que son muy pequeñas para ser detectadas por estudios de citogenética convencional (menores a 3

Mb). En función de su diana tienen un tamaño de 1 – 10 Kb o son vectores más largos de 80 Kb a 1 Mb.^{8, 34}

Sondas para cromosomas completos. Este tipo de sondas son bibliotecas de DNA que abarcan un cromosoma completo o un brazo del cromosoma en cuestión. Cuando se marcan con un fluorocromo, la sonda solo produce una señal para el cromosoma de interés. Estas sondas son útiles para identificar el origen de cromosomas estructuralmente anormales y marcadores; estas sondas tienen una resolución de 300 a 1000 pares de bases.^{8, 34}

1.6.3. Cariotipo molecular o hibridación genómica comparativa.

Es una metodología usada para detectar diferencias en el número de copias en una muestra de DNA en relación a una muestra de referencia. La primera descripción de la técnica fue la de un método citogenético usado en la biología del cáncer donde se realiza una hibridación sobre una metafase normal para detectar ganancias y pérdidas en DNA tumoral. En esta metafase, el DNA tumoral totalmente biotinizado y un DNA de referencia marcado con digoxigenina eran hibridados sobre una metafase normal y se observaban en el microscopio. El DNA tumoral y el de referencia eran visualizados con el fluorocromo verde FITC (isotiocinato de fluoresceína) y rojo – rodamina fluorescente, respectivamente y posteriormente los resultados eran procesados mediante un software de análisis de imagen³⁵

Las ganancias y pérdidas en el DNA tumoral se hacían visibles en el microscopio de fluorescencia como cambios en la intensidad relativa de la fluorescencia: las pérdidas genómicas en el tumor producían un decremento en la relación verde-rojo, y una amplificación o duplicación cromosómica producía un aumento en la relación verde-rojo, mediante el software de análisis de imagen (Figura 14).^{35, 36}

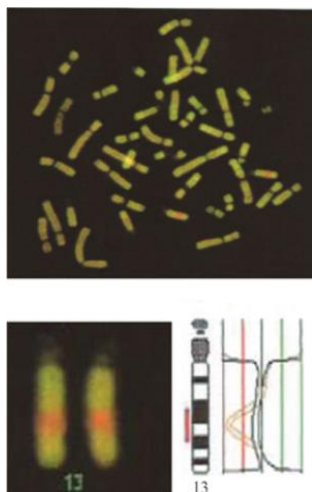


Figura 14. Imagen de hibridación genómica comparativa. Análisis convencional de CGH: una mezcla de DNA del paciente y de referencia diferencialmente marcado con distintos fluorocromos hibridados sobre una metafase normal (imagen superior). La imagen inferior izquierda muestra el patrón de hibridación sobre el cromosoma 13. El segmento intersticial en 13q aparece en rojo, lo que indica una pérdida en esa región. Imagen modificada de Riegel M, 2014.³⁶

1.6.4. Cariotipo molecular o hibridación genómica comparativa sobre microarreglos (aCGH)

Tomando como referencia al estudio de hibridación tipo Southern, considerando que es un método de biología molecular que permite detectar la presencia de una secuencia de DNA en una mezcla compleja de este ácido nucleico. Para ello, emplea la técnica de electroforesis en gel de agarosa con el fin de separar los fragmentos de DNA de acuerdo a su longitud y, después, su transferencia a una membrana en la cual se efectúa la hibridación con la sonda. El estudio de aCGH puede verse como un tipo de hibridación tipo Southern para realizar análisis más amplio, donde las sondas para las secuencias de DNA blanco se usan para detectar cambios en el número de copias (CNC). Sin embargo, en comparación con el análisis por Southern, donde las muestras de DNA se unen a una membrana de nylon y se hibridan con una sonda a la vez, en el estudio de aCGH múltiples sondas están inmóviles sobre una laminilla de vidrio. Cantidades iguales de las muestras de DNA diferencialmente marcadas (problema y control) se hibridan juntas sobre las sondas del microarreglo. Usualmente se usan Cyanine 3 (Cy3) y Cyanine 5 (Cy5) para marcar con fluorescencia el DNA del paciente y el control, respectivamente. La relación de la hibridación es proporcional a la relación entre el número de copias de las secuencias de DNA entre las dos muestras. Después de la hibridación, las placas son lavadas y el microarreglo es escaneado para capturar las señales

generadas por la hibridación de cada sonda. Si las intensidades de los marcadores fluorescentes son iguales para una sonda de DNA específica, esto se interpreta como un número normal de copias en esa región. Usualmente los resultados deben ser corroborados con un segundo método como FISH, MLPA o qPCR (Figura 15).^{37, 38}

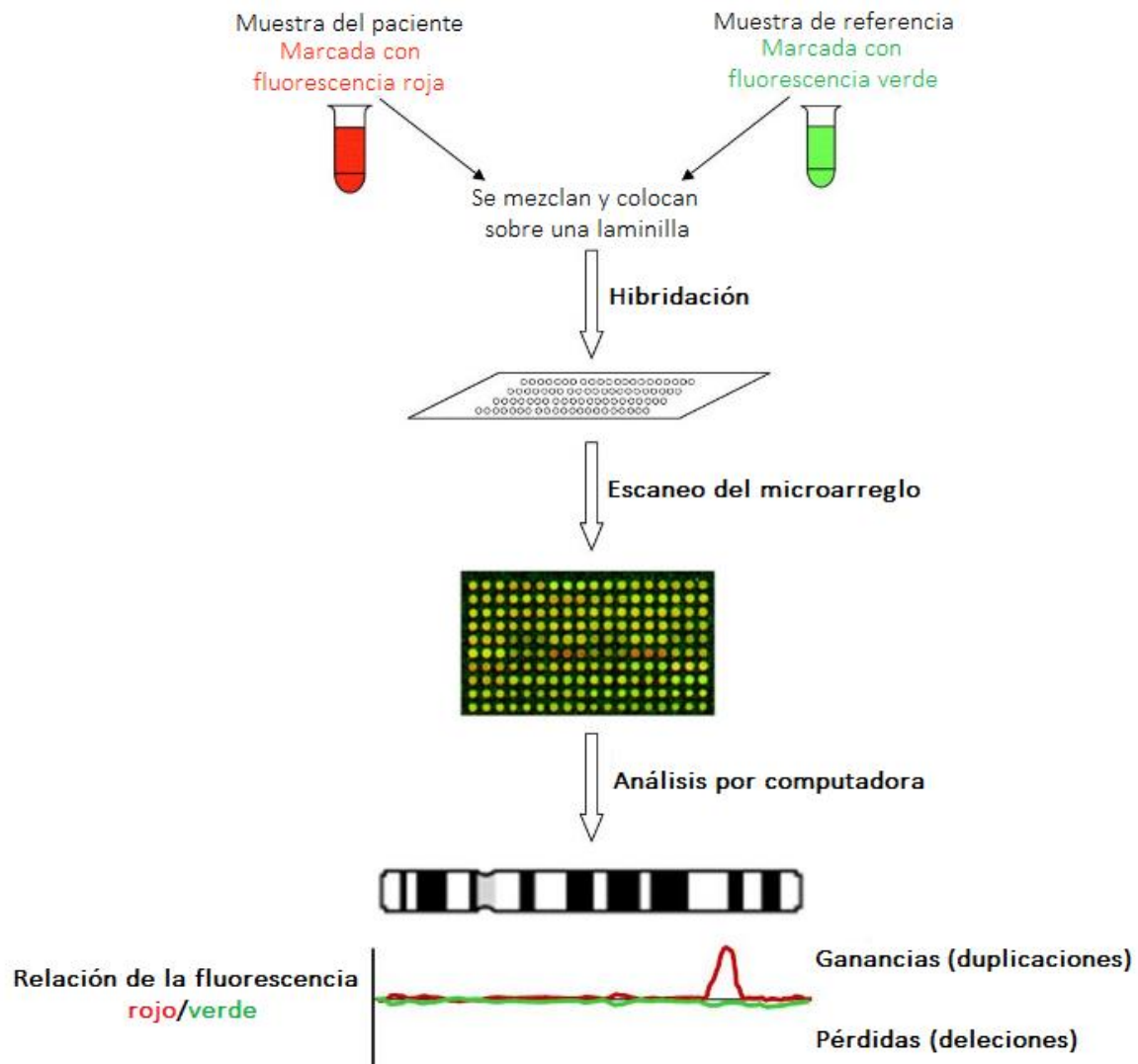


Figura 15. Ejemplo de estudio de aCGH: La muestra del paciente se marca con fluorescencia roja y la muestra de referencia con fluorescencia verde. El escáner del microarreglo junto con la computadora y el software de análisis calculan la relación entre las fluorescencias roja y verde. Si ambas pruebas se muestran en equilibrio se observara una tonalidad amarilla, en caso de que el paciente tenga más material para cierta región (duplicación) se mostrará como un aumento en la tonalidad roja y si al contrario tiene una mejor cantidad (delección) aumentará la tonalidad verde. En el ejemplo anterior, el paciente presenta una duplicación. Imagen modificada de Rare Chromosome Disorder Support Group, 2015.³⁹

La aplicación de cada arreglo está dictada por su diseño. El tamaño de las sondas y su cobertura del genoma representan la resolución del aCGH. Las sondas pueden representar una o más regiones específicas o pueden corresponder a secuencias muy separadas a lo largo de todo el cromosoma. Las sondas generadas de secuencias clonadas humanas son dependientes de los vectores que las portan. Las clonas basadas en cromosomas artificiales bacterianos (BAC) han sido utilizados extensamente en FISH y fueron fácilmente adaptados a los aCGH. Las sondas generadas con BAC tienen un tamaño de entre 75 a 200 kb. Insertos de menor tamaño en cósmidos y fósidos como vectores con un tamaño de entre 25 y 50 kb también fueron desarrollados. Uno de los mayores problemas con los primeros arreglos fue la falta de una manera de analizar el genoma completo. Los estudios con arreglos de BACs, aunque robustos, también tenían algunas desventajas. El factor más limitante era que para el uso de BACs en aCGH se deben usar sondas clonadas de bibliotecas de DNA existentes y usualmente no se tenía la sonda de interés. La habilidad para detectar CNC de un menor tamaño también se limita debido a la longitud y al espacio de las sondas de BAC. Estos problemas se superaron con el uso de sondas de oligonucleótidos. En búsqueda de una mejor resolución era necesario tener más sondas, por ello los arreglos se comenzaron a manufacturar con oligonucleótidos con un tamaño de entre 25 y 80 pares de bases.^{37, 38}

Los microarreglos de oligonucleótidos permiten al aCGH tener un mayor número de sondas y mejor resolución. Existen diferentes prioridades en la metodología para construir estos microarreglos. Un método involucra el sintetizar los oligonucleótidos con una longitud entre 25-85 pares de bases, seguido de colocarlos sobre la superficie de un chip vía robótica. NimbleGen y Affymetrix usan fotolitografía para directamente sintetizar oligonucleótidos sobre el chip usando las propiedades de la tecnología de máscara de luz. La habilidad de sintetizar los oligonucleótidos *in situ* en los arreglos permite una mayor densidad de sondas y un análisis del genoma completo en un solo experimento.^{37, 38}

Los estudios de aCGH tienen múltiples aplicaciones, por ejemplo en el estudio de células cancerígenas. Existen CNC patogénicos que contribuyen tanto para el inicio como en el progreso de la tumorigénesis. La amplificación y pérdida de ciertos *loci* que contienen genes relacionados a cáncer, son fundamentales en el mecanismo para la transformación celular y para alterar la proliferación normal y promover el crecimiento celular y metástasis. Las translocaciones que causan fusión de genes no son detectables vía aCHG.^{37, 38}

Para el diagnóstico prenatal los estudios de aCGH son una buena alternativa al estudio tradicional de citogenética prenatal, obteniendo resultados favorables y acertados. De igual manera han sido exitosos en la identificación de desbalances en los productos de concepción.^{37,38}

Los estudios de aCGH han sido muy utilizados para la detección génica. En pacientes que comparten un mismo síndrome se evalúan las variantes que presentan con el fin de detectar las regiones que comparten y posteriormente hacer la relación de dichas regiones como probables causantes del síndrome. Como ejemplo están los estudios en los pacientes con CHARGE en los cuales se pudo identificar a *CHD7* como gen causante.^{37,38}

1.6.5. Microarreglos de SNP

Se desarrolló otra técnica basada en los estudios en microarreglos y genotipificación para estudiar la variación genómica. Como en los estudios de aCGH, los ensayos de genotipificación también dependen del principio básico de hibridación de un DNA prueba y uno blanco. Sin embargo, en los estudios de genotipificación, no se realiza una comparación con un DNA control de referencia. De hecho, un genotipo específico se marca y la interferencia es interpretada basándose en la intensidad de la señal producida por la hibridación. En contraste a los aCHG que detectan alteraciones en el número de copias, los estudios de genotipificación detectan cambios de un solo nucleótido. Una nueva generación de estudios de hibridación combina la tecnología de aCGH con los estudios de SNP del inglés *single nucleotide polymorphism*. La principal ventaja que ofrecen es la de detectar la disomía uniparental a través de la detección de la ausencia o presencia de heterocigosidad en los SNP a lo largo del cromosoma.³⁵

1.7.- Indicaciones para la realización de cariotipo

A partir de 1956 cuando el número cromosómico humano correcto fue establecido, el área de la citogenética comenzó a crecer rápidamente. Durante los siguientes años varios síndromes con un número alterado de cromosomas fueron reportado como el síndrome de Down (Trisomía 21), síndrome de Turner (45,X) y el síndrome de Klinefelter (47,XXY). Desde entonces se ha establecido

que las anomalías cromosómicas contribuyen de manera significativa en enfermedades genéticas que resultan en pérdidas reproductivas, infertilidad, óbitos, anomalías congénitas, desarrollo sexual anómalo, discapacidad intelectual y en la patogénesis de procesos carcinogénicos. Anomalías cromosómicas específicas se han asociado con más de 60 síndromes identificables. Están presentes en al menos 50% de los abortos espontáneos, 6% de los óbitos, 5% de las parejas con dos o más abortos y en aproximadamente el 0.5% de los recién nacidos. En mujeres mayores de 35 años, las anomalías cromosómicas se detectan en el 2% de todos los embarazos.^{40,42}

El análisis cromosómico o cariotipo es la principal herramienta diagnóstica para detectar o identificar las alteraciones cromosómicas. A continuación se enlistan las indicaciones clínicas para realizar un análisis cromosómico mediante cariotipo convencional.⁴⁰

Está indicado en las siguientes situaciones:

- Período prenatal:
 - Edad mayor de 35 años
 - Ansiedad materna
 - Triple marcador alterado
 - Oligohidramnios - polihidramnios
 - Retraso de crecimiento intrauterino
 - Arteria umbilical única
 - Sospecha ecográfica de cromosomopatía
 - Antecedentes de cromosomopatía balanceada en uno de los padres
- Período neonatal:
 - 2 o más malformaciones mayores aisladas
 - Presencia de 3 o más malformaciones menores
 - Recién nacido con genitales ambiguos
 - Parto con producto finado de causa inexplicable
 - Muerte neonatal de causa inexplicable
- Período de lactancia
 - Niños con dificultades para el aprendizaje
 - Niños con rasgos dismórficos
 - Niños con retraso psicomotor

- Período Preescolar-Escolar
 - Trastornos del crecimiento
 - Retraso psicomotor
 - Rasgos dismórficos
- Período de adolescencia
 - Ginecomastia
 - Falta del desarrollo puberal
 - Amenorrea primaria o secundaria
 - Retraso mental
 - Rasgos dismórficos
- Período del adulto
 - Padres de niños con anomalías cromosómicas estructurales
 - Abortos de repetición (2 o más abortos)
 - Infertilidad
 - Diagnóstico prenatal
- En todas las edades
 - Procesos malignos (se realiza en el tejido afectado)
 - Control de trasplantes de médula ósea.^{44, 45}

1.7.1. Alteraciones cromosómicas

Las alteraciones cromosómicas se definen como aquellos cambios en los cromosomas que implican pérdida, ganancia o rearrreglos del material cromosómico, se clasifican en numéricas y estructurales.

1.7.1.1.- Alteraciones cromosómicas numéricas.

Las aberraciones numéricas pueden ser de dos tipos. Las euploidías o múltiplos exactos del número haploide incluyen a las poliploidías, como la triploidía o tetraploidía que corresponderían a tres y cuatro veces el número haploide. La aneuploidía se refiere a la presencia de una copia extra o ausente de un cromosoma en particular, como en la trisomía 21 o la monosomía X.^{40, 41}

Las anomalías cromosómicas que involucran aneuploidía pueden detectarse en los recién nacidos si bien las trisomías de autosomas y cromosomas sexuales resultan en alteraciones clínicas, con excepción de la monosomía del cromosoma X, las monosomías de cromosomas completos no son viables. Aún en el caso de la monosomía del X, tan solo el 5% de las concepciones 45,X sobreviven hasta el nacimiento. Las aneuploidias están frecuentemente asociadas a la edad materna avanzada y constituyen un porcentaje significativo de las anomalías cromosómicas observadas en abortos y detectadas prenatalmente en los fetos.^{40,41}

La poliploidía en los casos de triploidía (69 cromosomas) o tetraploidía (92 cromosomas) resulta en condiciones letales. Estas son más frecuentemente diagnosticadas en abortos espontáneos y de manera rara en recién nacidos que en términos generales sobreviven un periodo breve de tiempo. La triploidía está más relacionada con eventos anómalos relacionados con la fertilización, siendo el origen más común la fertilización de un óvulo por dos espermatozoides.^{40,41}

Células aneuploides y diploides pueden coexistir en un individuo en algunos casos, a esta condición se le conoce como mosaicismo e involucra dos o más líneas celulares derivadas de un mismo cigoto. El mosaicismo puede involucrar autosomas o cromosomas sexuales pero más frecuentemente son los cromosomas sexuales los involucrados. El mosaicismo general es la presencia de más de dos líneas celulares distribuidas en todo el organismo, esto supone que la aneuploidía se dio en las primeras divisiones celulares, sin embargo, esto no quiere decir que esta línea alterada se mantendrá durante todo el desarrollo ya que se ha demostrado que las células euploides tienen un mayor grado de replicación que las aneuploides. El mosaicismo ocurre en más o menos del 15 al 90% de todas las etapas de división en los embriones humanos. Se han realizado varios estudios para detectar el porcentaje de mosaicismo en las primeras etapas embrionarias y parece ser que es algo común en el desarrollo humano preimplantacional.⁴⁰

El mosaicismo confinado se refiere a un mosaicismo cromosómico que solo se encuentra en un tejido en particular. Como ejemplos se han reportado mosaicismos en el cerebro, placenta y gonadas, entre otros. Se reportó que hasta el 10% de las concepciones trisómicas contenían una línea en mosaico. Se cree que el mosaicismo confinado a placenta se presenta en el 1-2% de todos los análisis de placenta.⁴⁰

La significancia clínica del mosaicismo depende de la proporción y distribución en distintos tejidos de las células aneuploides, así como de los cromosomas involucrados lo que hace que cada caso tenga características particulares. En el quimerismo, en contraste con el mosaicismo, las líneas celulares diferentes provienen de más de un cigoto.^{40, 41}

1.7.1.2.-Alteraciones cromosómicas estructurales

Los rearrreglos estructurales pueden implicar rompimiento y posterior reunión de una parte de un cromosoma o alteraciones que involucran a diferentes cromosomas, resultando en cariotipos balanceados o desbalanceados. Los rearrreglos balanceados se caracterizan por que no hay cambio en cantidad de material cromosómico pero se puede afectar la integridad de la información de genes en la región afectada, en cuando a los desbalanceados, estos se presentan cuando existe una ganancia (como en el caso de una trisomía parcial) o pérdida (como en una monosomía parcial) de material cromosómico.^{41, 43}

La frecuencia de anomalías estructurales varía considerablemente en distintas poblaciones. La frecuencia más alta se aprecia en abortos espontáneos y la menor en los recién nacidos. Esta reducción se podría explicar, al menos en parte, por las pérdidas gestacionales que se dan previas al nacimiento, particularmente en los casos en los que los rearrreglos son significativos en cuánto a los cromosomas involucrados y el tamaño de la región o regiones cromosómicas alteradas en los rearrreglos.^{41, 43}

Los rearrreglos desbalanceados usualmente resultan en alteraciones clínicas importantes, debido a la pérdida, duplicación o ambas, de material genético. Entre las alteraciones cromosómicas se encuentran las siguientes:^{41, 43}

- 1) Las deleciones resultan en pérdida de material de un cromosoma (Figura 16). Las deleciones terminales resultan de un solo punto de ruptura con un brazo cromosómico con pérdida de material distal al punto de ruptura (Figura 16A). Las deleciones intersticiales involucran dos puntos de ruptura dentro del mismo brazo de un cromosoma con pérdida del material entre los puntos de ruptura (Figura 16B).

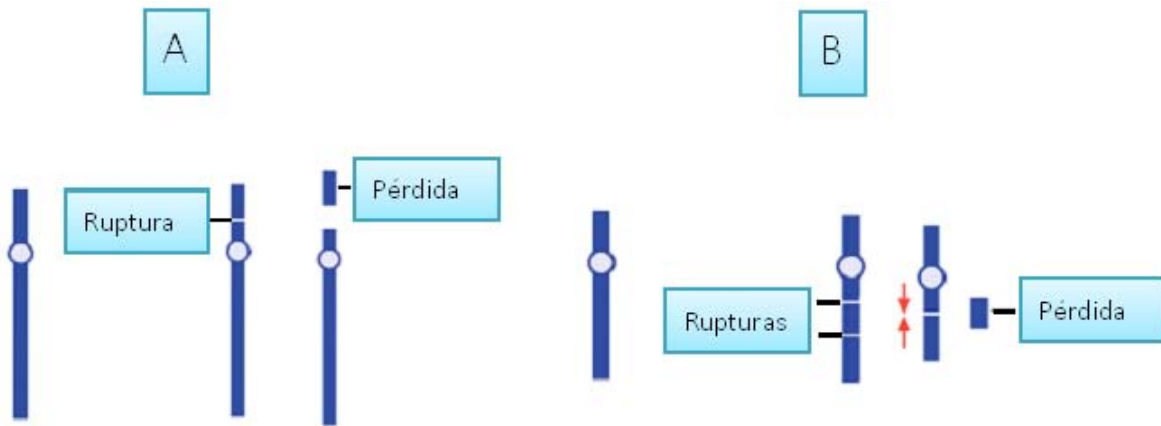


Figura 16. Diferentes patrones de deleción. 13A: Deleción terminal. 13B: Deleción intersticial. Imagen modificada de Moore MC *et al*, 2001.⁴³

- 2) Los cromosomas en anillo se forman cuando los puntos de ruptura se localizan en ambos brazos del cromosoma con pérdida del material genético distal al punto de ruptura y posteriormente se unen ambos brazos por los sitios donde se dio el rompimiento (Figura 17). Los cromosomas en anillo varían en tamaño y esto depende de que tanto material genético se pierde y usualmente son inestables durante la división celular.^{41, 43}

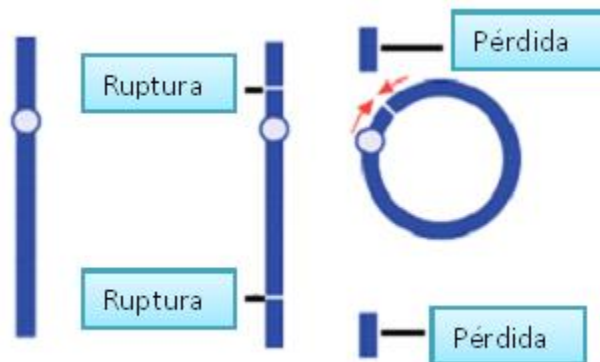


Figura 17. Formación de un anillo cromosómico. Imagen modificada de Moore MC *et al*, 2001.⁴³

Las duplicaciones de un segmento de un cromosoma usualmente ocurren por una recombinación desigual entre cromosomas homólogos o cromátides hermanas (Figura 18). Las duplicaciones también pueden ser resultado de la segregación meiótica anormal de una translocación balanceada o entrecruzamiento meiótico en un portador de una inversión. El grado de severidad está relacionado con el tamaño del segmento duplicado.^{41, 43}

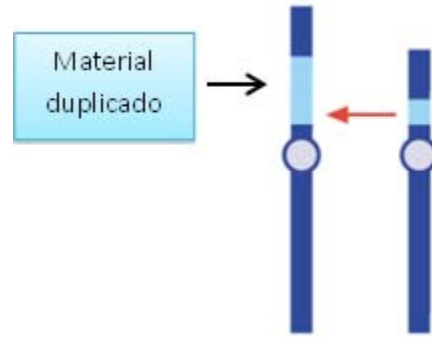


Figura 18. Se aprecia una duplicación de material genético (color azul claro) muchas veces causado por un entrecruzamiento no balanceado. Imagen modificada de Moore MC *et al*, 2001.⁴³

El isocromosoma es un cromosoma anormal que tiene duplicado el material genético de unos de los dos brazos, ya sea corto o largo. El mecanismo generador de los isocromosomas es la división del centrómero durante la división celular en sentido transversal y no longitudinal, como es lo normal. El mismo resultado se obtiene cuando hay una ruptura y fusión de las cromátidas hermanas de un cromosoma duplicado, involucrando al centrómero. El isocromosoma más frecuente entre los individuos es el formado por los brazos largos del cromosoma X, con trisomía del brazo largo y monosomía del corto. En muchas ocasiones, los isocromosomas son en realidad dicéntricos, pero uno de los centrómeros se inactiva y por eso se comportan de forma normal en la división (Figura 19).²⁵

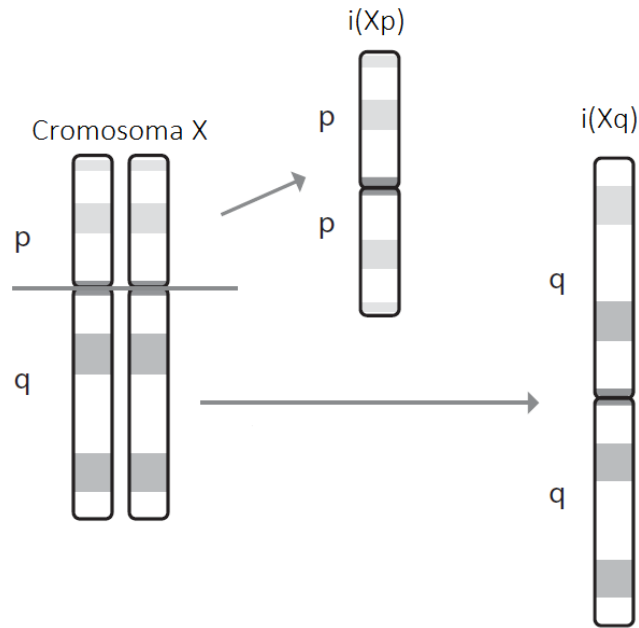


Figura 19. Esquema de la formación de los isocromosomas. En este ejemplo se muestra un cromosoma X, la división del centrómero ocurre de forma anormal en sentido transversal, produciendo dos tipos de isocromosomas: los de brazos cortos señalados como $i(Xp)$ y los brazos largos señalados como $i(Xq)$. Imagen modificada de Lisker R *et al*, 2013.²⁵

Los portadores de rearrreglos balanceados usualmente tienen una clínica normal ya que no tienen pérdida o ganancia de material genético y los genes de los puntos de ruptura usualmente no están afectados. Sin embargo, tienen un riesgo para producir gametos desbalanceados y un riesgo elevado para tener descendencia con anomalías cromosómicas. Los rearrreglos balanceados incluyen inversiones, inserciones, translocaciones recíprocas y translocaciones Robertsonianas.^{41, 43}

- 1) Las inversiones son rearrreglos dentro de un mismo cromosoma resultado de dos puntos de ruptura y el segmento entre estos dos puntos gira 180° para después reconstituirse el cromosoma (Figura 19). Las inversiones se clasifican en pericéntricas cuando las rupturas se dan en cada brazo y por lo tanto involucran al centrómero (Figura 20A); y en paracéntricas en las cuales las dos rupturas se dan en un solo brazo (Figura 20B). Las inversiones pericéntricas comúnmente causan un cambio en la longitud de los brazos; las inversiones paracéntricas no causan ese cambio pero son identificables por el patrón de bandas en el cromosoma afectado.

Los portadores de inversiones son usualmente normales clínicamente pero tienen un mayor riesgo para tener descendencia con trisomía o monosomía parcial. Esto debido a que durante la meiosis se forma un asa invertida para la recombinación durante el apareamiento de los cromosomas y si se da un número anormal de entrecruzamientos se podría producir cromosomas recombinantes desbalanceados. Las inversiones pericéntricas pueden producir recombinantes con duplicación y deficiencia de segmentos cromosómicos. La viabilidad de estos productos recombinantes depende del tamaño del segmento desbalanceado. Los cromosomas recombinantes resultado de inversiones paracéntricas usualmente son acéntricos o dicéntricos y usualmente resultan en productos no viables ya que estos cromosomas son inestables durante la división celular.^{41, 43}

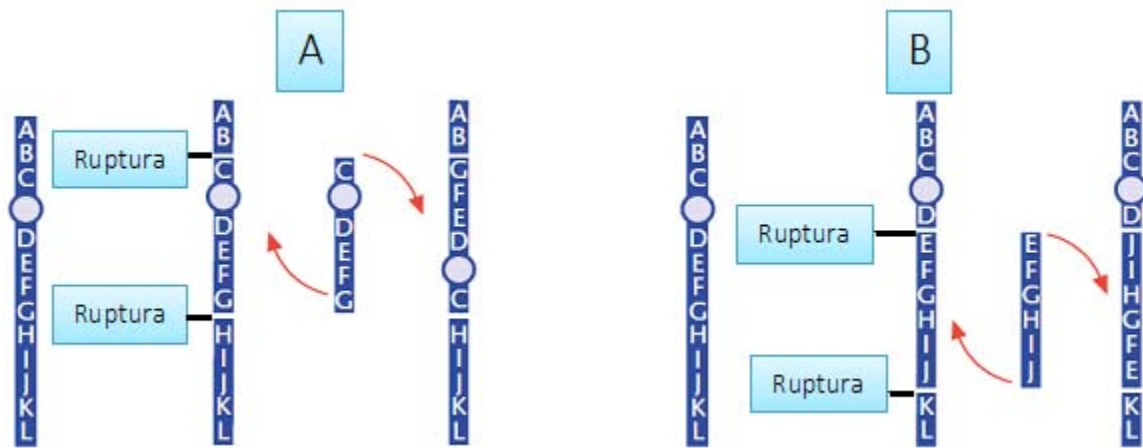


Figura 20. Distintos tipos de inversiones. 20A: Inversión pericéntrica. 20B: Inversión paracéntrica. Imagen modificada de Moore MC *et al*, 2001.⁴³

- 2) Las translocaciones resultan del intercambio de segmentos entre dos o más cromosomas no homólogos (Figura 21). Las translocaciones recíprocas se producen por el intercambio de los segmentos rotos entre dos cromosomas distintos (Figura 21A). Los portadores de translocaciones balanceadas recíprocas son usualmente fenotípicamente normales pero están en riesgo de tener descendencia con desbalances cromosómicos.

El riesgo está asociado con la segregación de los componentes translocados, posición de los puntos de ruptura y localización del centrómero. En general, la viabilidad está en relación con el tamaño del segmento desbalanceado.

Las translocaciones Robertsonianas involucran dos cromosomas acrocéntricos que se unen por porciones cercanas a sus centrómeros para formar un solo cromosoma (Figura 21B). Frecuentemente este cromosoma tiene dos centrómeros de tal manera que se denominaría dicéntrico. Los portadores de translocaciones Robertsonianas son usualmente normales clínicamente pero tiene un riesgo incrementado para tener descendencia con alteraciones cromosómicas. Este riesgo está aumentado para las portadoras femeninas ya que los portadores masculinos usualmente tienen problemas de infertilidad.^{41, 43}

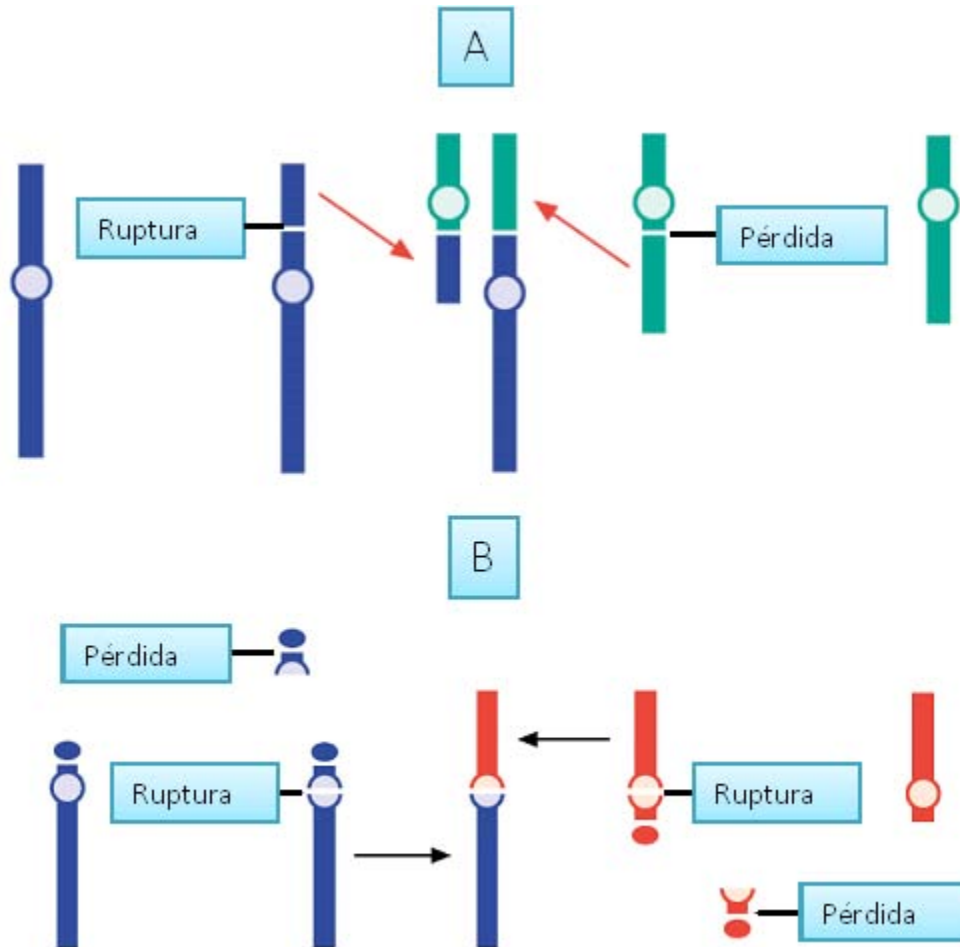


Figura 21. Distintos tipos de translocaciones. 21A) Translocación recíproca. 21B) Translocación Robertsoniana. Imagen modificada de Moore MC *et al*, 2001.⁴³

1.8.- Características del cromosoma 10 humano.

El cromosoma 10 humano es una cromosoma submetacéntrico de tamaño mediano que corresponde al 4.5% del total del genoma. Tiene una longitud de 133,797,422 pares de bases, 728 genes codificantes y 992 genes no codificantes, además de 562 pseudogenes.^{46, 47}

El 96.7% del cromosoma 10 está compuesto por eucromatina. Su contenido de CG es de aproximadamente 41.8%. Tiene una densidad génica de media de 10.4 genes por Mb. El 50.6% del cromosoma 10 se transcribe, similar a lo que sucede con el cromosoma 22 (51%) que es rico en genes, los cromosomas 6, 7, 14 y 20 (42.2%, 46.5%, 43.6% y 42.2%, respectivamente) tienen una densidad génica similar a la del cromosoma 10.^{46, 47}

Entre los genes con *loci* en el cromosoma 10 se encuentran: el gen de supresión tumoral *PTEN* (10q23.31, MIM: 601728) y el oncogén *RET* (10q11.21, MIM: 164761). El tamaño de los genes con *loci* en el cromosoma 10 varía en gran medida, como se puede apreciar al comparar los genes *CTNNA3* (10q21.3, MIM: 607667) que consta de 1,776,209 pb y el gen *CALML5* (10p15.1, MIM: 605183) con sólo 859 pb. Aproximadamente 73% de los genes codificantes para proteínas localizados en el cromosoma 10 tienen más de un transcrito. Se han reportado 42 agrupaciones de genes en el cromosoma 10.^{46, 47, 54}

Existen 99 loci en el cromosoma 10 reportados con relación a patología. Varios de estos *loci* cuentan con múltiples fenotipos de enfermedad causados por mutaciones en el mismo gen, ejemplos de esto son *FGFR2* (10q26.13, MIM: 176943), *PTEN*, y *RET*. Desde que *PTEN* fue reportado por primera vez mutado en cáncer de cerebro mama y próstata se comenzaron a reportar cada vez más mutaciones (110 germinales y 332 somáticas). El cromosoma 10 posee varios genes involucrados en la tumorigénesis; por ejemplo, la desregulación de *TLX1* (10q24.31, MIM: 186770), *NFKB2* (10q24.32, MIM: 164012) o *BMI1* (10p12.2, MIM: 164831) causada por translocaciones o amplificaciones se han asociado con neoplasias linfáticas.^{46, 47, 54}

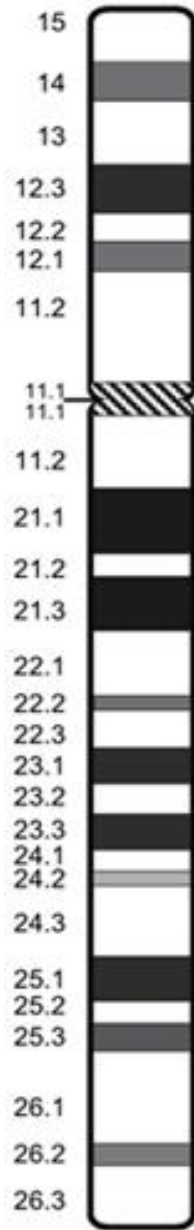


Figura 22: Ideograma del cromosoma 10. Se aprecia un patrón de bandeo de tipo bandas G, con una resolución de 550 bandas. Imagen tomada de Shaffer GL *et al*, 2013.⁴⁸

1.8.1.- Síndrome por Trisomía 10p.

La trisomía 10p es un síndrome cromosómico bien documentado. La mayoría de los casos reportados describen a pacientes producto de translocaciones no balanceadas o secundarias a rearrreglos en translocaciones recíprocas familiares. Los casos con trisomía 10p pura si bien poco frecuentes, han ayudado a delimitar los rasgos clínicos de los pacientes asociados con esta alteración.^{49,51}

El síndrome por trisomía 10p se caracteriza por rasgos dismórficos que incluyen dolicocefalia, frente alta con una implantación baja del cabello, pómulos prominentes, cejas arqueadas con sinofris, hipertelorismo, narinas antevertidas, *filtrum* largo, boca triangular y amplia, puente nasal ancho, labios delgados y pabellones auriculares grandes, prominentes, de implantación baja y en retroposición^{48, 49}. Estos rasgos muchas veces se acompañan de malformaciones en varios órganos como el cerebro, corazón y riñones; anormalidades esqueléticas, especialmente pie equino varo, discapacidad intelectual y retraso en el desarrollo psicomotor, convulsiones e hipotonía (Figura 23). El pronóstico varía de acuerdo a las comorbilidades de cada paciente.⁵⁰ En la Figura 23 se muestra el fenotipo de una paciente con trisomía 10p debido a la formación de un cromosoma telocéntrico estable, como parte de su estudio se le indicó cariotipo por las múltiples dismorfias que presentó y posteriormente se le realizó FISH para confirmar la alteración. Los estudios citogenéticos y moleculares mencionados se muestran en la Figura 23.⁵¹



Figura 23. Paciente femenino de 4 meses con trisomía 10p pura debido a un cromosoma extra telocéntrico estable. Se puede apreciar en las imágenes la dolicocefalia, frente amplia y abombada, labio hendido bilateral, pabellones auriculares prominentes y piel marmórea. Imágenes modificadas de Lozic B *et al.* 2012.⁵¹

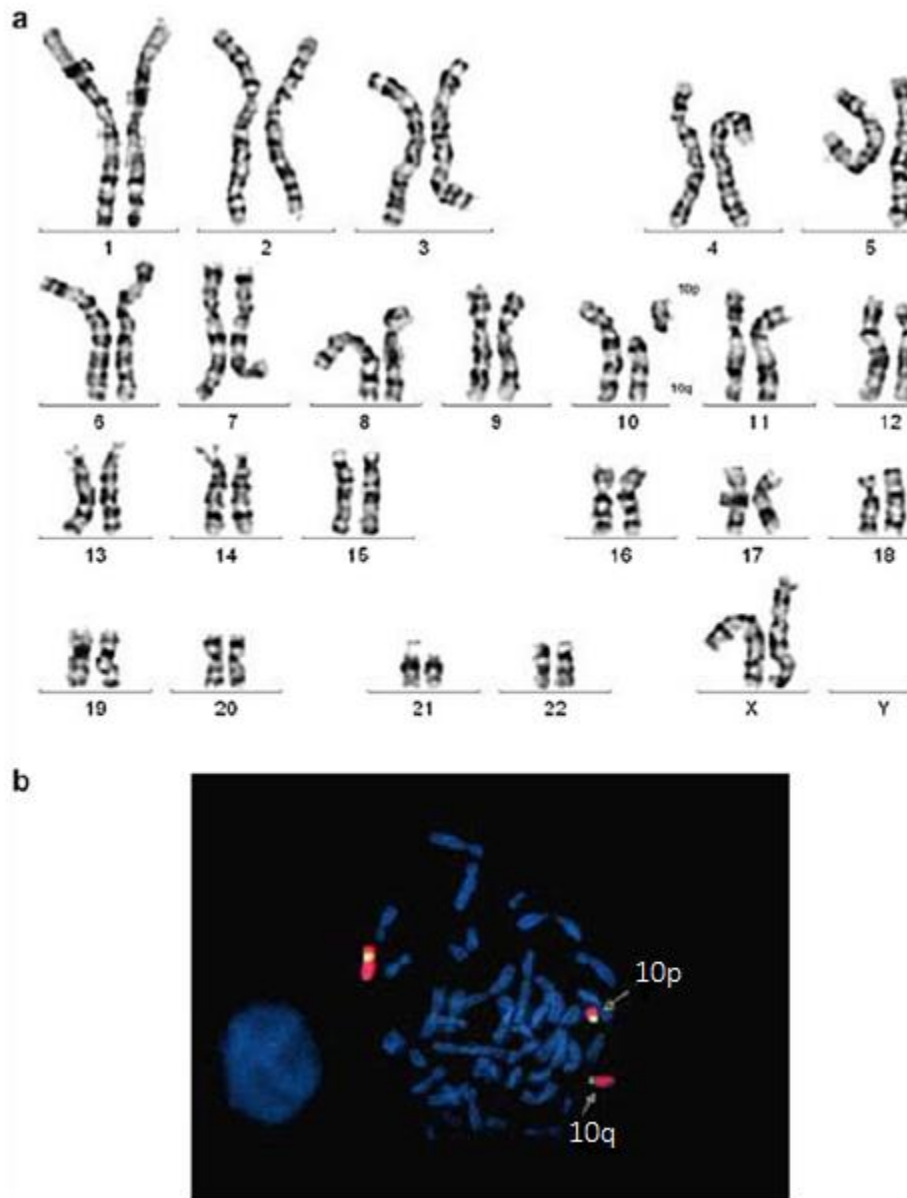


Figura 24. a): Cariotipo con bandas GTG donde se aprecia la fisión del centrómero del cromosoma 10 en la madre. El resultado de cariotipo fue el siguiente: 47,XX,-10,+ fis(10)(p10),+ fis(10)(q10). 2b): Estudio de FISH donde se utilizaron sondas para tinción completa de cromosomas, donde la señal roja corresponde al cromosoma 10 y la región centromérica se marcó con color verde. Las flechas indican el derivativo del brazo corto (10p) y el del brazo largo (10q) del cromosoma 10. Modificada de Lozic B *et al*, 2012.⁵¹

1.9.- Características del cromosoma 11 humano.

El cromosoma 11 humano es un cromosoma submetacéntrico que se extiende por 135,086,622 pares de bases, representando cerca del 4.4% del total del genoma. Tiene un papel significativo en la historia de la genética molecular, incluso mucho antes de que los procedimientos para secuenciación completa existieran. El gen de la cadena beta de la hemoglobina, una de las proteínas mejor estudiadas, con *locus* en 11p15.5, fue el primer gen mapeado del genoma humano y fue la primera proteína de la que se obtuvo su estructura cristalizada. Se asocia con la presentación de la anemia de células falciformes (*HBB*, 11q15.4, MIM: 603903), la primera enfermedad genética en la cual se describió su etiología molecular.

A tres megabases de distancia del gen *HBB*, se localiza el gen de la insulina (*INS*, 11p15.5, MIM: 176730) que fue la primera proteína humana totalmente secuenciada; de igual manera se localiza en 11p15.5, la región improntada responsable del síndrome de Beckwith-Wiedemann (MIM: 130650), intensamente estudiada.⁵²

El cromosoma 11 posee 1,315 genes codificantes y 1,174 genes no codificantes; además de 815 pseudogenes.⁴⁷ Este cromosoma es muy rico en genes y varios grupos de familias génicas están localizados en este cromosoma. Tiene el cuarto lugar como cromosoma con mayor contenido de genes, después del 1, 2 y 19, respectivamente. Se ha demostrado que presenta 10.6 genes codificantes de proteínas por cada Mb, en comparación con el promedio en el genoma que es de 7.3.^{47, 52}

Todos los cromosomas humanos, con excepción del 20 y el Y, poseen genes para receptores olfatorios (OR), pero es el cromosoma 11 por mucho el más rico en este tipo de genes. En el humano existen 856 genes para receptores olfatorios, de los cuales 369 (43%) se localizan en el cromosoma 11. La mayoría están compuestos por un solo exón, con una longitud promedio de 1 Kb. De los 369 *loci* para OR en el cromosoma 11, 166 (45%) son genes codificantes para proteínas y los restantes 203 (55 %) son pseudogenes; esto se acerca al promedio en el genoma (47% versus 53%).

Con excepción de 10 genes para receptores olfatorios, el resto se encuentra dentro de 18 agrupaciones separadas por al menos 100 Kb. Estas agrupaciones tienen una longitud muy variable, la mayor contiene 97 genes con un tamaño medio de 1.5 Mb. La distancia promedio entre genes dentro de cada agrupación es de aproximadamente 17 Kb. Los genes de receptores olfatorios se clasifican en 13 diferentes familias, conteniendo desde solo uno hasta 81 miembros.^{47, 52}

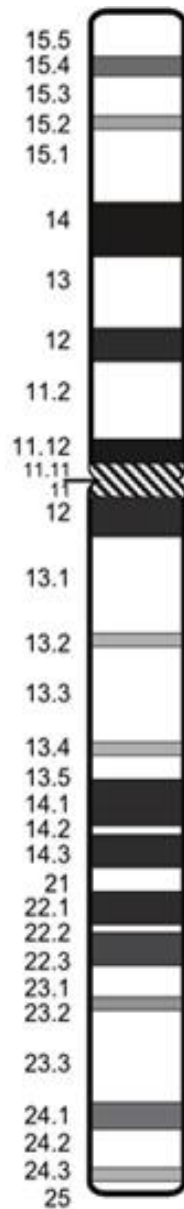


Figura 25: Ideograma del cromosoma 11. Se aprecia un patrón de bandeo de tipo bandas G, con una resolución de 550 bandas. Imagen modificada de Shaffer GL *et al*, 2013.⁴⁸

1.9.1.- Síndromes por deleción terminal 11q.

Dentro de los síndrome relacionados a deleciones en 11q, el más estudiado es el síndrome de Jacobsen (MIM: 147791), descrito por primera vez por *Jacobsen et al.* [1973]. Los reportes clínicos más tempranos describían varias anormalidades craneofaciales incluyendo frente estrecha y prominente, anomalías visuales como estrabismo e hipertelorismo, narinas pequeñas y antevertidas y pabellones auriculares dismórficos (Figura 26). Características físicas anormales como talla baja, cardiopatías congénitas y discapacidad intelectual (DI) severa, también han sido reportados. Se han reportado también alteraciones del sueño asociadas con DI. Se ha demostrado que la región crítica para el cuadro clínico del síndrome de Jacobsen (SJB) es 11q23.⁶³



Figura 26. Fotos seriadas de una paciente con deleción terminal en 11q. Las fotos corresponden a las edades de 3 meses, 2 años, 4 años y 10 años, de izquierda a derecha respectivamente. Imagen modificada de Grossfeld DP, *et al.* 2004.⁶⁴

Se han observado también deleciones en 11q24.1, 11q24.2 y 11q25. Las deleciones intersticiales entre 11q14.2 y 11q24.2, también se han reportado. Las características clínicas de los pacientes con deleciones intersticiales difieren del SJB clásico, por lo que deberían considerarse como síndromes diferentes.

Las características clínicas de estos pacientes varían conforme al tamaño de la región deletada, algunos presentan dismorfias faciales como facies alargada, puente nasal alto, *filtrum* corto e implantación baja de pabellones auriculares. Una característica que presentan estos pacientes y varía en la severidad es el retraso en el desarrollo, algunos pacientes desarrollan discapacidad intelectual de leve a moderada; se han reportado también alteraciones en otros órganos y sistemas, dentro de los que se encuentran la agenesia de cuerpo calloso, agenesia renal y cardiopatía congénita.

En cuanto a los genes en la región terminal de 11q, se tienen varios candidatos para distintas características fenotípicas. Como lo es *FLI1* (11q24.3, MIM: 193067), en el que su haploinsuficiencia se ha propuesto como causante de la trombocitopenia. El gen *B3GAT1* (11q25, MIM: 151290) se ha propuesto como causante de alteraciones neurocognitivas y se ha relacionado con episodios psicóticos y esquizofrenia. Los genes *KCNJ1* (11q24.3, MIM: 600359) y *ADAMTS15* (11q24.3, MIM: 607509) al expresarse en riñón se tienen como probables responsables de las alteraciones renales que pueden presentar estos pacientes.^{62, 63}

A nivel de 11q25 se han reportado las siguientes características clínicas: retraso del desarrollo psicomotor, alteración neurológica (hipoplasia o agenesia de cuerpo caloso), fisuras palpebrales descendentes, hipertelorismo, narinas antevertidas y comunicación interventricular (Figura 27).^{62,63}

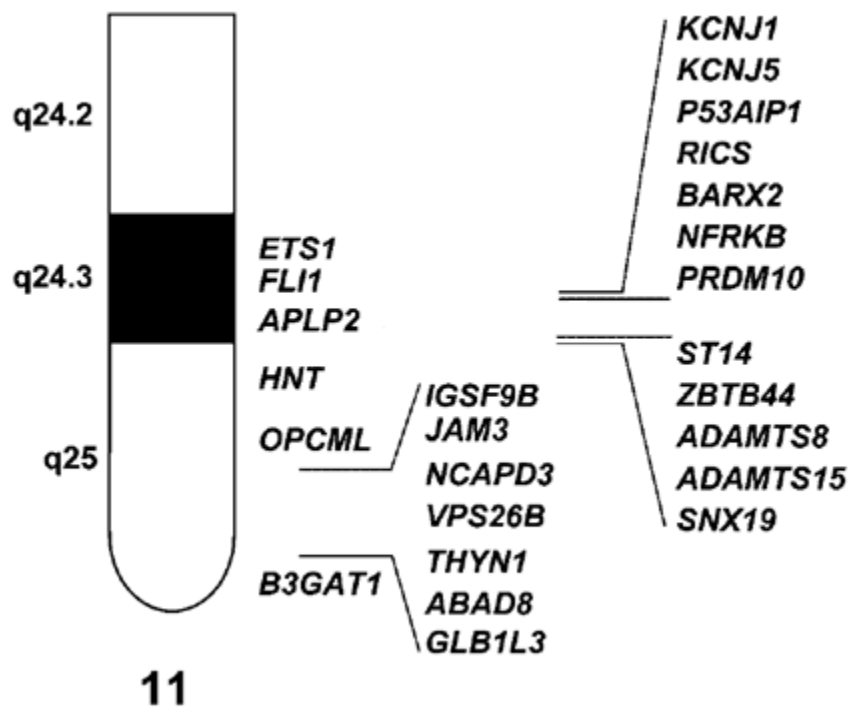


Figura 27. Representación esquemática de los genes en la región 11q24.3q25. Imagen modificada de Bernaciak J *et al*, 2008.⁶³

2.- Planteamiento del problema.

El desarrollo normal del ser humano requiere entre otros aspectos de una adecuada información genética y contar con un número cromosómico normal. Las aberraciones estructurales de los cromosomas pueden asociarse a alteraciones en la integridad génica de una región, a ganancia o a pérdida de información. En el caso de las ganancias de material cromosómico, estas alteraciones tienen distinto impacto en el fenotipo del paciente, dependiendo de los cromosomas involucrados, el origen y tamaño de la región duplicada y de si se presenta además con otras alteraciones como podría ser, dependiendo del caso y cuando se asocia a derivados de translocaciones cromosómicas, por ejemplo de pérdida de otra región cromosómica. El estudio de casos con ganancia de material genético es complejo, por ello se requiere emplear técnicas citogenéticas convencionales y citogenéticas moleculares como lo son el análisis por FISH y el cariotipo molecular empleando microarreglos. En esta tesis se describe el caso de un paciente referido por trastorno de déficit de atención e hiperactividad (TDAH) multitratado, con antecedente de pie equino varo bilateral, que presenta una aberración cromosómica compleja con material adicional en uno de sus cromosomas 11, el empleo de diferentes metodologías permitió determinar que se trataba de una trisomía 10p con monosomía 11q. Se presenta la discusión de los hallazgos fenotípicos, cromosómicos y moleculares, así como la comparación con alteraciones similares reportadas en la literatura.

3.- Justificación.

El análisis integral de un paciente que presenta alteraciones del desarrollo y dismorfias incluye el descartar alteraciones cromosómicas. Los casos de rearrreglos complejos como lo pueden ser las ganancias de material con en el caso que se describe en esta tesis, requiere de la identificación del origen del material genético adicional mediante técnicas de citogenética convencionales y moleculares. El análisis de estos casos poco frecuentes, nos permite establecer la relación fenotipo-genotipo lo que aporta información y conocimiento nuevo acerca de los genes de la región involucrada y permite dar un asesoramiento genético con bases moleculares.

4.- Objetivos.

4.1.- Objetivo general.

- Describir y analizar las características clínicas, citogenéticas y moleculares en un paciente que presenta material adicional en uno de sus cromosomas 11.

4.2.- Objetivos secundarios.

- Determinar la frecuencia de los casos con alteraciones de los cromosomas 10 y/o 11 reportados en un periodo de 10 años (2004-2013) en el Departamento de Genética del Hospital Infantil de México Federico.
- Describir las características clínicas de un paciente con material adicional en uno de sus cromosomas 11.
- Determinar el origen del material genético adicional mediante técnicas citogenéticas convencionales y moleculares tipo microarreglos y FISH para definir los puntos de ruptura y las regiones implicadas en el rearreglo cromosómico.
- Correlacionar el fenotipo del paciente con el genotipo definido de acuerdo a los análisis citogenéticos y moleculares.
- Otorgar asesoramiento genético al paciente y su familia.

5.- Material y métodos.

Debido a que en el paciente estudiado en esta tesis se encontró que la alteración cromosómica presente correspondió a un rearrreglo entre los cromosomas 10 y 11, se revisaron las libretas de los registros de estudios citogenéticos del Departamento de Genética del Hospital Infantil de México Federico Gómez (HIMFG) de los últimos 10 años, de enero del 2004 a diciembre del 2013, en busca de otras alteraciones relacionadas con estos cromosomas. Para esta parte del estudio se consideraron los siguientes criterios:

5.1 Criterios de inclusión:

- Alteraciones cromosómicas que involucren a los cromosomas 10 y/o 11.
- Datos legibles.

5.2 Criterios de exclusión:

- Alteraciones cromosómicas que no involucren a los cromosomas 10 y/o 11.
- Datos ilegibles.

En relación al caso clínico presentado, se realizó historia clínica de nuestro paciente y con consentimiento informado (Anexo III), se realizó estudio citogenético a partir de linfocitos de sangre periférica con técnica de bandas GTG (Anexo I) con resolución de 400 a 550 bandas, estudiando 25 metafases.

Debido a que se encontró una alteración estructural en el cariotipo del paciente se procedió a extender el estudio a ambos padres. Se realizó estudio citogenético en ambos padres previo consentimiento informado para determinar si alguno de ellos era portador de un rearrreglo cromosómico balanceado y así poder determinar el origen del material adicional presente en uno de los cromosomas 11 del paciente (Anexo III).

Debido a que la alteración citogenética ocurrió *de novo* para identificar el origen del material adicional presente en el cromosoma 11 anormal, se realizó estudio con microarreglo de SNP de alta densidad (Cytoscan HD, Affymetrix Inc., Santa Clara, CA, USA), en DNA genómico del paciente,

obtenido a partir de una muestra de sangre periférica (3 ml), utilizando el kit Versagene DNA Purification (Gentra Systems Inc.®, Minneapolis, MN,USA). (Anexos IV y V).

Para corroborar los resultados obtenidos con el microarreglo se realizó análisis con FISH para las regiones subteloméricas de los cromosomas 10 y 11 utilizando las sondas ToTelVysion (Vysis-Abbott®, Abbot Park, Illinois, USA). Se emplearon la mezcla 10 que incluye sondas para: 10p color rojo, 10q color verde, 15q color naranja y 15q22 color aqua; y la mezcla 11 con sondas para 11p color rojo, 11q color verde, 18p color amarillo y el centrómero de 18 color aqua (Anexo II).

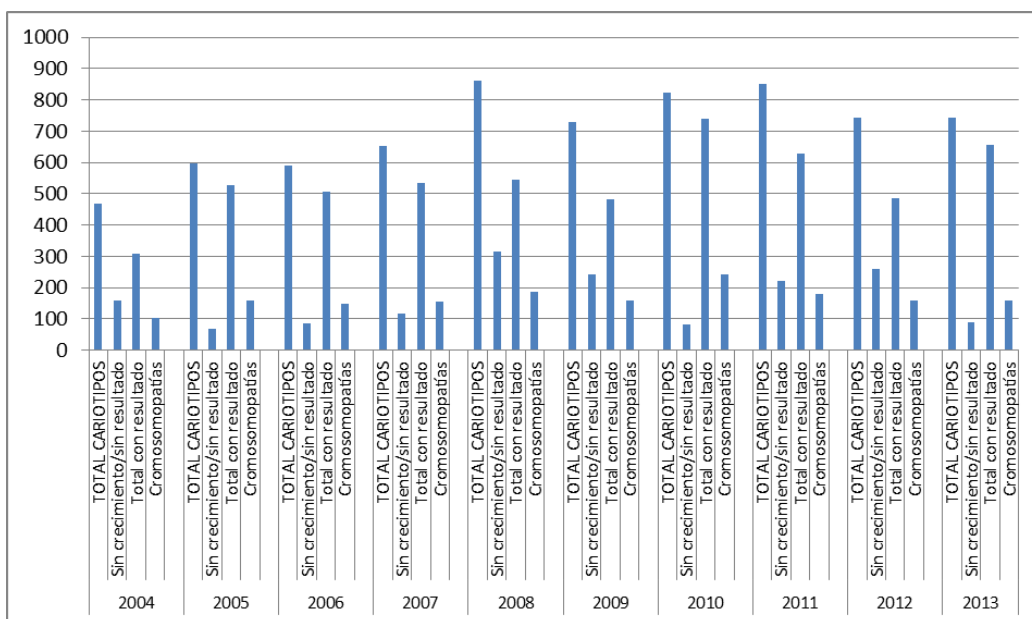
6.-Resultados.

6.1.- Resultados del análisis estadístico y datos clínicos de los pacientes identificados con alteraciones de los cromosomas 10 y/o 11.

En relación a los casos identificados con alteración del cromosoma 10 y/o del cromosoma 11 se encontró lo siguiente:

Durante el periodo descrito se realizaron un total de 7 059 cariotipos, de los cuales 1 640 no tuvieron resultado debido a no crecimiento o a no reporte del mismo. El total de cariotipos con resultado fue de 5419 y el total de cromosomopatías identificadas fue de 1656 (Gráfica 1).

Gráfica 1. Análisis de Cariotipo realizados entre 2004 al 2013.



Entre los estudios anteriores, fue posible identificar 15 cariotipos correspondientes a 12 casos con alteraciones cromosómicas que involucran a los cromosomas 10 y/o 11. Dos casos correspondieron a alteraciones del cromosoma 10 (Casos 2 y 7), 8 casos tuvieron alteraciones que involucraban al cromosoma 11 (Casos 1, 3, 5, 6, 8, 9, 10 y 11) y dos casos involucraban a ambos cromosomas (Casos 4 y 12)(Tabla 1).

Tabla 1: Pacientes en quienes se encontraron alteraciones de los cromosomas 10 y/o 11 en la revisión de libretas en el periodo de estudio (2004-2013).

Casos	Año	Género	Edad	Cariotipo
1	2006	Femenino	25 años	46,XX,t(11;18)(q23;q21),21pstk+[25]
2	2007	Femenino	5 años 6 meses	46,XX,t(10;18)(q22;q12)pat[25]
	2007	Masculino	46 años	46,XX,t(10;18)(q22;q12)[25]
3	2007	Femenino	17 días	46,XX,add(11)(q23)[25]
4	2008	Femenino	7 días	46,XX,der(10)t(10;11)(q26;q13)[50]
5	2008	Femenino	11 años	46,XX,t(11;15)(q14;q21)[25]
6	2008	Masculino	8 años	46,XY,t(11;15)(q13;q25)[25]
7	2009	Masculino	1 mes	46,XY,del(10)(p13p14)[25]
8	2011	Femenino	28 años	46,XX,t(11;22)(q23.3;q11.2)[25]
	2012	Femenino	3 años	47,XX,+der(22)t(11;22)(q23.3;q11.2)mat
	2012	Femenino	6 años	46,XX,t(11;22)(q23.3;q11.2)mat[25]
9	2012	Femenino	2 meses	46,XX,del(11)(p13p13),16qh+[30]
10	2012	Masculino	2 días	47,XY,+der(22),t(11;22)(q23;q11.2)mat [25]
11	2012	Masculino	13 años	46,XY,t(6;11)(q23;q23)pat[25]
12	2012	Masculino	11 años 9 meses	46,XY,add(11)(q25).ish der(11)t(10;11)(p14;q25)

Los casos 1, 4, 5, 6, 8, 10 y 11 correspondieron a translocaciones que involucran al cromosoma 11.

Los casos 4, 8 y 10 correspondieron a cromosomas derivados: el caso 4 correspondió a un derivativo del cromosoma 10 producto de una translocación entre los cromosomas 10 y 11, en los casos 8 y 10 los derivados son consecuencia de la segregación de translocaciones balanceadas entre los cromosomas 11 y 22.

El caso 2 es un caso familiar con una paciente y su padre portadores de una translocación aparentemente balanceada entre los cromosomas 10 y 18. Los casos 5 y 6 se tratan de pacientes con translocaciones aparentemente balanceadas entre el cromosoma 11 y 15. Los casos 7 y 9 presentaron deleciones, el caso 7 corresponde a una deleción en 10p13p14 y en el caso 9 se aprecia una deleción del cromosoma 11 a nivel de p13. En el caso 3 se describe material adicional a nivel de 11q23, del cual no fue posible determinar su origen.

El caso descrito en extenso en esta tesis corresponde al caso 12 y difiere del caso 3 en el punto de ruptura donde se aprecia el material adicional, en el paciente reportado en extenso en esta tesis corresponde a 11q25 (Tabla 1).

En estos 12 casos de alteraciones de los cromosomas 10 y 11 se encuentran 9 mujeres y 6 hombres, con un rango de edad que va de los dos días de vida a los 46 años, estos 12 casos representan dentro del total de cromosopatías reportadas el 0.9%. Fue posible recabar información clínica de los siguientes casos.

Caso 2: femenina con síndrome regresivo y malformaciones de sistema nervioso central identificadas por análisis de imagen de resonancia magnética. Cariotipo: 46,XX,t(10;18)(q22;q12)[25], padre portador de la misma alteración.⁶⁵

Caso 7: masculino con crisis convulsivas, hipoglucemia e hipoparatiroidismo tardío. Cariotipo 46,XY,del(10)(p13p14) [25], correspondiendo al Síndrome de DiGeorge 2/síndrome velocardiofacial complejo 2(DGCR2) (MIM: %601362)⁶⁸, cariotipos de los padres normales.⁶⁶

Caso 8: femenino posoperada por supraglotoplastia y con síndrome de Pierre-Robin, presentó crisis convulsivas y distensión de recto sigmoides, malformación anorrectal tipo estenosis severa.

Cariotipo: 47,XX,+der(22)t(11;22)(q23.3;q11.2)[25]. Cariotipo de la madre y hermana: 46,XX,t(11;22)(q23.3;q11.2), cariotipo padre: 46,XY,9qh+. Se estableció el diagnóstico de síndrome de Emanuel.

Caso 9: paciente femenina con el diagnóstico de aniridia y un cariotipo externo: 46,XX,del(11)(p13p13),16qh+[30], cariotipo de padres normales. Diagnóstico de síndrome WAGR.

Caso 10: masculino con malformación anorrectal sin fístula, cardiopatía, alteración del desarrollo sexual XY, micropene, agenesia renal izquierda, insuficiencia renal y retraso del crecimiento intrauterino. Cariotipo: 47,XY,+der(22),t(11;22)(q23;q11.2)[25]. Diagnóstico de síndrome de Emanuel.⁶⁷

Caso 11: masculino portador de una translocación aparentemente balanceada por cariotipo externo al HIMFG el cual fue corroborado como: 46,XY,t(6;11)(q23;q23)[25]. Epistaxis recurrente secundaria a procesos alérgicos. Padre portador de la misma translocación balanceada.

6.2.- Presentación de caso clínico.

Paciente masculino de 13 años de edad referido al departamento de Genética a la edad de 8 años por trastorno de déficit de atención e hiperactividad (TDAH), multitratado, antecedente de pie equino varo bilateral (Figura 28).

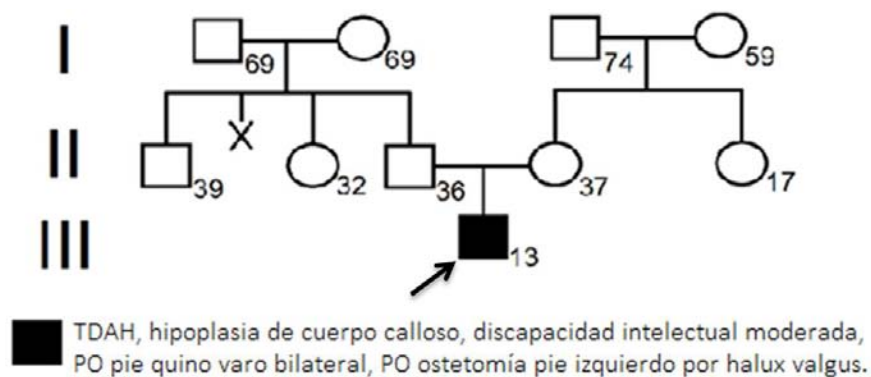


Figura 28. Árbol genealógico de 3 generaciones del paciente en estudio, la flecha señala al *propositus*.

Antecedentes perinatales: Producto de la única gesta entre padres aparentemente sanos, no consanguíneos, madre de 23 años y padre de 24 años de edad a la concepción. El embarazo con adecuado control prenatal, ingesta de multivitamínicos. Embarazo de 39 semanas de gestación, por falta de progreso del trabajo de parto y presentación con circular de cordón a cuello fue obtenido por cesárea con peso: 3500 g (P 50), talla 55 cm (P 95), se desconoce APGAR.

Antecedentes personales patológicos: pie equino varo bilateral congénito tratado con cirugía correctiva y bota de yeso hasta los 3 años de edad. Presentó crisis convulsivas tratadas medicamente y que se mantienen hasta la actualidad con menor frecuencia e intensidad.

Desarrollo psicomotor: sostén cefálico a los 6 meses, sedestación sin apoyo a los 12 meses, marcha a los 3 años. Inicio del habla a los 2 años, control de esfínteres 3 años, actualmente acude a Centro de atención múltiple en Secundaria.

A la exploración física a los 13 años de edad: reactivo, hiperactivo, obedece órdenes sencillas, con un peso de 38kg (P3), talla de 1.54m (P10-25), PC: 52cm (-2DS), ojos simétricos, pupilas isocóricas normorefléxicas. Extremidades integrales, eutróficas, simétricas, cicatrices en pies por eventos quirúrgicos, campos de movilidad conservados, reflejos osteotendinosos normales. Con previo consentimiento informado, se solicitaron fotografías clínicas para ilustrar las características fenotípicas del paciente. (Figura 29 y Anexo VI)

Estudios de gabinete: Resonancia magnética de cráneo: adelgazamiento del segmento caudal del cuerpo calloso, incremento en la amplitud del espacio subaracnoideo frontal y quiste petrocerebeloso. Ecocardiograma y edad ósea normales.

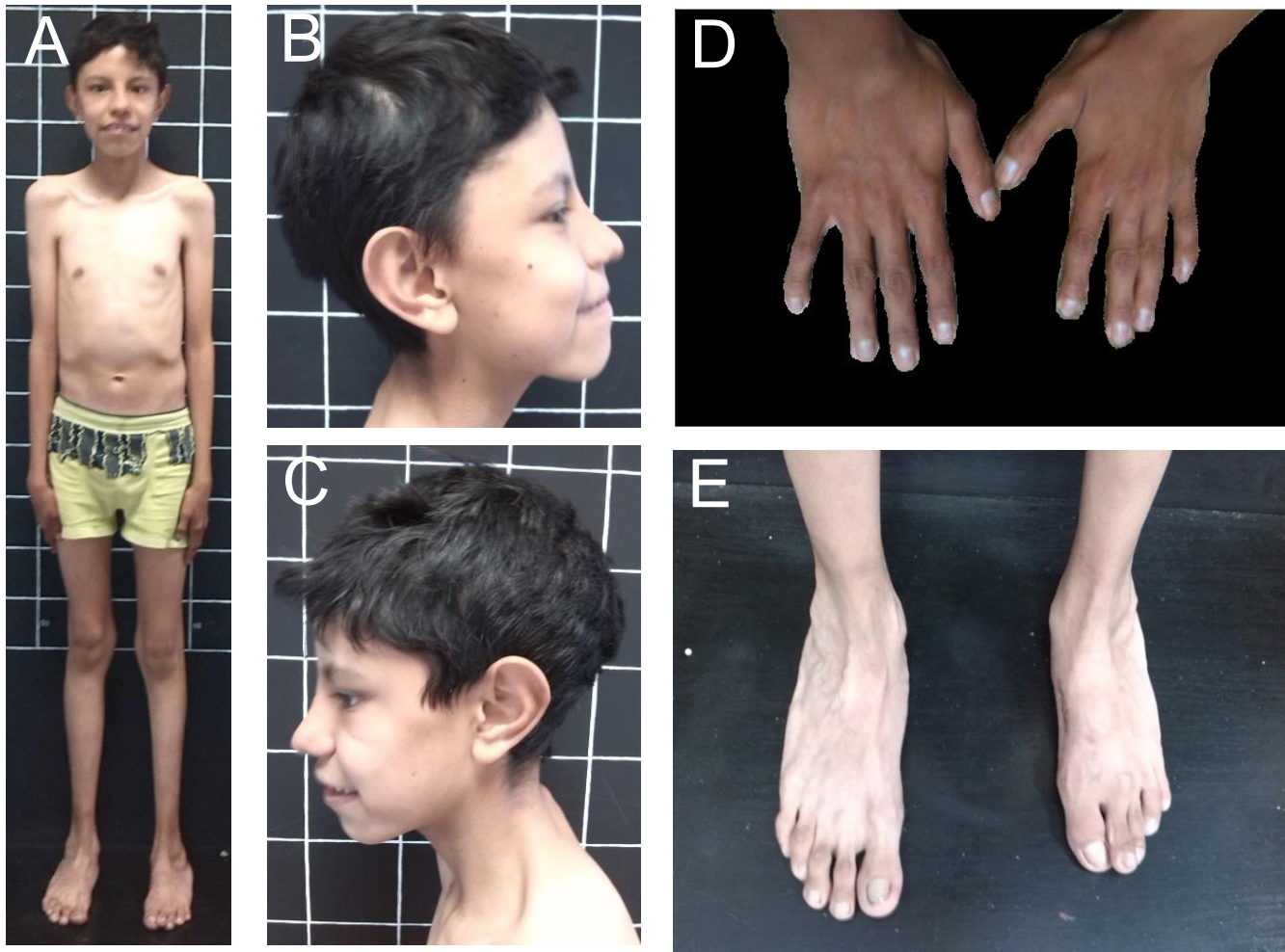


Figura 29. Fenotipo del paciente. A) Habitus longilineo, extremidades hipotróficas. B, C) Dolicocefalia, frente amplia, puente nasal alto, ojos con fisuras palpebrales con tendencia a ser ascendentes, párpados superiores “plenos”, boca grande, pabellones auriculares prominentes. D,E) Dedos largos y delgados.

6.2.1.- Resultados de los estudios citogenéticos y moleculares

El estudio de cariotipo realizado con bandas GTG (Anexo I) se reportó con el siguiente resultado: 46,XY,add(11)(q25)[25] (Figura 30).

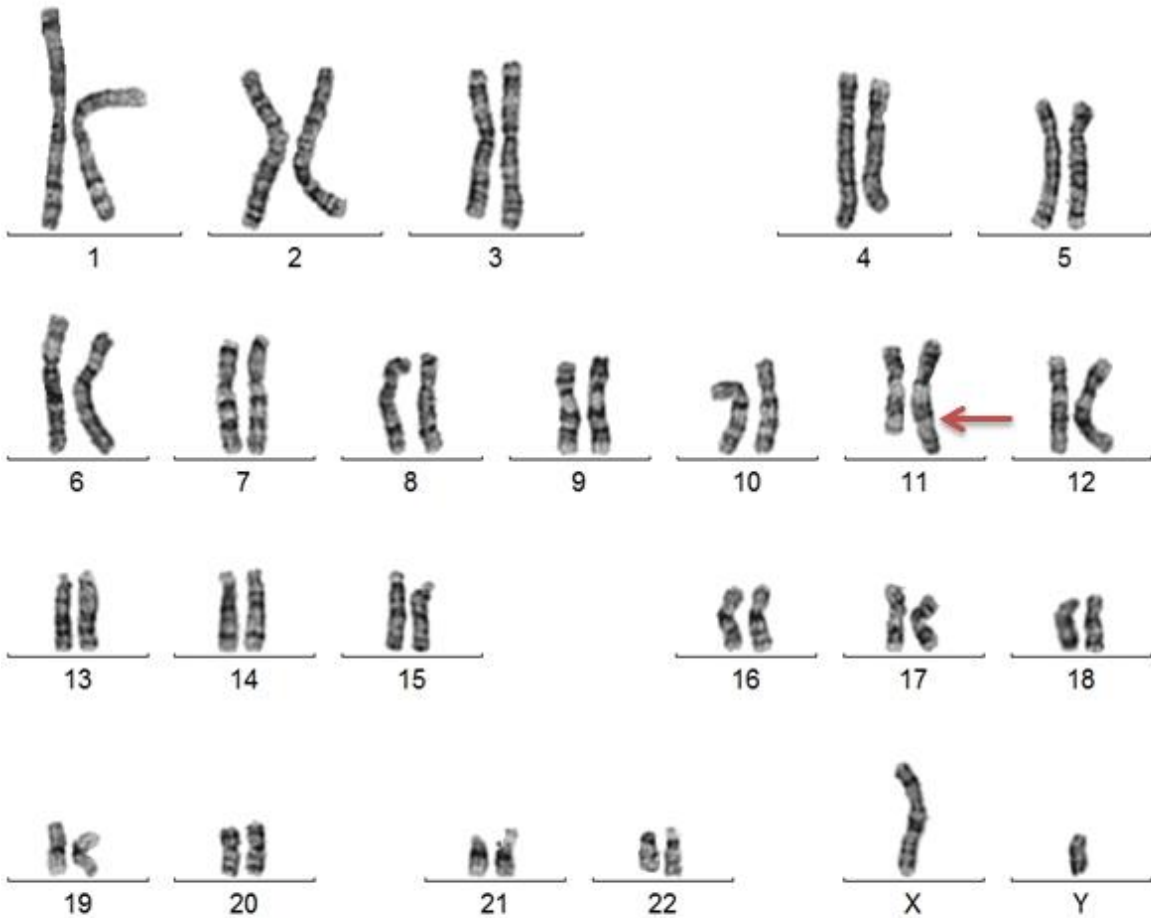


Figura 30. Cariotipo con bandas GTG del paciente. La flecha roja señala el cromosoma 11 con material adicional. Estudio realizado por la Biól. Ariadna Berenice Morales Jiménez, Departamento de Genética del Hospital Infantil de México Federico Gómez.

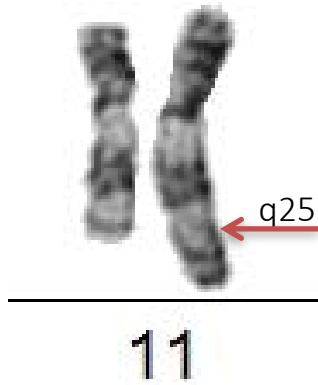


Figura 31. Cariotipo parcial del paciente. La flecha señala el material adicional. Estudio realizado por la Biol. Ariadna Berenice Morales Jiménez, Departamento de Genética del Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Se solicitó cariotipo a los padres, siendo el resultado en ambos normal.

Se extrajo DNA de sangre periférica del paciente para el análisis con microarreglo de alta densidad Cytoscan HD (Affymetrix Inc., Santa Clara, CA, USA), en el cual se encontró una ganancia de 25.5 Mb en el cromosoma 10 (p12.1-pter) y pérdida de 1 Mb en 11q25. (Figura 32) Análisis realizado por el Dr. Fernando Fernández Ramírez del Departamento de Genética, Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga (HGMDEL).

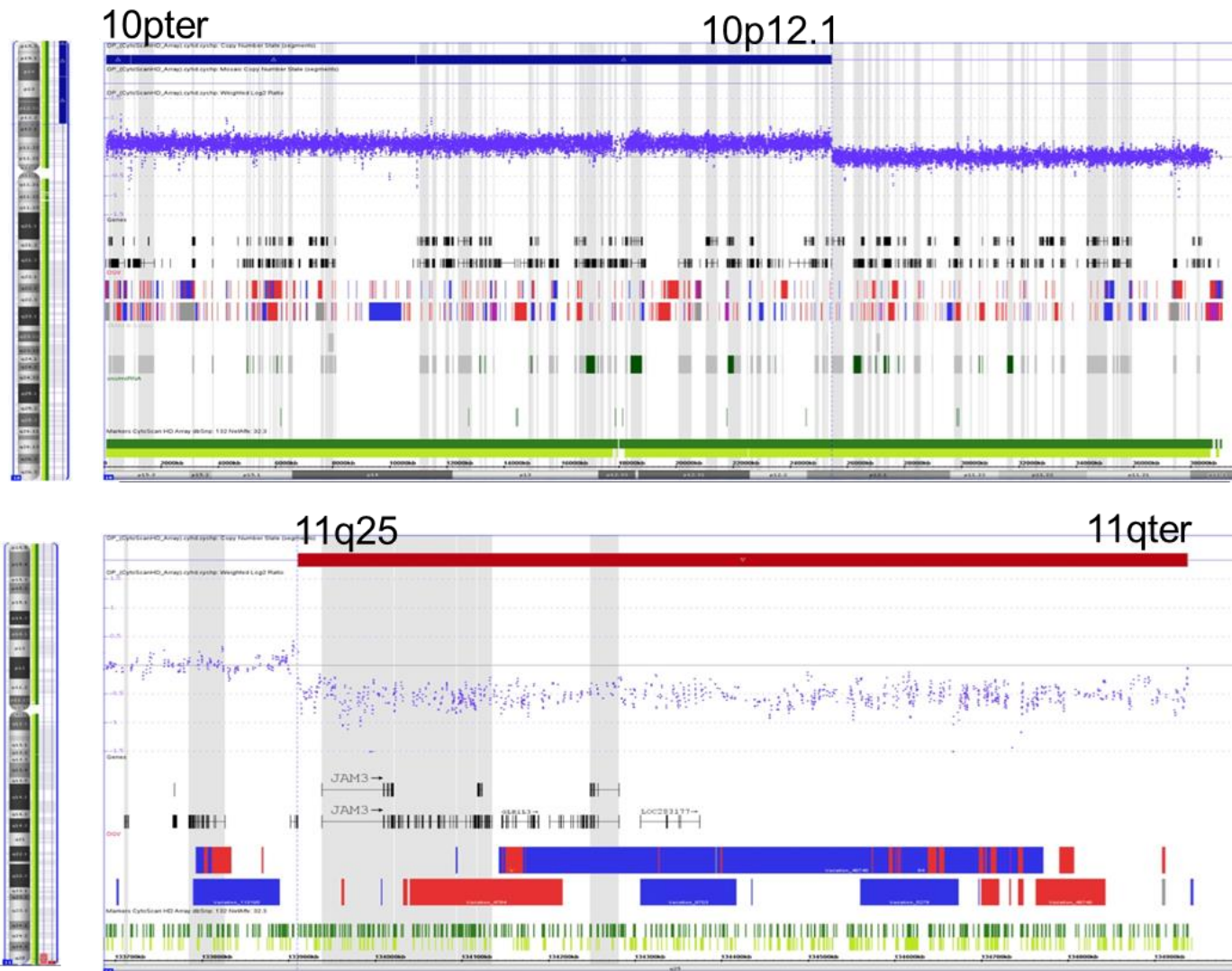


Figura 32. Estudio de microarreglo de alta densidad Se aprecia en la figura superior con color azul la región duplicada que corresponde a 10p12.1 a 10pter y en la figura inferior con rojo se aprecia la región deletada que corresponde a 11q25 a qter. (Dr. Fernando Fernández Ramírez, Departamento de Genética, HGMDEL).

A continuación se realizó análisis por FISH con sondas subteloméricas para los cromosomas 10 y 11 con las mezclas 10 y 11 de ToTelVysion (Abbott Laboratories. Abbott Park, IL, USA). Análisis realizado por la M. en C. Laura Gómez Laguna del Departamento de Genética del Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga y por la Biol. Karem Nieto Martínez de la Facultad de Medicina, UNAM (Figura 33).

El estudio confirmó pérdida de material en 11q25-11qter y que el material adicional corresponde a 10p incluyendo la región subtelomérica; por lo que el cariotipo final del paciente es el siguiente:

46,XY,add(11)(q25).ish der(11)t(10;11)(p12.1;q25)(D11S2071+,D11S1037-, 10PTEL006+)dn.

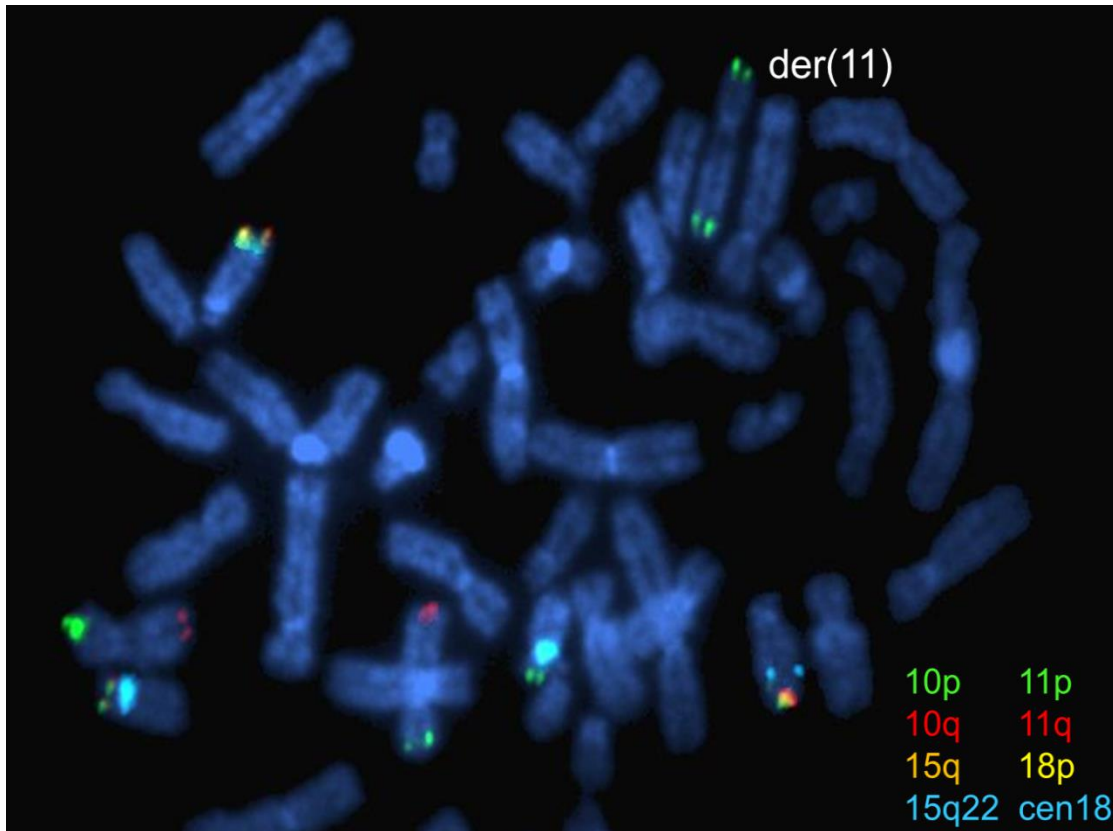


Figura 33. Análisis por FISH en una metafase del paciente. Se señala el cromosoma derivativo del 11 como der(11), en donde se aprecian dos señales verdes, correspondientes a 11p y 10p. Se usaron sondas verdes para las regiones subtelo méricas de 10p y 11p y rojas para las regiones subtelo méricas 10q y 11q. Para las sondas del cromosoma 10 su control fueron sondas para el cromosoma 15, marcando con naranja 15q y con aqua 15q22; para el cromosoma 11 su control fueron sondas para el cromosoma 18, marcando de amarillo 18p y de aqua centrómero de 18. Análisis realizado por la M. en C. Laura Gómez Laguna del Departamento de Genética del Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga y por la Biol. Karem Nieto Martínez de la Facultad de Medicina, UNAM.

Las sondas subteloméricas nos permitieron constatar la presencia o ausencia de regiones correspondientes a las partes distales de los brazos largos o cortos de los cromosomas estudiados.

Con el resultado de estos estudios se pudo corroborar la alteración genética que presenta nuestro paciente, la cual consiste en una trisomía casi completa del brazo corto del cromosoma 10, abarcando una región de 25.5 Mb que comprende de 10p12.1 a 10pter, esta región al translocarse al brazo largo del cromosoma 11 condicionó la pérdida del extremo final, una región que corresponde de 11q25 a 11qter de solo 1 Mb.

7.- Discusión.

En este trabajo se discute el caso de un paciente con rearrreglo cromosómico complejo que corresponde a una trisomía 10p y una monosomía 11q. Las aberraciones cromosómicas estructurales se encuentran en 1 de cada 400 recién nacidos y esto tomando en cuenta tanto rearrreglos balanceados como desbalanceados.⁸

La primera parte de esta tesis demostró que este tipo de alteraciones, en particular en lo referente a los cromosomas 10 y 11 son poco frecuentes así en el análisis estadístico realizado en este trabajo, se identificaron 12 casos de alteraciones que involucraban a los cromosomas 10 y/o 11. Estos casos corresponden al 0.9% del total de cariotipos anormales reportados en los 10 años en los que se realizó la revisión (2004-2013) (Tabla 1). El estudio de estos pacientes al tener alteraciones cromosómicas poco frecuentes aporta conocimiento nuevo sobre las regiones involucradas, los mecanismos subyacentes y tienen implicaciones en el asesoramiento genético, como fue el caso de nuestro paciente.

La evaluación de un paciente con dismorfias y discapacidad intelectual de origen desconocido debe ser integral para poder establecer su etiología, manejo y proporcionar asesoramiento genético. Dentro de sus causas se deben descartar las alteraciones cromosómicas. En esta tesis se presenta el caso de un paciente referido por crisis convulsivas, RDPM, dismorfias menores y pie equinovaro bilateral, el análisis de cariotipo reportó una ganancia de material en el cromosoma 11: 46,XY,add(11)(q25), la cual fue *de novo*.

El análisis con microarreglo de SNP de alta densidad permitió determinar el origen del material adicional y establecer los puntos de ruptura, con lo que se determinó que el paciente presentaba una trisomía parcial de 10p12 a pter y monosomía parcial de 11q25 a qter.

El estudio por FISH permitió corroborar los datos obtenidos por el análisis genómico y dar la fórmula cromosómica final del paciente. El fenotipo del paciente es producto de estos desbalances cromosómicos. Estos resultados nos dieron más información para poder establecer una correlación fenotipo-genotipo en el paciente y para otorgar un asesoramiento genético con bases moleculares. Es importante señalar que el fenotipo del paciente con excepción de la presentación congénita de pie equinovaro bilateral, no presentaba otras malformaciones mayores ni dismorfias que llamaran

particularmente la atención a su nacimiento, particularmente considerando que la malformación mayor aislada mencionada tiene una etiología multifactorial. Sin embargo al ser referido a los 11 años edad el motivo de evaluación estaba orientado principalmente hacia el retraso del desarrollo y alteración intelectual que era funcional ya que el paciente acudía a una escuela especial.

Los análisis citogenéticos y moleculares demostraron en primer lugar una alteración de material adicional en el cromosoma 11 que finalmente fue posible determinar una trisomía 10p y monosomía 11q.

La aberración cromosómica que más frecuentemente causa una trisomía 10p pura es una translocación que involucre el brazo corto del cromosoma 10 y el brazo corto de un cromosoma acrocéntrico. Existen pocos casos puros reportados ya que la mayoría presentan monosomía de otra región cromosómica por ser derivados de translocaciones recíprocas⁴⁴.

En la región de 25.5 Mb de la región 10p12.1-pter se encuentran 90 genes, de los cuales 74 cuentan con número MIM, en la Tabla 2 se describe la localización de algunos de estos genes relevantes por ejemplo porque alguno de ellos ha sido relacionado con retraso del desarrollo.

Tabla 2: Genes en la región 10p12.1-pter.^{53, 54}

Locus	Gen	MIM	Función/Producto codificado
10p15.3	<i>IDI1</i>	*604055	Asociado a adrenoleucodistrofia neonatal.
10p15.3	<i>ZMYND11</i>	*608668	Correpresor de la transcripción. Relacionado con retraso mental autosómico dominante.
10p15.1	<i>IL15RA</i>	*601070	Se ha asociado con leucemia linfocítica granular de células T grandes.
10p15.1	<i>IL2RA</i>	*147730	Se ha asociado con linfoma de Burkitt. Participa en la regulación inmune.
10p14	<i>GATA3</i>	*131320	Activador transcripcional que se une a los potenciadores de los genes para receptores alfa y delta de las células T. Se ha relacionado con hipoparatiroidismo, sordera neurosensorial y displasia renal.
10p13	<i>PHYH</i>	*602026	Relacionado con enfermedad de Refsum (AR), alteración del metabolismo de lípidos que se caracteriza por retinitis pigmentosa, neuropatía periférica, ataxia cerebelar y elevación de proteínas en el LCR.
10p13	<i>SEPHS1</i>	*600902	Sintetiza selenofostatos a partir de selenio y ATP. Alteración en este gen se han relacionado a esquizofrenia.

10p13	<i>PRPF18</i>	*604993	Participa en el segundo paso de procesamiento del pre mRNA. Se ha relacionado con queratosis palmo-plantar.
10p13	<i>ITGA8,</i>	*604063	Desarrollo del riñón y probablemente otros órganos en los que regula el reclutamiento de células mesenquimales en epitelios estructurales. Se ha asociado a aplasia/hipoplasia renal.
10p12.33- p12.31	<i>CACNB2</i>	*600003	Sub unidad beta de canal de calcio dependiente de voltaje. Mutaciones heterocigotas se han asociado con el síndrome de Brugada.
10p12.31	<i>ST8SIA6</i>	*610139	El ácido siálico es determinante en la formación de oligosacáridos involucrados en la comunicación celular, interacción celular, adhesión y marcaje de proteínas. <i>ST8SIA6</i> pertenece a una familia de sialiltransferasas que sintetizan sialilconjugados.
10p12.31	<i>NEBL</i>	*605491	Se une a la actina y juega un importante rol en el ensamblaje de discos Z.
10p12.31	<i>MLLT10</i>	*602409	Se ha asociado con enfermedades como leucemia aguda bifenotípica y leucemia aguda linfoblástica de células T.
10p12.2	<i>OTUD1</i>	*612022	Enzima de deubiquitinización que específicamente hidroliza el aminoácido Lys-63 de unión a poliubiquitina a monoubiquitina.
10p12.32	<i>ARHGAP21</i>	*609870	Funciona como proteína activadora de GTPasa para RHOA y CDC42. Similar a ARF1 parece que también participa en el control y función del aparato de Golgi.
10p12.1	<i>PRTFDC1</i>	*610751	Actividad fosforibosiltransferasa muy baja. Une GMP, IMP y alfa-D-5-fosforibosil 1-pirofosfato.
10p12.1	<i>ENKUR</i>	*611025	Adaptador que funciona localizando señales sensibles a calcio de la maquinaria de transducción del esperma a un canal permeable al ión calcio.
10p12.1	<i>THNSL1</i>	*611260	Sintetasa de treonina. En el ratón muestra expresión preferencial en glándulas endocrinas.
10p12-p11.2	<i>SPAG6</i>	*605730	Importante en la integridad estructural del aparato central de la cola del esperma y la motilidad flagelar.

La región deletada en este paciente en 11q25-qter correspondía a solo una Mb de extensión, en ella se encuentran 9 genes de los cuales 6 cuentan con número MIM, en la Tabla 3 se describe la localización de estos genes y sus funciones identificadas.

Tabla 3: Genes en la región 11q25-qter.^{53, 54}

Locus	Gen	MIM	Función/Producto codificado
11q25	<i>JAM3</i>	*606871	Participa en la adhesión célula-célula. Es un receptor que responde a ITGAM (Integrina M alfa), mediando las interacciones leucocito-plaqueta y está involucrada en la regulación de la migración transepitelial de neutrófilos polimorfonucleares. Su forma soluble es mediador de la angiogénesis. Su alteración homocigota se ha relacionado con destrucción hemorrágica del cerebro, calcificaciones subependimarias y catarata congénita.
11q25	<i>NCAPD3</i>	*609276	Subunidad reguladora del complejo de condensina 2, un complejo que establece la arquitectura cromosómica durante mitosis y está involucrado en la rigidez física del eje de las cromátidas.
11q25	<i>VPS26B</i>	*610027	Probable componente del complejo retromer, un complejo que es necesario para recuperar receptores de enzimas lisosomales del endosoma a través de la maquinaria del aparato de Golgi.
11q25	<i>THYN1</i>	*613739	Une de manera específica 5-hidroximetilcitosina.
11q25	<i>ACAD8</i>	*604773	Deshidrogenasa de isobutiril-CoA que participa en el catabolismo de valina.
11q25	<i>B3GAT1</i>	*151290	Involucrado en la síntesis del carbohidrato epitope L2/HNK-1. Presente en moléculas de adhesión que participan en el neurodesarrollo.

Las características fenotípicas de los casos reportados en la literatura presentan un amplio rango de manifestaciones, ya que la presentación de dichas alteraciones depende de los cromosomas involucrados, la región afectada y la función de los genes en este *loci*. Esta es una de las razones por las que es complejo poder establecer un fenotipo característico asociado a las regiones cromosómicas específicas reportadas en este caso, ya que se trata de un paciente que presenta

tanto una trisomía parcial de 10p12.5-pter como la monosomía parcial de 11q25-qter, teniendo entonces una sobreposición de los fenotipos asociados de cada región.

Desde la primera descripción de la trisomía 10p, se han reportado más de 60 casos que no se encuentran en forma de mosaicos. La expresión fenotípica depende del tamaño del segmento trisómico y/o del involucro de otro cromosoma. Los rasgos descritos incluyen discapacidad intelectual, dismorfias, pie equino varo, retraso del desarrollo y crecimiento, además de alteraciones cardíacas, renales y oculares. Los casos con reporte de trisomía 10p pura son pocos, en la Tabla 4 se comparan los casos de trisomía 10p pura con nuestro paciente.^{59,77}

La mayoría de los casos reportados de trisomía 10p están representados por productos desbalanceados causados por un rearrreglo familiar balanceado. Sin embargo, gracias a los casos de trisomía 10p pura, se han podido delinear las características fenotípicas de esta alteración cromosómica. Muy pocos reportes han descrito el curso clínico de estos pacientes ya que la mayoría muere tempranamente. Sin embargo el retraso del desarrollo y discapacidad intelectual ya han sido previamente descritos como características clínicas en pacientes desde los 3 meses a los 13 años de edad (Tabla 4).⁶⁹

Tabla 4. Casos con trisomía 10p completa pura.

Características	Hustinx, <i>et al.</i> 1974 ⁸⁶	Nakagome Y, <i>et al.</i> 1975 ⁷⁰	Yunis, <i>et al.</i> 1975 ⁷⁵	De Chieri P, <i>et al.</i> 1978 ⁷³		Dallapiccola, <i>et al.</i> 1981 ⁷⁵	Gonzalez CH <i>et al.</i> 1983 ⁵⁵	Snyder FF, <i>et al.</i> 1984 ⁵⁷	Schwartz S, <i>et al.</i> 1984 ⁷²	Orye E, <i>et al.</i> 1985 ⁵⁶	Rivera H, <i>et al.</i> 1992 ⁵⁸	Clement JS, <i>et al.</i> 1996 ⁴⁹	Berend SA, <i>et al.</i> 1999 ⁵⁹	Granata P, <i>et al.</i> 2000 ⁷⁵	Gunduz C, <i>et al.</i> 2003 ⁷¹	Lozic B, <i>et al.</i> 2012 ⁵¹	Vidale S, <i>et al.</i> 2014 ⁷⁶	TOTAL	Presente caso
	Segmento trisómico (Bandas G)	p10?-pter ^I	p11-pter ^{II}	p11-pter ^{III}	p11-pter ^{IV}	p11-pter ^V	p12-pter ^{VI}	p11-pter ^{VII}	p10-pter ^{VIII}	p11.1-p15.3 ^{IX}	p10-pter ^X	p11.1-pter ^{XI}	p11.1-pter ^{XII}	p11.1-pter ^{XIII}	p11.1-pter ^{XIV}	p11-pter ^{XV}	p10-pter ^{XVI}	p11-pter ^{XVII}	17/17
FISH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	5/17	+
Sexo	F	F	M	M	F	F	F	M	M	M	F	F	F	M	M	F	M	9F – 8M	M
Edad	48 h	22 SDG	38 SDG	5 a	3 a	37 SDG	3 m	2 m	8 m	1 m	5 m	20 SDG	2 s	13 a	21 SDG	12 m	16 m	20 SDG – 13 a	13 a
RCIU	+	-	+	-	-	+	+	+	-	NR	-	-	-	-	+	+	+	8/16	-
RDPM	NA	NA	NA	+	+	NA	+	NR	+	NR	NA	NA	NR	+	NA	+	+	7/7	+
RC	+	NR	+	+	+	+	-	+	NR	NR	NR	NA	-	+	NA	+	NR	7/10	-
Hiperactividad, agresividad	NA	NA	NA	NR	NR	NA	NR	NR	NR	NR	NR	NA	NR	+	NA	NR	NR	1/1	+
Hipotonía	+	NA	NA	+	+	NA	+	+	+	+	+	NA	+	+	NA	+	+	12/12	-
Microcefalia	NR	NR	NR	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	10/14	-
Dolicocefalia	NR	NR	NR	NR	NR	+	+	+	+	+	NR	-	+	+	+	+	NR	8/10	+
Fontanelas amplias	+	NR	NR	NR	NR	+	+	+	-	+	NR	-	+	+	NR	+	+	9/11	-
Cuerpo calloso ^a	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	+	NR	NR	-	1/2	+
CC	NR	NA	NA	+	+	NA	NR	NR	+	NR	NR	NA	NR	+	NA	NR	+	5/5	+
Hipoacusia	NR	NA	NA	NR	NR	NA	NR	NR	+	NR	NR	NA	NR	NR	NA	NR	+	2/2	-
FP ^b	+	+	NR	+	+	+	+	-	+	NR	+	+	-	+	+	+	+	12/15	+
Mejillas prominentes	NR	NR	NR	-	-	NR	NR	-	-	NR	NR	-	+	-	-	+	+	3/10	+
Anomalía nasal ^c	+	+	+	+	+	+	+	+	-	NR	NR	+	-	-	+	+	+	12/15	+
Anomalías bucales ^d	NR	+	+	+	+	+	+	+	-	NR	NR	-	+	+	+	-	+	11/14	-
PH, alto o arqueado	+	+	+	+	-	NR	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	13/16	-
Micrognatia	+	+	NR	-	-	NR	+	+	-	+	NR	-	+	-	+	-	+	8/14	+
PA ^e	+	+	NR	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	NR	14/15	+
APM	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	-	NR	NR	NR	NR	NR	0/1	+
CP ^f	+	NR	NR	-	NR	NR	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	NR	6/11	-
AG ^g	NR	+	+	NR	NR	NR	-	+	+	NR	NR	-	NR	+	+	NR	NR	6/8	-
Anomalía de la flexibilidad	+	NR	NR	NR	NR	NR	NR	+	+	+	NR	+	-	-	NR	+	+	7/9	+
Anomalías esqueléticas ^h	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	-	+	NR	NR	+	-	-	-	NR	+	3/7	-
Clinodactilia	NR	NR	NR	+	+	NR	+	+	+	NR	NR	-	+	+	-	NR	NR	7/9	-
Anomalías en pies ⁱ	+	+	+	+	-	NR	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	13/15	+
Cutis marmorata	NR	NR	NR	NR	NR	NR	+	-	-	NR	NR	-	+	NR	-	+	NR	3/7	-

+: Característica presente, -: Característica ausente, APM: Agenesia de pectoral mayor, AG: Alteración genitourinaria, a: años, CC: Crisis convulsivas, CP: Cardiopatía, F: Femenino, FP: Fisuras palpebrales, h: horas, M: Masculino, m: meses, NA: No aplica, NR: No reportado, PA: Pabellones auriculares, PH: Paladar hendido, RC: Retraso del crecimiento, RDPM: Retraso del desarrollo psicomotor, RCIU: Restricción del crecimiento intrauterino, s: semanas, SDG: Semanas de gestación. ^a: Adelgazamiento, agenesia. ^b: Hipertelorismo, descendentes. ^c: Puente nasal plano, narinas antevertidas. ^d: Comisuras bucales descendentes, labios delgados. ^e: Baja implantación, apéndices. ^f: Defectos del septo auricular o ventricular. ^g: Agenesia renal, quistes renales, hipospadias, criptorquidia. ^h: Displasia de cadera bilateral, hemivértebras, camptodactilia. ⁱ: Pie equino varo, alteración en metatarsos. ^I: 46,XX,der(14)t(10p?;14p?)mat. ^{II}: 46,XX,der(22)t(10;22)(p11;p11)mat. ^{III}: 46,XY,+der(21)t(10;21)(10pter→10p11::21p11→21pter). ^{IV}: 46, XY,der(22)t(10;22)(p11;p11). ^V: 46, XX,der(22)t(10;22)(p11;p11-qter). ^{VI}: 46,XX,+der(21)t(10;21)(p12;p11)mat. ^{VII}: 46,XX,der(14),t(10;14)(p11;p12)mat. ^{VIII}: 47,XX,+10p. ^{IX}: 46,XY,inv dup(10)(qter→p15.3::p15.3→p11.1.). ^X: 46,XY,t(10;14)(p10;p12). ^{XI}: 46,XX, -6, -10, +der(6)t(6;10)(p25;q11),+i(10p). ^{XII}: 46,XX,inv(10)(pter→::cen→p15::q11→qter). ^{XIII}: 46,XX,i(10)(p10),der(14)t(10;14)(q10;p10). ^{XIV}: 46,XY,der(22)t(10;22)(p10q10). ^{XV}: 46,XY,der(13)t(10;13)(p11;p11)mat. ^{XVI}: 47,XX + fis(10)(p10)mat. ^{XVII}: 46,XY,der(14)t(10;14)(p11;p11)pat.

En la Tabla 4 se pueden apreciar distintos mecanismos de origen de esta alteración cromosómica, la mayoría, como se mencionó antes, es la debida a productos de translocaciones que involucran al cromosoma 10 y un cromosoma acrocéntrico, pero también están presentes rearrreglos como duplicación del brazo corto del cromosoma 10 o formación de un isocromosoma de 10p. Los 17 casos comparados en la tabla 4 se encuentran en un rango de edad que va de las 20 semanas de gestación (SDG) a los 13 años de edad; en cuanto al sexo de los pacientes se reportan 9 mujeres y 8 hombres. En todos se realizó estudio de cariotipo, lo que permitió detectar la trisomía 10p pura y en 7 de los 16 casos se pudo corroborar con estudio de FISH. Solo en el caso que se describe en esta tesis se realizó estudio con microarreglo de alta densidad.

En la mayoría de los casos no se realizó un seguimiento del paciente a largo plazo ya que la trisomía 10p tiene un pronóstico pobre y muchos de los pacientes fallecen tempranamente debido a complicaciones de sus malformaciones congénitas. Muchos de los diagnósticos de esta alteración se han realizado de manera prenatal o en productos de aborto, siendo esto cada vez más común ya que los métodos prenatales de estudio se han vuelto cada vez más accesibles para la población en general, lo que permite detectar alteraciones de manera temprana. Como ejemplo de estos casos están los reportados por *Nakagome et al [1975]*⁷⁰, *Clement et al [1996]*⁴⁹ y *Gunduz et al [2003]*⁷¹, en los cuales el diagnóstico se dio de manera prenatal y posteriormente reportaron los rasgos fenotípicos encontrados en los fetos.

En los casos de la Tabla 4 se puede observar que dentro de las características más constantes está el retraso psicomotor presente en 7 de 7 casos, además del paciente estudiado en esta tesis, se excluyen los casos de productos de abortos y en los cuales esta característica no se reportó. Otras características con prevalencia alta fueron: la hipotonía presente en 12 de 13 casos, las crisis convulsivas en 5 de 5 casos y el pie equino varo bilateral reportado en 13 de 15 casos.

En cuanto a las características faciales características se incluye la tendencia a la dolicocefalia, microcefalia, anomalías de las fisuras palpebrales (descendientes, hipertelorismo), anomalías nasales (puente nasal plano, narinas antevertidas), anormalidades de la boca (comisuras labiales descendentes, labios delgado), paladar hendido/arqueado. Dentro de las alteraciones del sistema nervioso central, solo se realizó estudio de neuroimagen en 2 de los casos de la Tabla 4 y solo en uno de ellos⁷⁵, al igual que en nuestro paciente, se encontró la hipoplasia de cuerpo calloso. En el

caso de *Vidale et al* [2014]⁷⁶, se realizó estudio de neuroimagen en el paciente, sin embargo, no se encontraron alteraciones estructurales.

El caso reportado por *Granata et al* [2000]⁷⁵, tiene la similitud con nuestro paciente en la edad de 13 años, siendo el único caso con un seguimiento por varios años. Además en este paciente se diagnosticó alteración del comportamiento y al igual que en nuestro paciente, presentaba trastorno de déficit de atención e hiperactividad (TDAH). Lo anterior nos podría hacer considerar que la trisomía 10p predispone a alteraciones del comportamiento en pacientes que sobreviven hasta la segunda década de vida, sin embargo, es difícil asegurarlo ya que no hay muchos casos de pacientes de ese grupo de edad y alteración cromosómica en la literatura.

Se han reportado también casos con cardiopatías congénitas como los de *Snyder FF, et al.* [1984]⁵⁷, *Schwartz S, et al.* [1984]⁷², *Orye E, et al.* [1985]⁵⁶, *Rivera H, et al.* [1992]⁵⁸, *Berend SA, et al.* [1999]⁵⁹ y *Lozic B, et al.* [2012]⁵¹ en los cuales el principal defecto fue a nivel del septo tanto auricular como ventricular, si bien es interesante este dato por el número de casos reportados, nuestro paciente no presentó cardiopatía.

De manera similar, se han reportado casos con alteración urogenital (agenesia renal, quistes renales, hipospadias y criptorquidia) en los que se incluyen los reportes de *Nakagome Y, et al.* [1975]⁷⁰, *Snyder FF, et al.* [1984]⁵⁷, *Schwartz S, et al.* [1984]⁷², *Granata P, et al.* [2000]⁷⁵, y *Gunduz C, et al.* [2003]⁷¹, sin embargo, en nuestro paciente tampoco se manifestaron alteraciones a estos niveles.

Una característica que solo se describió en nuestro paciente es la agenesia de pectoral mayor derecho, este rasgo no está descrito en ninguno de los casos revisados en la Tabla 4, esto puede ser debido a que muchos de los casos fallecen de manera temprana y son pocos los casos en los que el seguimiento se puede dar a largo plazo y evaluar una característica como el desarrollo pectoral normal.

Continuando con el estudio de las características fenotípicas y su relación con el genotipo, se hizo la comparación con casos con trisomía parcial 10p pura, la cual se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5. Casos con trisomía parcial 10p pura.

Características	Fryns JP <i>et al</i> , 1979 ⁷⁷	Stone D <i>et al</i> , 1996 ⁷⁸		Benzacken B <i>et al</i> , 1998 ⁷⁹	Mégarbané A <i>et al</i> , 2001 ⁸⁰	TOTAL	Presente caso
Segmento 10p trisómico (Bandas G)	p12-pter ^I	p14p15-pter ^{II}	p14p15-pter ^{III}	p14-pter ^{IV}	p11.2-p12 ^V	5/5	p12.1-pter
FISH	-	+	+	+	+	4/5	+
CGH	-	-	-	+	+	2/5	-
Sexo	F	F	F	F	M	4F – 1M	M
Edad	21 a	13 a	10 a	15 d	30 a	15 d – 30 a	13 a
RCIU	-	-	-	-	-	0/5	-
RDPM	+	-	-	+	+	3/5	+
RC	-	-	-	+	-	1/5	-
Hiperactividad, agresividad	+	NR	NR	NR	-	1/2	+
Hipotonía	-	-	-	+	+	2/5	-
Microcefalia	+	-	-	-	-	1/5	-
Dolicocefalia	-	-	-	-	-	0/5	+
Cuerpo calloso ^a	NR	NR	NR	NR	-	0/1	+
CC	NR	NR	NR	NR	-	0/1	+
Alteración visual ^b	-	+	-	NR	-	1/4	-
FP ^c	+	+	+	+	+	5/5	+
Mejillas prominentes	-	-	-	NR	-	0/4	+
Anomalía nasal ^d	+	+	+	+	-	4/5	+
Anomalías bucales ^e	+	+	+	+	+	5/5	-
PH, alto o arqueado	-	-	-	-	+	1/5	-
Retrognatia	-	-	-	-	+	1/5	+
PA ^f	-	+	+	+	-	3/5	+
APM	NR	NR	NR	NR	NR	0/0	+
CP ^g	-	-	-	-	-	0/5	-
Anomalía de la flexibilidad	NR	NR	NR	NR	NR	0/0	+
PPT	+	NR	NR	-	-	1/3	-
Anomalías en pies ^h	-	-	-	-	-	0/5	+
Deficiencia de IgG	NR	+	+	NR	-	2/3	-

+: Característica presente, -: Característica ausente, APM: Agenesia de pectoral mayor, AG: Alteración genitourinaria, a: años, CC: Crisis convulsivas, CP: Cardiopatía, F: Femenino, FP: Fisuras palpebrales, M: Masculino, NR: No reportado, PA: Pabellones auriculares, PH: Paladar hendido, PPT: Pliegue palmar transversal, RC: Retraso del crecimiento, RDPM: Retraso del desarrollo psicomotor, RCIU: Restricción del crecimiento intrauterino. ^a: Adelgazamiento, agenesia. ^b: Fotofobia, esotropía, neuropatía óptica. ^c: Hipertelorismo, descendentes. ^d: Puente nasal plano, narinas antevertidas. ^e: Comisuras bucales descendentes, labios delgados. ^f: Baja implantación, apéndices. ^g: Defectos del septo auricular o ventricular. ^h: Pie equino varo, alteración en metatarsos. ^I: 46,XX,dup(10p)(pter→p12::p12::p12→qter). ^{II y III}: 46,XX,-9,+der(9). ^{IV}: 46,XX,add(6)(p25).ish der(6)t(6; 10)(p25;p14)(wcp6 + ,wcp10 + ;wcp6 - ,wcp10 +). ^V: 46,XY,dup(10)(p11.2p12.2).

En los casos de la Tabla 5 se puede apreciar que la región triplicada ha sido descrita con distinta extensión y en general se observa que mientras menor sea el tamaño de la región trisómica, menor fue el impacto de las características clínicas en el paciente de que se trate. Un dato que llama mucho la atención cuando comparamos las Tablas 4 y 5, es que en relación a la segunda se observa que en la mayoría de los casos son pacientes de más de 10 años de edad, esto concuerda con el hecho de que al tener menos alteraciones o malformaciones congénitas por ende se tiene un mejor pronóstico con estos pacientes. Dentro de las características más prevalentes en la trisomía parcial 10p se encuentran el RDPM, alteración de las fisuras palpebrales, anomalías nasales y alteraciones de los pabellones auriculares; en general malformaciones menores.

Los casos reportados en el estudio de *Stone D et al*, [1996]⁷⁸, llaman la atención ya que presentaron deficiencia de IgG, característica que no se presentó en otros pacientes en esta tabla y tampoco se menciona en los estudios en pacientes estudiados en la tabla 4. Estas hermanas necesitaban transfusiones periódicas de IgG para evitar el riesgo de presentar infecciones recurrentes. Dentro de la región afectada en estos casos se encuentran dos genes relacionados con la respuesta inmune: *IL2RA* y *GATA3* (Tabla 2). No se sabe si la duplicación de estos genes sea el responsable de las alteraciones inmunológicas además de que no es un rasgo reportado incluso en los casos con trisomía 10p completa.

Resulta complejo poder establecer la relación de una región triplicada con cierta característica clínica, ya que es necesario estudiar múltiples casos similares para finalmente poder tener alguna región definida como causante un fenotipo particular. En el caso de *Mégarbané A et al*, [2001]⁸⁰, se revisa la relación fenotipo-genotipo y dado que su caso fue el único en donde se presentaron la retrognatia y paladar arqueado, se ha propuesto a la región 10p11.2-p12 como la candidata para estas malformaciones menores, sin embargo, como se mencionó antes son necesarios más estudios para poder definir esto.

Comparando el pronóstico entre ambas presentaciones clínicas de la trisomía 10p parcial y completa, se puede deducir que mientras menor sea la región afectada esto se traducirá en un mejor pronóstico al tener un menor desbalance en cuanto al total de material genético.

De igual manera que con la trisomía 10p pura, los casos de monosomía 11q25 son muy raros. En la Tabla 6 se realiza la comparación del fenotipo y alteración cromosómica en nuestro paciente con casos con deleciones terminales de 11q.

Se comparan 10 casos que presentan distintos puntos de ruptura, estos van desde 11q24.1 a qter, 11q25 a qter y solo un caso con deleción intersticial de 11q24.2 a q24.3. Las edades de los pacientes van desde los 7 meses a los 47 años, con mayor número de pacientes femeninos (6/10). Dentro de las características más prevalentes en este grupo de pacientes se encuentran las siguientes: RDPM, alteración en la forma de cráneo, alteración en las fisuras palpebrales, anomalías nasales y trombocitopenia. En los 3 pacientes en los que se realizó estudio de neuroimagen se pudieron detectar alteraciones dentro de las que se encuentran hipoplasia del cuerpo calloso e hiperintensidades de la sustancia blanca. El estreñimiento crónico fue un dato que solo se encontró en los 3 pacientes que corresponden al caso familiar reportado por *Bernaciak J et al*, [2008]⁶³.

Dos casos comparten el punto de ruptura con nuestro paciente, el primero está dentro del grupo de pacientes estudiados por *Penny LA et al*, [1995]⁸². En este caso se trata de una paciente femenina de 18 años edad con deleción terminal de la región 11q25-qter de origen paterno, que presentaba retraso del desarrollo psicomotor, hipertelorismo, puente nasal plano, narinas antevertidas, anomalías de pabellones auriculares, defecto del septo ventricular, hipoplasia renal y trombocitopenia. Comparte con nuestro paciente el RDPM y dismorfias, en nuestro caso no se presentaron alteraciones cardíacas, renales o hematológicas.

El segundo caso con punto de ruptura a nivel de 11q25 es el reportado por *Ji T et al*, [2010]⁸³ y se refiere a un paciente masculino de 7 meses de edad que presentaba también RDPM, antecedente de RCIU, microcefalia dismorfias y alteración cerebral. En dicho paciente se pudieron hacer estudios de CGH donde se obtuvo el tamaño de la región deletada que correspondió a 4.1 Mb en la región 11q25. En esta región se encuentran 21 genes de los cuales 14 tienen expresión cerebral. Los genes *SNX19*, *THYN1* (MIM: 613739), *OPCML* (MIM: 600639), *NCAPD3* (MIM: 609276) y *NTM* (MIM: 607938) (Tabla 3) se proponen como genes candidato debido a su función en el sistema nervioso central, dentro de las que se encuentran unión a fosfato de inositol, participación en el ensamblaje y segregación cromosómica, crecimiento de neuritas y regulación de apoptosis.⁸³

Tabla 6. Características de la deleción terminal 11q

Características	O'Hare A <i>et al</i> , 1984 ⁸¹	Penny LA <i>et al</i> , 1995 ⁸²				Bernaciak J <i>et al</i> , 2008 ⁶³			Tyson C <i>et al</i> , 2008 ⁶²	Ji T <i>et al</i> , 2010 ⁸³	TOTAL	Presente caso
	q24.1	q24.2	q24.1	q24.2qs	q25	q24.3	q24.3	q24.3	q24.2-24.3	q25		
Región 11q monosómica	q24.1	q24.2	q24.1	q24.2qs	q25	q24.3	q24.3	q24.3	q24.2-24.3	q25	10/10	q25
Edad	1a 6m	2a 5m	5a 5m	15 a	18 a	4 a	42 a	47 a	7 a	7 m	7 m – 47 a	13 a
Sexo	F	M	F	F	F	F	F	M	M	M	6F – 4M	M
Origen de la deleción	Paterna	Paterna	Paterna	NR	Paterna	Materna	NR	NR	<i>De novo</i>	NR		<i>De novo</i>
RCIU	-	-	-	+	-	-	NR	NR	-	+	2/8	-
RDPM	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	9/10	+
Hiperactividad, agresividad	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0/0	+
Forma del cráneo alterada ^a	+	NR	+	NR	NR	NR	NR	NR	+	+	4/4	-
Alteración neurológica ^b	NR	NR	NR	NR	NR	+	NR	NR	+	+	3/3	+
CC	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0/0	+
FP ^c	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	9/10	+
Mejillas prominentes	NR	NR	NR	NR	NR	-	-	-	-	NR	0/4	+
Facies tosca	NR	NR	NR	NR	NR	-	+	+	-	NR	2/4	
Cejas pobladas	NR	NR	NR	NR	NR	+	+	+	-	NR	3/4	
Anomalía nasal ^d	+	+	+	NR	+	+	+	-	+	+	8/9	+
Anomalías bucales ^e	+	+	NR	NR	NR	+	+	+	-	+	6/7	
Retrognatia	NR	NR	NR	NR	NR	-	-	-	-	NR	0/4	+
PA ^f	NR	+	NR	+	+	+	+	-	+	NR	6/7	+
APM	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0/0	+
CP ^g	+	+	+	NR	+	-	-	-	-	-	4/9	-
AG ^h	NR	+	NR	NR	+	-	-	-	-	-	2/7	-
Anomalía de la flexibilidad	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0/0	+
Clinodactilia del 5ºdedo	NR	NR	NR	NR	NR	+	-	-	+	NR	2/4	
Anomalías en pies ⁱ	NR	+	+	+	NR	-	-	-	-	-	3/8	+
Trombocitopenia / pancitopenia	+	+	+	+	+	-	-	-	NR	-	5/9	
Estreñimiento crónico	NR	NR	NR	NR	NR	+	+	+	NR	NR	3/3	-

+: Característica presente, -: Característica ausente, APM: Agenesia de pectoral mayor, AG: Alteración genitourinaria, a: años, CC: Crisis convulsivas, CP: Cardiopatía, F: Femenino, FP: Fisuras palpebrales, M: Masculino, NR: No reportado, PA: Pabellones auriculares, RDPM: Retraso del desarrollo psicomotor, RCIU: Restricción del crecimiento intrauterino. ^a: Trigonocefalia, microcefalia, macrocefalia. ^b: Adelgazamiento o agenesia del cuerpo calloso, hiperintensidades en sustancia blanca. ^c: Hipertelorismo, descendentes. ^d: Puente nasal plano, narinas antevertidas. ^e: Comisuras bucales descendentes, labios delgados. ^f: Baja implantación, apéndices, pits preauriculares. ^g: Defectos del septo ventricular, foramen oval permeable. ^h: Agenesia o hipoplasia renal, quistes renales, hipospadias, criptorquidia. ⁱ: Pie equino varo, alteración en metatarsos.

Considerando la información obtenida, se puede sugerir que el fenotipo y las dismorfias del paciente son ocasionadas en su mayoría por el efecto sinérgico de los genes en triple dosis localizados en el segmento trisómico del brazo corto del cromosoma 10 y que la monosomía en 11q causa alteraciones leves al fenotipo.

En la región 10p12.1-pter se encuentran 90 genes, de los cuales 74 cuentan con número MIM (Tabla 2). Estos genes tienen múltiples funciones dentro de las que se encuentran la regulación del ciclo celular, regulación del crecimiento celular, regulación de desarrollo de tejido específico, entre otros; además algunos se han relacionado con varias enfermedades como hiperparatiroidismo, displasia renal, glaucoma (*GATA3*), diabetes (*IDDM10*), inmunodeficiencia (*DCLRE1C*) y enfermedad de Refsum (*PHYH*), mientras que las crisis convulsivas se han asociado con un locus en el brazo largo (10q23-q24: epilepsia lateral temporal autosómica dominante).

En el paciente discutido en esta tesis la presencia de crisis convulsivas puede relacionarse directamente con las lesiones patológicas en cerebro (agenesia de cuerpo caloso) así como alteraciones del desarrollo normal cerebral, consecuencia de la aberración cromosómica que presenta. En los casos previos reportados no se tiene una relación clara de que región cromosómica está relacionada con la presencia de cierta característica fenotípica, es por eso que son necesarios más estudios para delimitar las regiones determinantes del fenotipo, lo cual también es parte de los objetivos de este estudio.

En la literatura no se encontró un caso que correspondiera con el rearrreglo complejo exacto de nuestro paciente en relación a cromosomas involucrados y los puntos de ruptura identificados. Aunque existen casos que involucran a los cromosomas 10 y 11, las alteraciones que se reportan son de trisomía del cromosoma 11 con monosomía del 10, lo que es contrario a lo que se observa en nuestro paciente. Un ejemplo reciente de este tipo de reportes es el de Hagen A *et al*, [2011]⁸⁷, en el cual se estudia a una paciente femenina con delección de aproximadamente 3.46 Mb a nivel de 10p15.3p15.2 y una ganancia de aproximadamente 32.21 Mb a nivel de 11q22.2q25. La paciente presentaba un síndrome caracterizado por discapacidad intelectual severa, retraso del crecimiento, hipotonía, coloboma de iris, pabellones auriculares dismórficos, teletelia, defecto del septo atrial, pie equino varo, escoliosis y artrogriposis congénita múltiple. Si comparamos estos datos con nuestro paciente podemos apreciar que difieren mucho, nuestro paciente manifiesta una

discapacidad intelectual moderada, presenta dismorfias menores y no presenta retraso del crecimiento ni hipotonía. El rasgo que tienen en común es el de que ambos presentaron pie equino varo bilateral, si bien en ambos estaban los mismos cromosomas involucrados es importante volver a señalar que en el caso de la paciente publicada la alteración cromosómica correspondía a una monosomía 10p y una trisomía 11q que es diferente a lo reportado en nuestro paciente.

La alteración en nuestro paciente al ser *de novo* muy probablemente fue secundaria a un evento de recombinación no homóloga en alguna de las meiosis que originaron los gametos de los padres del paciente, lo que produjo la trisomía parcial 10p y la monosomía parcial 11q. Por ello se puede otorgar un riesgo de menos del 1% de que se repita esta alteración a los padres del paciente.

Cuando se considera el riesgo para el paciente tomando en cuenta que tiene una discapacidad intelectual moderada, al ser portador de una alteración cromosómica desbalanceada constitutiva la meiosis masculina posiblemente favorecería la apoptosis y por lo tanto tener un conteo bajo de espermatozoides e incluso ser infertil.⁸⁸ Sin embargo, no se puede descartar que nuestro paciente sea infértil y ya que posee una alteración cromosómica compleja se llegó a la conclusión que en caso de que sea fértil podría formar 2 bivalentes durante la meiosis con lo cual el paciente tendría un riesgo del 50% de formar gametos anormales.

8.- Conclusiones

En esta tesis se analiza el caso de un paciente con una alteración cromosómica que consiste en una trisomía parcial 10p12.1-pter y una monosomía parcial 11q25-qter. Mediante el estudio de microarreglos de alta densidad y posteriormente corroborándose por FISH se pudo determinar la zona con ganancia y la zona con pérdida de material genético.

Se revisaron 10 años (2004-2013) de reportes de cariotipo en el Hospital Infantil de México Federico Gómez, encontrando que las alteraciones de los cromosomas 10 y/o 11 son raras, presentándose en un 0.9% del total de cariotipos alterados reportados en dicho periodo.

Con lo presentado en este caso y en base a los estudios realizados y en comparación a la literatura se puede apreciar como la mayoría de las características clínicas del paciente corresponden a la trisomía parcial de 10p12.1→pter y que la monosomía 11q25→qter tiene un aporte muy pequeño en el fenotipo.

Se aprecia la importancia de realizar el estudio de cariotipo a todos los pacientes que cumplan con los criterios necesarios para su realización, así como de extender este estudio a la familia directa para confirmar o descartar que se trate de una alteración cromosómica causada por una alteración balanceada en alguno de los progenitores. Todo esto nos permite un mejor abordaje y poder ofrecer un adecuado asesoramiento a la familia.

La aportación de este caso es el de poder delimitar las regiones involucradas en el rearrreglo complejo gracias a los estudios de citogenética molecular realizados definiendo los *loci* de genes involucrados en esta región cromosómica, definiendo que en este caso la trisomía parcial 10p12.1→pter tuvo un mayor impacto en el fenotipo que la monosomía parcial de 11q25→qter. Con los datos anteriores se otorgó asesoramiento genético a la familia.

9.- Bibliografía.

- 1.- Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P, *et al.* Molecular biology of the cell. 4th edition. New York: Garland science; 2002. General principles of cell communication. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pbidi.unam.mx:8080/books/NBK26813/>
- 2.- Strachan T, Read A. Nucleic Acid Structure and gene expression. Analyzing the structure and expression of genes and genomes. Chromosome structure and function En: Human molecular genetics. Chapter 1 and 2. Garland publishing. 4th Edition; 2010.pp 1 – 60.
- 3.- Watson JD, Barker TA, Bell SP, Gann A, Levine M, Losick R. The structures of DNA and RNA. En: Molecular biology of the gene. Chapter 6. 5th ed; 2004. pp 97-128
- 4.- Speicher MR. Chromosome. *Encyclopedia of Life Sciences*. John Wiley & Sons, Ltd. 2006:1-8. doi: 10.1038/npg.els.0005783.
- 5.- Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Genoma humano y las bases cromosómicas de la herencia. En: Thompson and Thompson. Genética en Medicina. Capítulo 2. Elsevier. 2008.
- 6.- Eissenberg JC, Elgin SCR. Heterochromatin and euchromatin. *Encyclopedia of Life Sciences*. John Wiley & Sons, Ltd. 2005:1-6. doi: 10.1038/npg.els.0003844
- 7.- Paweletz N. Walter. Flemming: pioneer of mitosis research. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*. January 2001;2:72-75.
- 8.- Moore MC, Best GR. Chromosome preparation and banding. *Encyclopedia of Life Sciences*. John Wiley & Sons, Ltd. 2001:1-7. doi: 10.1038/npg.els.0001444
- 9.- Thadani R, Uhlmann F, Heeger S. Condensin, chromatin crossbarring and chromosome condensation. *Curr Biol*. 2012;22:R1012-21.
- 10.- Tjio JH, Levan A. The chromosome number of man. *Hereditas*. 1956;42: 1-6.
- 11.- Keagle MB. DNA, chromosome and cell division. En: Gersen SL, Keagle MB. The principles of clinical cytogenetics. Part II. Third Edition; 2013.pp: 9-22.
- 12.- Passarge E. En: Color atlas of genetics. Second edition. Thieme. New York. 2001, 173.
- 13.- Hirano T. At the heart of the chromosome: SMC proteins in action. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2006;7:311-322.
- 14.- Cortés-Ledezma F, Piccoli G, Haber J, Aragón L, Aguilera A. SMC proteins, new players in the maintenance of genomics stability. *Cell Cycle*. 2007;6:914-918.
- 15.- Przewloka MR, Glover DM. The kinetochore and the centromere: A working long distance relationship. *Annu Rev Genet*. 2009;43:439-465.

- 16.- Westhorpe GF, Straight FA. Functions of the centromere and kinetochore in chromosome segregation. *Curr Opin Cell Biol*. June 2013;25(3):334–340.
- 17.- Sullivan AB, Karpen HG. Centromeric chromatin exhibits a histone modification pattern that is distinct from both euchromatin and heterochromatin. *Nat Struct Mol Biol*. 2004;11(11):1076–1083.
- 18.- Fukugawa T, Earnshaw CW. The Centromere: Chromatin foundation for the kinetochore machinery. *Developmental Cell*. 2014;30:496-508.
- 19.- Lodish H, Berk A, Zipursky SL, *et al*. Molecular cell biology. 4th edition. New York: W. H. Freeman; 2000. Section 19.5, Microtubule dynamics and motor proteins during mitosis. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pbidi.unam.mx:8080/books/NBK21537/>
- 20.- Hansen NJ, Poole JC, Andrews LG, Tollefsbol TO. Telomerase: Structures and function. *Encyclopedia of life Science*. John Wiley & Sons, Ltd. 2005:1-6. doi: 10.1038/npg.els.0006167.
- 21.- Martin CL, Ledbetter DH. Molecular cytogenetic analysis of telomere rearrangements. *Curr Protoc Hum Genet*. 2015;84:8.11.1-8.11.15.
- 22.- Del Castillo RV, Hernández U, Dulijh R, Zafra RG. *Genética clínica* 1ª ed. México; Manual Moderno; 2012.
- 23.- Stein GS, van Wijnen AJ, Stein JL, Lian JB, Owen TA. Cell cycle. *Encyclopedia of life Science*. John Wiley & Sons, Ltd. 2002:1-9. doi: 10.1002/9780470015902.a0001354.pub2.
- 24.- Kitonazo AA, Fitz Gerald NJ, Kron JS. Cell Cycle: Regulation by cyclins. *Encyclopedia of life Science*. John Wiley & Sons, Ltd. 2005:1-8. doi: 10.1038/npg.els.0004024.
- 25.- Lisker R, Zentella AD, Grether PG. Conceptos básicos de genética. En: Introducción a la Genética Humana. Capítulo 2. 3ª ed. Manual Moderno. México DF. 2013. pp 11-44.
- 26.- Cooper GM. The cell: A molecular approach. 2nd edition. Sunderland (MA): Sinauer Associates; 2000. Regulators of cell cycle progression. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pbidi.unam.mx:8080/books/NBK9962/>
- 27.-Hultén, Maj A. Meiosis. *Encyclopedia of Life Sciences*. John Wiley & Sons, Ltd. 2010:1-14. doi: 10.1002/9780470015902.a0005772.pub2.
- 28.-Peters JM, Hauf S. Meiosis and mitosis: Molecular control of chromosome separation. *Encyclopedia of life Science*. John Wiley & Sons, Ltd 2005:1-7. doi: 10.1038/npg.els.0005917.
- 29.- Duro E, Marston LA. From equator to pole: splitting chromosomes in mitosis and meiosis. *Gene Dev*. 2015;29:109–122.
- 30.- Shaffer GL. Karyotype interpretation. *Encyclopedia of life Science*. John Wiley & Sons, Ltd. 2005:1-7. doi: 10.1038/npg.els.0005778.
- 31.- de Klein A, Tibboel DA. Genetics. *Semin Pediatr Surg*. 2010;19:234-239.

- 32.- Trask BJ. Human cytogenetics: 46 chromosomes, 46 years and counting. *Nat Rev Gen.* 2002;3:769-778.
- 33.- van Ommen GJ, Breuning MH, Raap AK. FISH in genome research and molecular diagnostics. *Curr Opin Genet Dev.* 1995;5(3):304.
- 34.- Gole L. Fluorescence in situ hybridization. *Encyclopedia of life Science.* John Wiley & Sons, Ltd. 2001:1-7. doi
- 35.- Askree SH, Hegde MR. Array comparative genomic hybridization in cytogenetics and molecular genetics. En: Best DH, Swensen JJ. Eds. *Molecular genetics and personalized medicine.* Springer Science+Business Media, LLC 2012. pp 21-35
- 36.- Riegel M. Human molecular cytogenetics: From cell to nucleotides. *Genet Mol Biol.* 2014;37:1 (suppl), 194-209.
- 37.- Mölendick B, Stoecklein HN. Analysis of copy-number alterations in single cells using microarray-based comparative genomic hybridization (aCGH). *Curr Protoc Cell Biol.* 2014;22.19.1-22.19.23.
- 38.- Snijders AM, Nowak N, Segreaves R, Blackwood S, Brown N, Conroy J, *et al.* Assembly of microarrays for genome-wide measurement of DNA copy number. *Nat Genet.* 2001;29:263-264.
- 39.- Rare chromosome disorder support group, 2015. (Fecha de acceso: 12/04/2015) Disponible en: www.rarechromo.org (CONSULTA EN INTERNET).
- 40.- Taylor TyIH, Gitlin SA, Patrick JL, Crain JL, Wilson JM, Griffin DK. The origin, mechanism, incidence and clinical consequences of chromosomal mosaicism in humans. *Hum Reprod Update.* 2014; 20(4):571-581.
- 41.- Robinson PW, McFadden ED. Chromosomal genetic disease: Numerical aberrations. *Encyclopedia of life Science.* John Wiley & Sons, Ltd. 2002:1-7. doi
- 42.- Volders KM, Vanhauwaert Annelies, De Boeck M, Decordier I. Importance of detecting numerical versus structural chromosome aberrations. *Mutat Res.* 2002;504:137-148.
- 43.- Moore MC, Best GR. Chromosomal genetic disease: Structural aberrations. *Encyclopedia of life Science.* John Wiley & Sons, Ltd. 2001. doi: 10.1038/npg.els.0001452.
- 44.- Carey JC, Viskochil DH. Current status of the human malformation map. *Birth Defects Orig. Artic. Ser* 1996;32:13-33.
- 45.- Galan EG. Consejo genético. *Protoc diagn ter pediatr.* 2010;1:51-55.
- 46.- Deloukas P, Earthrowl ME, Grafham DV, Rubenfield M, French L, Steward CA, *et al.* The DNA sequence and comparative analysis of human chromosome 10. *Nature.* 2004;429:375-381.

- 47.- Cromosoma 10 y 11 (Fecha de acceso: 19/04/2015) Disponible en: <http://www.ensembl.org>.(CONSULTA EN INTERNET).
- 48.- Shaffer GL, McGowan-Jordan J, Schmid M. An international system for human cytogenetic nomenclature. S. Karger, Basel. 2013.
- 49.- Clement SJ, Leppig KA, Jarvik GP, Kapur RP, Norwood TH. Trisomy 10p. Report of an unusual mechanism of formation and critical evaluation of the clinical phenotype. *Am J Med Genet.* 1996;65:197-204.
- 50.- Goodman RM, Gorlin RJ. The Malformed infant and child: An illustrated guide. New York and Oxford: Oxford University Press, 1983.
- 51.- Lozic B, Culic V, Lasan R, Tomasovic M, Kuzmanic SR, Zemunik T. Complete trisomy 10p resulting from an extra stable telocentric chromosome. *Am J Med Genet Part A.* 2012;158A:1778–1781.
- 52.- Taylor DT, Noguchi H, Totoki Y, Toyoda A, Kuroki Y, Dewar K, *et al.* Human chromosome 11 DNA sequence and analysis including novel gene identification. *Nature.* 2006;440:497-500.
- 53.- GeneCards. The Human Gene Compendium. (Fecha de acceso: 19/04/2015). Disponible en: <http://www.genecards.org>
- 54.- Online Mendelian Inheritance in Man. An Online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders. Disponible en: <http://www.omim.org>.
- 55.- Gonzalez HC, Billerbeck AEC, Takayama LC, Wajntal A. Duplication 10p in a girl due to a maternal translocation (10;14)(p11;p12). *Am J Med Genet.* 1983;14:159–167.
- 56.- Orye E, Van Haesebrouck P, Van Coster R, Van Mele B. Trisomy 10p, due to an unusual translocation. *J Genet Hum.* 1985;33:63–66.
- 57.- Snyder FF, Lin CC, Rudd NL, Shearer JE, Heikkila EM, Hoo JJ. A *de novo* case of trisomy 10p: gene dosage studies of hexokinase, inorganic pyrophosphatase and adenosinekinase. *Hum Genet.* 1984;67:187–189.
- 58.- Rivera H, Rivas F. Isochromosome: duplication of 10p and translocation of 10q. *Am J Med Genet.* 1992;42:396–397.
- 59.- Berend SA, Shaffer LG, Bejjani BA. Pure trisomy involving an isochromosome 10p. *Clin Genet.* 1999;55:367-371.
- 60.- Jacobsen P, Hauge M, Henningsen K, Hobolth N, Mikkelsen M, Philip J. An (11;21) translocation in four generations with chromosome 11 abnormalities in the offspring. A clinical, cytogenetical, and gene marker study. *Hum Hered.* 1973;23:568–585.

- 61.- Takahashi I, Takahashi T, Sawada K, Shimojima K, Yamamoto T. Jacobsen syndrome due to an unbalanced translocation between 11q23 and 22q11.2 identified at age 40 years. *Am J Med Genet A*. 2012;158:220–223.
- 62.- Tyson C, Qiao Y, Harvard C, Liu X, Bernier FP, McGillivray B, *et al*. Submicroscopic deletions of 11q24-25 in individuals without Jacobsen syndrome: re-examination of the critical region by high-resolution array CGH. *Mol Cytogenet*. 2008;1:23.
- 63.- Bernaciak J, Szczaluba K, Dermwinska K, Wisniowiecka-Kowalnik B, Bocian E, Sasiadek MM, *et al*. Clinical and molecular cytogenetic evaluation of a family with partial Jacobsen syndrome without thrombocytopenia caused by an ~5 Mb deletion del(11)(q24.3). *Am J Med Genet A*. 2008;146A:2449-2454.
- 64.- Grossfeld DP, Mattina T, Lai Z, Favier R, Lyons JK, Cotter F, *et al*. The 11q terminal deletion disorder: A prospective study of 100 Cases. *Am J Med Genet*. 2004;129A:51–61.
- 65.- Medina CD, Villa MJ, García DC, Hernández AJ, Valencia MP, Sánchez UR, *et al*. Leucodistrofia metacromática con translocación 46,XX;t(10;18)(q22;q21). Presentación en poster, XXXII Congreso Nacional de Genética Humana. Oaxaca, Oax. 7-11 de noviembre, 2007.
- 66.- Quiroz LCM. (2011). Análisis clínico y citogenético molecular en pacientes con diagnóstico clínico de síndrome velocardiofacial atendidos en el Hospital Infantil de México Federico Gómez de Junio 2008 a Mayo. [Tesis]. UNAM. 2010.
- 67.- Barraza GJ. Experiencia de alteraciones estructurales del cromosoma 22 en el Hospital Infantil de México Federico Gómez en el periodo 1979-2009: presentación de dos casos. [Tesis]. UNAM. 2012
- 68.- Lichtner P, König R, Hasegawa T, Van Esch H, Meitinger T, Schuffenhauer S. An HDR (hypoparathyroidism, deafness, renal dysplasia) syndrome locus maps distal to the DiGeorge syndrome region on 10p13/14. *J Med Genet*. 2000;37:33–37
- 69.-Blennow E, Tillberg E. Small extra ring chromosome derived from chromosome 10p: clinical report and characterization by FISH. *J Med Genet*. 1996;33:399–402.
- 70.- Nakagome Y and Kobayashi H. Trisomy of the short arm of chromosome 10. *J Med Genet*. 1975;12:142-427.
- 71.- Gunduz C, Cogulu O, Sagol S, Zekioglu O, Ozkinay C, Ozkinay F. Prenatal detection of a pure trisomy 10p case. *Prenat Diagn*. 2003;23:352–358.
- 72.- Schwartz S, Cohen MM, Panny RS, Beisel HJ, Vora S. Duplication of chromosome of regional assignments of platelet-type phosphofructokinase. *Am J Hum Genet*. 1984;36:750-759.
- 73.- de Chieri P, Spatuzza E and Bonich JM. Brother and sister with trisomy 10p. *Hum Genet*. 1978;45:71-75.

- 74.- Moschonas NK. Human Chromosome 10. *Encyclopedia of the Human Genome*. Nature Publishing Group, London. 2003;1:618-625.
- 75.- Granata P, Mazzola D, Righi R, Minelli E, Salvatoni A, Baroli P, *et al.* Molecular cytogenetics, RFLP analysis and clinical characterization of a *de novo* trisomy 10p cases. *Ann Genet*. 2000;43:45 – 50.
- 76.- Vidale S, Di Palma F, Sironi L, Arnaboldi M. Neurophysiological findings in a newborn with chromosome 10 trisomy. *BMJ Case Rep*. 2014:1-3.
- 77.- Fryns JP, Deroover J, Haegeman, Van der Berghe H. Partial duplication of the short arm of chromosome 10. *Hum Genet*. 1979;47:217-220.
- 78.- Stone D, Ning Y, Guan XY, Kaiser-Kupfer M, Wynshaw-Boris A, Biesecker L. Characterization of familial partial 10p trisomy by chromosomal microdissection, FISH and microsatellite dosage analysis. *Hum Genet*. 1996;98:396-402.
- 79.- Benzacken B, Lapierre JM, Siffroi JP, Chalvon A, Tachdjian G. Identification and characterization of a *de novo* partial trisomy 10p by comparative genomic hybridization (CGH). *Clin Genet*. 1998;54:334-340.
- 80.- Mégarbané A, Gosset P, Souraty N, Lapierre JM, Korban R, Zahed L, *et al.* Chromosome 10p11.2-p12.2 duplication: Report of a patient and review of the literature. *Am J Med Genet*. 2001;104:204-208.
- 81.- O'Hare A, Grace E, Edmunds A. Deletion of the long arm of chromosome 11 [46,XXdel(11)(q24.1qter)]. *Clin Genet*. 1984;25:373-377.
- 82.- Penny AL, Aquila DA, Jones CM, Bergoffen JA, Cunniff C, Fryns JP, *et al.* Clinical and molecular characterization of patients with distal 11q deletions. *Am J Hum Genet*. 1995;56:676-683.
- 83.- Ji T, Wu Y, Wang H, Wang J, Jiang Y. Diagnosis and fine mapping of a deletion in distal 11q in two Chinese patients with developmental delay. *J Hum Genet*. 2010; 55:486-489.
- 84.- Fisch GS. Cognitive-behavioral characteristics and developmental trajectories in children with deletion 11qter (Jacobsen Syndrome), and their relation to deletion size. *Am J Med Genet Part A*. 2015;167A:45–53.
- 85.- Evers C, Janssen JW, Jauch A, Bonin M, Moog U. A small terminal deletion 11q in a boy without Jacobsen syndrome: Narrowing the critical region for the 11q Jacobsen syndrome phenotype. *Am J Med Genet*. 2012;158:680–684.
- 86.- Hustinx WJ, Ter Haar BGA, Scheres JMJC, Rutten FJ. Trisomy for the short arm of chromosome No. 10. *Clin Genet*. 1974;6:408-415.
- 87.- Hagen A, Bigl A, Wand D, Klopocki E, Heller R, Siekmeyer M, *et al.* Combined partial trisomy 11q and partial monosomy 10p in a 19 year old female patient: Phenotypic and genotypic findings. *Am J Med Genet A*. 2011;155:3075-3081.

88.- Gunes S, Al-Sadaan, Agarwal A. Spermatogenesis, DNA damage and DNA repair mechanism in male infertility. *Reprod Biomed Online*. 2015:1-11.

Anexo I: Cariotipo con técnica de bandas GTG

Material:

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

Equipo:

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

Procedimiento:


- 1) Se obtienen 1.5ml de sangre periférica por punción directa, en jeringa previamente heparinizada con 0.1ml de heparina sódica de 1,000 UI.
- 2) Se agregan 700µl de muestra en 2 tubos de ensayo Falcon desechables de polipropileno esterilizados.
- 3) Se agregan 5ml de medio de cultivo PB-MAX (contiene RPMI 1640, fitohemaglutinina, suero bovino fetal, antibióticos estreptomomicina y penicilina, L-glutamina).
- 4) Se incuba por 72 horas a 37-37.5°C.
- 5) A las 72 hrs se agregan 20µl de colchicina a cada tubo, se agita y se incuban 30min más a 37-37.5°C.
- 6) Se centrifuga por 10 minutos a 2,500rpm.
- 7) Se decanta el sobrenadante y se resuspende agitando en vortex y se agrega solución hipotónica para completar un volumen de 12ml.
- 8) Se incuba 30 minutos a 37-37.5°C.
- 9) Centrifugar 10 minutos a 2,500rpm.
- 10) Con pipeta se retira el sobrenadante y en agitación se agrega fijar frío o solución de Carnoy, gota a gota para completar un volumen de 80ml.
- 11) Se refrigera por 20 minutos.

- 12) Se centrifuga y se retira el sobrenadante, se lleva a un volumen de 8ml para el primer lavado.
- 13) Se centrifuga nuevamente, se retira el sobrenadante y se lleva a un volumen de 6ml para el segundo lavado.
- 14) Se gotea el cultivo en laminillas de vidrio y se revisa el material determinando la calidad y cantidad de metafases presentes.
- 15) Las laminillas obtenidas se incuban en una estufa a 60°C por espacio de 24 horas.
- 16) Sumergir de 10-30 segundos una laminilla en el primer coplin, (digestión)
- 17) Sacar la laminilla al termino del tiempo y enjuagarla en el segundo coplin (parar actividad)
- 18) Sumergir la laminilla en el siguiente coplin 2 minutos (tinción con Wriyth)
- 19) Sumergir la laminilla en el siguiente coplin 2 minutos (tinción con Giemsa)
- 20) Sumergir y enjuagar la laminilla en el vaso de precipitados
- 21) Secar
- 22) Montar inmediatamente con 3 gotas de entellán y cubreobjetos
- 23) Revisar la calidad de las bandas
- 24) Dejar secar a temperatura ambiente

ANEXO II: Técnica de FISH (Hibridación *in situ* con fluorescencia). De acuerdo a la metodología propuesta por Vysis (Vysis, 2001)

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

ANEXO III: Consentimiento informado para toma de muestra de sangre periférica para cariotipo

 Hospital General de México PRONAHUSSA Servicio de Medicina y Cirugía	FORMATO DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACION HIM-LC-PR.01-RE.01
CUBICULO No. <input type="text"/>	FECHA <input type="text"/> / <input type="text"/> / <input type="text"/>
NOMBRE DEL PACIENTE _____ Sexo <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F Edad _____ AÑOS	
PROCEDIMIENTO PROPUESTO Y EXPLICACION DEL MISMO:	
Toma de muestra <input type="checkbox"/> SANGUINEA <input type="checkbox"/> ORINA <input type="checkbox"/> MATERIA FECAL <input type="checkbox"/> OTRO (explique) _____	
Beneficios : DIAGNOSTICO OPORTUNO DE PADECIMIENTO Y/O SEGUIMIENTO AL TRATAMIENTO	
Riesgos y complicaciones: MINIMOS, SI SE PRESENTA ALGUNA CONTAMOS CON PERSONAL CAPACITADO EN ATENDER LA URGENCIA. EL MATERIAL ES NUEVO, ESTERIL Y DESECHABLE.	
Yo _____ de _____ años de edad. Reconozco que se me explicó y entendí el procedimiento para realizar los exámenes, estoy enterado de los beneficios, sé de los riesgos y las probables complicaciones que se me pueden presentar. Consciente de que se busca un beneficio, doy mi consentimiento sin obligación y por decisión propia para que los exámenes se efectúen así mismo para realizar la atención de contingencias y urgencias derivadas del acto autorizado, con base al principio de libertad prescripta.	
FIRMA DEL PACIENTE O SU REPRESENTANTE LEGAL _____	
TESTIGO FAMILIAR (Nombre y Firma) _____	
TESTIGO SUPERVISOR (Nombre y Firma) _____	
NOMBRE Y FIRMA DEL FLEBOTOMISTA _____	
Este consentimiento deberá llenarse para todo procedimiento de Toma de Muestras en el Laboratorio a realizarse en todo paciente sin excepción alguna. El responsable de recabarlo es quien vaya a realizar el mismo. Esta carta es renovable mientras no se concluya el procedimiento y no obligará al Químico, Técnico o Médico a realizar u omitir un procedimiento cuando ello entrañe un riesgo hacia el paciente. La muestra podrá ser utilizada para fines de investigación.	
REFERENCIA: LEY GENERAL DE SALUD cap. IV, Art. 80, 81, 82, y 83. NOM-168-SSA1-1998	

ANEXO IV: Técnica de mapeo genómico con microarreglo Cytoscan HD (Affymetrix Inc., Santa Clara, CA, USA):

- 1) Procesamiento de la muestra: Se extrae DNA genómico a partir de una muestra de sangre periférica (3 mL) utilizando el *kit* Versagene DNA Purification (GentraSystems Inc., Minneapolis, MN, USA), el cual se basa en la lisis celular con detergentes y purificación del DNA mediante columnas de afinidad (sílica).
 - 2) Se lleva a cabo el mapeo genómico con un microarreglo Cytoscan HD (Affymetrix Inc., Santa Clara, CA, USA), el cual contiene aproximadamente 2.7 millones de sondas con una distribución promedio de 1.1 kb en el genoma.
 - 3) Desarrollo experimental: Se digieren 250 ng de DNA genómico con la enzima de restricción Nsp I; a los fragmentos resultantes (150-2000 pb) se les ligan adaptadores de doble cadena provistos en el kit, utilizando T4 DNA ligasa.
 - 4) Se realiza PCR para enriquecer la muestra, utilizando oligonucleótidos iniciadores dirigidos a las secuencias adaptadoras.
 - 5) Los productos de PCR se purifican utilizando perlas de afinidad magnéticas, y se resuspenden en agua ultra pura obteniéndose una concentración adecuada para continuar con su procesamiento ($>3 \mu\text{g}/\mu\text{l}$). Dichos productos son digeridos con DNasa I para generar fragmentos de 25-125 pb, y posteriormente ser marcados con biotina en el extremo 3'-OH.
 - 6) Hibridación y cuantificación: Se prepara una mezcla de hibridación conteniendo el DNA marcado, reactivo de Denhardt, DNA de arenque y DNA Cot-1, entre otros, se desnaturaliza la muestra a 95° C por 10 minutos, se estabiliza a 49°C por un minuto y se inyecta la muestra al microarreglo.
 - 7) La hibridación se lleva a cabo durante 18 horas a 50°C en un horno de hibridación rotatorio (60 rpm) y una vez transcurrido el tiempo, el microarreglo es lavado y teñido en la Estación de Fluidos 450 (Affymetrix Inc.), de acuerdo con el protocolo programado por la compañía proveedora.
 - 8) El microarreglo se mantiene en oscuridad hasta el momento de su cuantificación, mediante el escáner GeneChip 3000 7G (Affymetrix Inc.).
- Análisis de número de copias:
- 9) Los datos se analizan con el programa Chromosome Analysis Suite 1.2.2 (Affymetrix Inc.), utilizando como referencia el conjunto de controles provistos en el mismo (n=270). Los parámetros de análisis son: resolución de 50 kb y un mínimo de 390 marcadores.
 - 10) Se utiliza la función Joining para fusionar interrupciones menores a 200 kb.
 - 11) El mapeo se basó en el ensamble Feb 2009 (GRCh 37/hg19) del genoma humano.

ANEXO V: Consentimiento informado para toma de muestra para DNA.


HOSPITAL INFANTE DE MÉXICO
FEDERICO GÓMEZ
Instituto Mexicano de Salud

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

México D.F., a ___ de _____ de 201

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

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

Nombre: _____

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

Nuestro consentimiento se condiciona a que se mantenga en forma confidencial los datos de nuestro hijo (a) y nuestra familia. Entendemos que el procedimiento de obtención de sangre puede causar molestias. Nuestra firma en este documento manifiesta nuestra participación voluntaria, la responsabilidad de los investigadores respecto a nuestras personas y nuestros derechos, y que podemos terminar en cualquier momento la participación en este estudio sin que se perjudique la futura atención de nuestro hijo (a). Se nos entrega una copia del documento.

La información anterior fue explicada por _____
Para cualquier duda contactar a la Dra. Verónica Fabiola Morán Barroso en el Departamento de Genética del Hospital Infantil de México Federico Gómez Tel: 52 28 99 17 Ext. 2017 o a la Dra. Rebeca Gómez-Chico Velasco, Subdirectora de Pediatría Ambulatoria.

_____ Nombre y Firma de la Madre o Tutora	_____ Testigo
_____ Nombre y Firma del Padre o Tutor	_____ Testigo

 INSTITUCIÓN DE SERVICIO MÉDICO, ENFERMERÍA E INVESTIGACIÓN, AFILIADA A LA UNAM
DR. MÉDICA 142 COL. DOCTORES, C.P. 06702 MÉXICO, D. F.
Teléfono: 52 28 99 17 www.imss.edu.mx 

ANEXO VI: Consentimiento informado para fotografías.



HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO
FEDERICO GOMEZ

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

5228-9917

México, D.F. a ____ de ____ de 20__

A QUIEN CORRESPONDA:

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

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

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

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

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

Nombre y firma

Paciente/tutor
Parentesco con el paciente

Testigo 1

Testigo 2