



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE MEDICINA**

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**  
**PROGRAMA ÚNICO DE ESPECIALIDADES MÉDICAS**  
**ESPECIALIDAD EN GENÉTICA MÉDICA**

**INSTITUTO DE SEGURIDAD SOCIAL Y SERVICIOS SOCIALES DE LOS**  
**TRABAJADORES DEL ESTADO**  
**CENTRO MÉDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE"**

**SÍNDROMES GENÉTICOS OCASIONADOS POR MICRODELECIONES**  
**CROMOSÓMICAS EN PACIENTES DEL SERVICIO DE GENÉTICA DEL**  
**CENTRO MÉDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE" DEL ISSSTE.**

**TESIS**  
**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:**  
**ESPECIALISTA EN GENÉTICA MÉDICA**

**PRESENTA:**

**NAMIBIA GUADALUPE MENDIOLA VIDAL**  
**ASESORES DE TESIS:**

**MARÍA CONCEPCIÓN ADRIANA YERENA DE VEGA**  
**LABORATORIO DE GENÉTICA, CMN "20 DE NOV"**

**YURITZI SANTILLÁN HERNÁNDEZ**

**SERVICIO DE GENÉTICA MÉDICA, CMN "20 DE NOV"**

**CENTRO MÉDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE", ISSSTE**  
**MÉXICO, D.F., NOVIEMBRE DE 2015**





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## DEDICATORIAS

A MI MADRE POR SER UNA GUERRERA QUE DIOS PUSO EN MI CAMINO YA QUE CON SUA POYO Y DEDICACION FUE POSIBLE ALCANZARA CADA UNO DE MIS SUEÑOS, SIN IMPORTAR LOS DESVELOS Y LAS TEMPESTADES.

A MI HERMANO POR SER MI COMPAÑERO DE INFANCIA Y ESTAR SIEMPRE A MI LADO EN ESTE CAMINO QUE SE LLAMA MEDICINA.

A MI PADRE QUE HA GUIADO DESDE EL CIELO CADO UNO DE MIS PASOS Y QUE AUN QUE NO ESTA PRESENTE FISICAMENTE ME HA ACOMPAÑADO EN ESTE GRAN RETO, GRACIAS POR SEGUIR SIENDO MI SUPERHEROE.

AL DR. JOSE EDUARDO RODRIGUIZ ESE COMPAÑERO DE VIDA QUE ME ENCONTRE EN EL CAMINO, POR ESTAR SIEMPRE AMI LADO SIN IMPORTAR LOS DIFICIL O FACILES QUE SEAN LAS COSAS, POR ESCUCHARME Y ACONSEJARME, Y CONTINUAR ESCRIBIENDO JUNTOS UNA BONITA HISTORIA.

A MI FAMILIA POR SER UN GRAN APOYO EN TODO ESTE CAMINO.

## AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Yuritzí Santillán Hernández, por ser parte importante dentro de mi formación como médico especialista.

A la Biol. Concepción Yerena De Vega, quien con paciencia me ha guiado en el camino de la citogenética y que gracias a su apoyo fue posible realizar este trabajo de tesis .

A las Biol. Cecilia Sánchez Guerrero, por todas sus enseñanzas al microscopio, por su paciencia y apoyo tanto en lo académico como en la vida.

A la Dra. Lilia García por su paciencia durante mi estancia en el laboratorio de genómica, y por sus brillantes explicaciones sobre los temas de biología molecular, gracias por haber hecho que mi rotación en el laboratorio fuera tan grata.

Al Dr. Raul Eduardo Piña Aguilar, por sus enseñanzas y su forma tan particular de enseñarte el arte de la biología molecular, por esa pasión que me contagio el ver el trato a sus paciente.

A la Dra. Viridiana Arevalo por ser una excelente compañera y amiga , así como un gran apoyo durante la residencia.

## ÍNDICE

Antecedentes.....	1
Marco teórico	
Planteamiento del problema.....	8
Justificación.....	9
Objetivos del estudio	
Objetivo General.....	10
Objetivos Específicos.....	10
Material y métodos	
Diseño del estudio.....	11
Criterios de inclusión.....	13
Criterios de eliminación.....	13
Consideraciones éticas.....	14
Resultados.....	15
Discusión.....	19
Conclusión.....	21
Referencias bibliográficas.....	22



## **ANTECEDENTES**

### **GENERALIDADES DE LOS DESORDENES GENÓMICOS (SÍNDROMES DE MICRODELECIÓN).**

El término de desórdenes genómicos o síndromes de microdelección se utiliza para definir aquellas condiciones que surgen por inestabilidad en la molécula de ADN y, que ocasionan, rearrreglos cromosómicos que involucran regiones de uno o varios pares de bases. Estos rearrreglos determinan la pérdida, ganancia o disrupción de genes cuya expresión fenotípica varía de acuerdo a la cantidad de secuencia codificante presente.

Estas anomalías genómicas surgen predominantemente durante eventos de recombinación no alélica entre cromosomas homólogos (NAHR).

Los rearrreglos cromosómicos ocurren en puntos de quiebra que concentran regiones inestables de la molécula de ADN como lo son las secuencias repetidas llamadas LCRs (low copy repeats) que sirven como sustrato de recombinación o los sitios palindrómicos ricos en adenina- timina.

Desde 1991, se comenzó a entender que a nivel cromosómico podían ocurrir alteraciones más sutiles conocidas como síndromes de genes contiguos, de microdelección o genómicos. Estos hallazgos dieron sustento a padecimientos genéticos que no se habían encontrado.

Las correlaciones entre los reordenamientos cromosómicos y manifestaciones clínicas (relación genotipo/fenotipo), pueden proporcionar información esencial para el descubrimiento de las causas que impactan sobre el desarrollo de malformaciones genéticas en síndromes de microdelección.

El fenotipo es el resultado de la haploinsuficiencia de genes específicos en el intervalo crítico.

Existen síndromes clínicamente bien descritos, para lo cual la participación de múltiples genes se ha establecido o se sospecha fuertemente, como lo son el síndrome velocardiofacial (microdelección 22q11), el síndrome de Williams (microdelección 7q11), síndrome de Prader Willi, síndrome de Angelman y síndrome de microdelección 22q13.

## MARCO TEÓRICO

### MECANISMOS QUE GENERAL LOS DESORDENES GENMICOS O SINDROMES DE MICRODELECIION.

Las microdeleciones consisten en la pérdida de material cromosómico, que comprende, en la mayoría de los casos entre 1 a 3 millones de pares de bases de DNA, las cuales no pueden ser detectadas por análisis cromosómico convencional. La pérdida de estas secuencias genómicas pueden ser demostradas usando técnicas de FISH (Hibridación In Situ Fluorescente). (Malcom et al 1996).

Existen secuencias en el genoma que por sus características representan son de importancia en los mecanismos por los cuales se produce un síndrome de microdelección. Recientemente se ha descubierto que el genoma humano es genéticamente más variable de lo esperado. Estas variaciones existen en el genoma a diferentes niveles: desde cambios de una sola base hasta cambios que abarcan cientos o miles de kb .

Estos cambios que incluyen deleciones, inserciones y duplicaciones con una frecuencia en la población superior al 1%, son conocidos como variaciones en número de copia (CNVs). (Wenli Gu et al 2008)

Las CNVs representan una de las principales fuentes de variación genómica con cerca de 1.500 regiones variables descritas, abarcando aproximadamente el 12% del genoma y miles de genes por lo que parecen tener un papel importante en la evolución del genoma humano. ( Hastings et al 2009 )

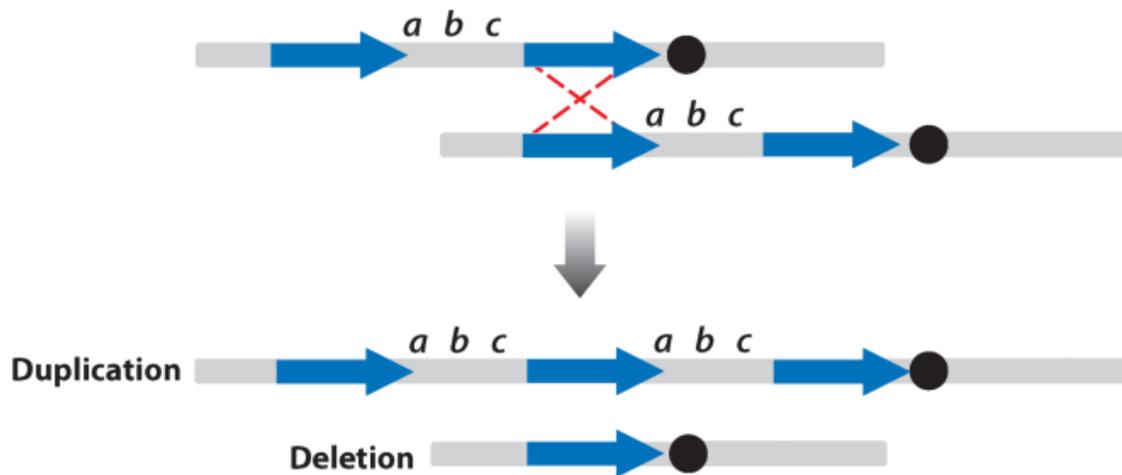
En cuanto al mecanismo de origen el 24% estaban asociadas a duplicaciones segmentarias (DSs) o *low copy repeats* (LCRs). Los LCR son bloques de ADN específicos de la región por lo general de 10 a 300 kilobases (kb) en tamaño y de > 95% a 97% de similitud el uno al otro. (Wenli Gu et al 2008).

Hay dos clases principales de VNC: recurrentes y no recurrentes. Recurrente CNVs surgen generalmente por recombinación homóloga no alélica (Nahr) durante la meiosis, con puntos de interrupción en los grandes bloques duplicados de la secuencia que flanquea el evento CNV .

Debido a que los puntos de ruptura se agrupan dentro de las regiones definidas, la extensión de los CNV's es esencialmente idéntica, incluso en individuos no relacionados.

En contraste, la CNV no recurrentes tienen puntos de ruptura que por lo general se encuentran dentro de la secuencia única y no resultan de una arquitectura genómica predisponente.

Como resultado, a pesar de dos individuos no relacionados pueden tener superposición no recurrente CNV, es poco probable que compartan los mismos puntos de interrupción.



**Figura 1.1**

La recombinación homóloga no alélica (Nahr), el principal mecanismo subyacente a la generación de variantes de número de copias recurrentes (CNV).

En este esquema, dos duplicaciones segmentarias grandes (flechas azules) con alta similitud de secuencia flanquean una región que contiene genes a, b, y c.

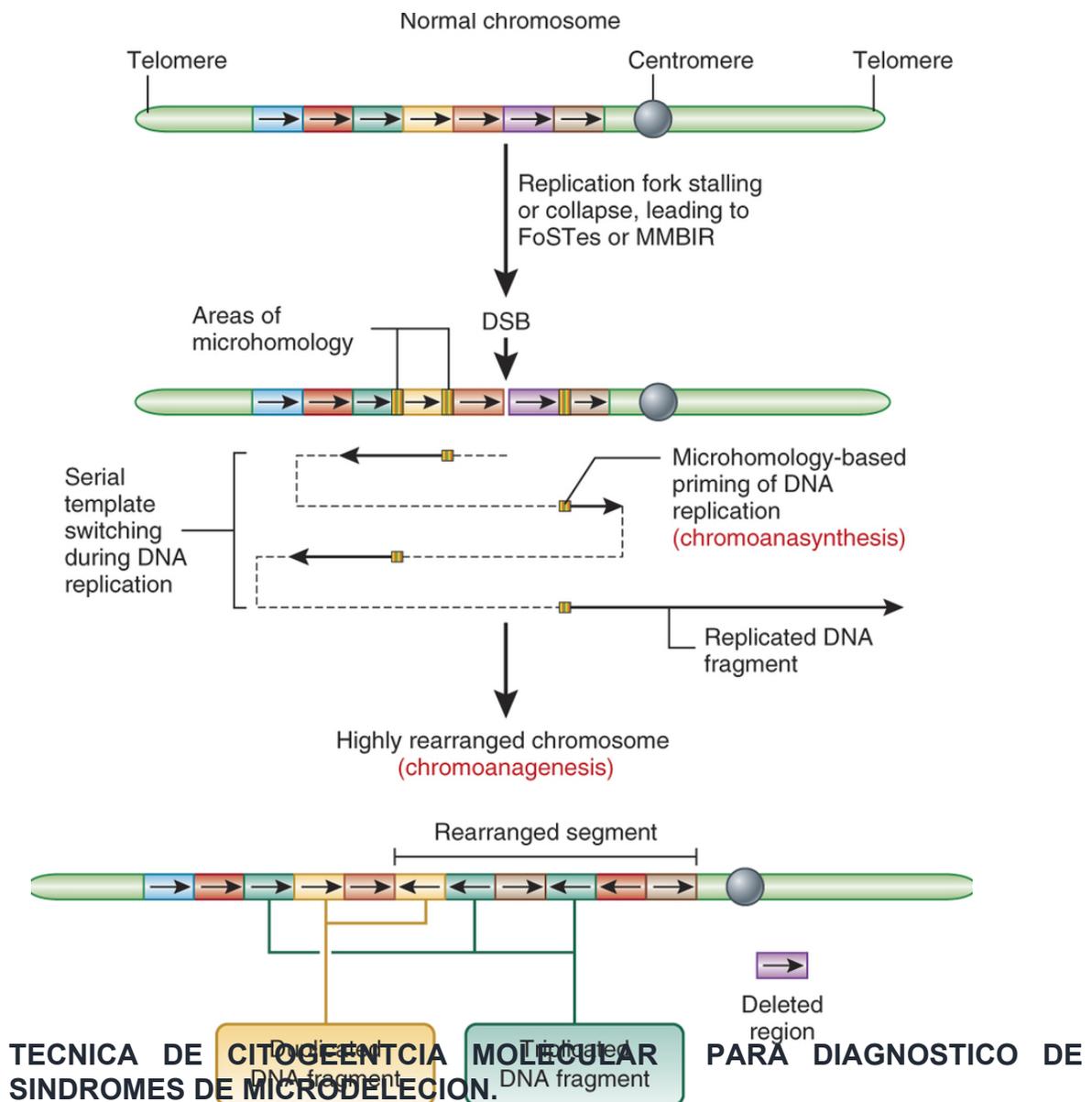
A raíz de la desalineación de los homólogos, estas duplicaciones facilitan Nahr durante la meiosis, ayudando a un evento entrecruzamiento ilegítima entre paralogous, en lugar de alélica, originando duplicaciones y deleciones segmentarias

Las DSs intracromosómicas, representan puntos calientes de inestabilidad genómica; fueron inicialmente descritas como regiones genómicas inestables asociadas a síndromes de microdelección y microduplicación. (Ken-Shiung et al 1997)

La presencia de DSs que comparten un alto nivel de identidad en la secuencia promueve la generación de alteraciones estructurales mediante recombinación homóloga originando procesos de traslocación, deleción, inversión o duplicación . (Wenli Gu et al 2008) Los procesos de NAHR generan duplicaciones y deleciones recíprocas, por lo que para la mayoría de regiones en las que se han identificado microdeleciones, existe la microduplicación correspondiente. (Shaffer et al 2000).

Otros reordenamientos no recurrentes pueden ser explicados por los modelos de fusión no homologa de extremos (NHEJ ) y el Tenedor Stalling y Fork Stalling and Template Switching («Encallamiento de Horquilla y Cambio de templado») ( FoSTeS ).

El proceso de NAHJ tras la generación del DSB, los extremos libres también son procesados por una nucleasa; posteriormente se procede a la unión de los mismos y a la ligación, perdiéndose siempre algunas bases en la región de unión. En el caso de FOSTES las horquillas de replicación se estancan en las células sometidas a estrés, el extremo del cebador 3 'de una cadena de ADN puede cambiar de plantilla a una plantillas de una sola cadena de ADN en otras horquillas de replicación cercanas. ( Hastings et al 2009).

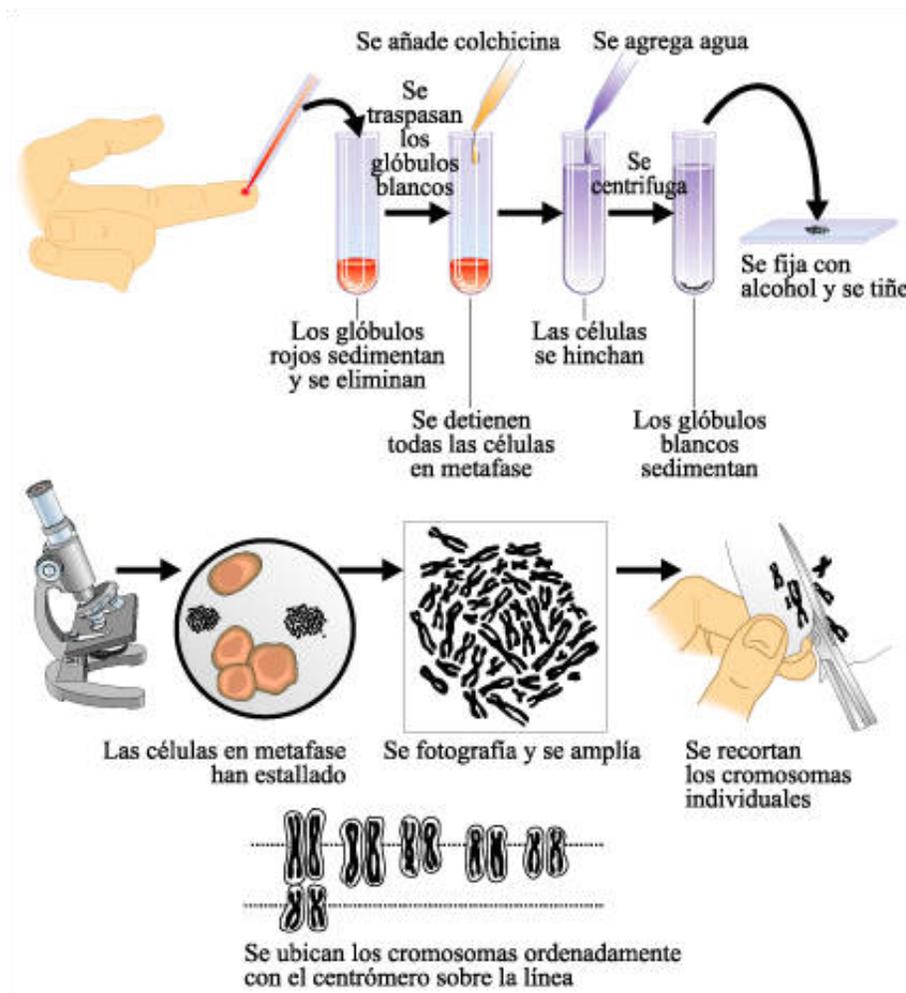


La mejora de las técnicas citogenéticas, incluyendo análisis de cariotipo de alta resolución y la hibridación in situ fluorescente (FISH), facilitaron pruebas de diagnóstico para la eliminación asociada a cada diagnóstico de sospecha.

En el caso de un cultivo de sangre, el procedimiento es el siguiente: las muestras son puestas en cultivo en un medio de crecimiento con nutrientes y agentes inductores de la mitosis, y se mantiene a 37°C durante 72h. Tras este periodo de incubación, se añade al medio de cultivo un agente antimitótico, el más común denominado colchicina que permite detener la división celular en metafase.

Posteriormente el cultivo se somete a un choque hipotónico que permeabiliza la membrana celular y la suspensión de núcleos es fijada.

El tratamiento con una enzima denominada tripsina y la tinción con el colorante Giemsa permite generar en los cromosomas un patrón de bandas claras y oscuras (bandas G) que permite identificar cada par cromosómico.



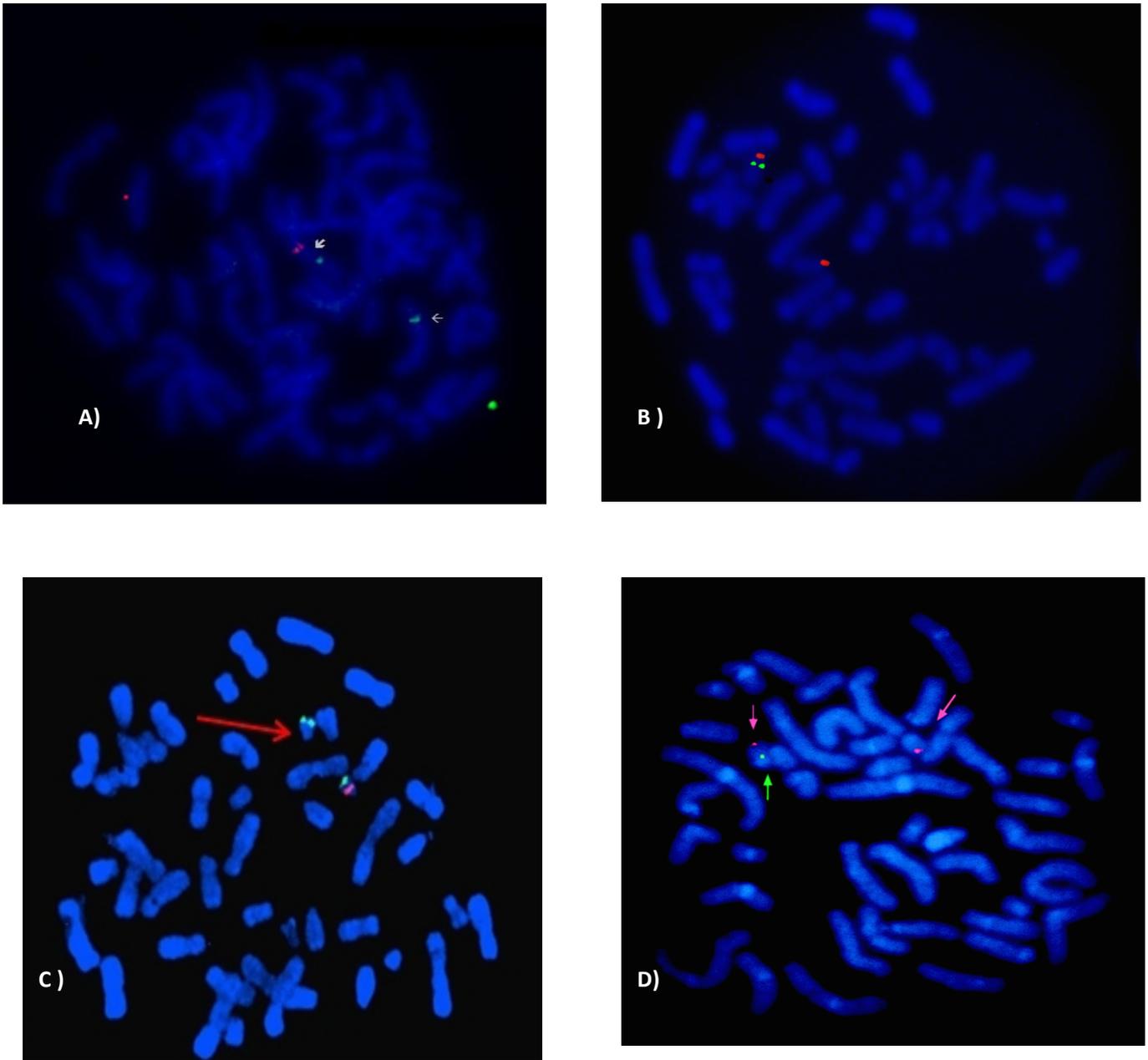
Permite analizar todos los cromosomas en una sola prueba pero queda limitada por la resolución del bandeo cromosómico: no detectando alteraciones inferiores a 10Mb.

La hibridación fluorescente in situ (FISH) utiliza moléculas fluorescentes para localizar genes o fragmentos de DNA. Esta técnica es especialmente útil para mapear genes o localizar anomalías cromosómicas.

La técnica consiste en preparar cortas secuencias de DNA de una sola hebra, llamadas sondas, que son complementarias de las secuencias de DNA que se quieren marcar y examinar. Estas sondas se "marcan" con moléculas fluorescentes.

Estas sondas se hibridan o unen al DNA complementario y, como están marcadas con moléculas fluorescentes, permiten localizar las secuencias en las que se encuentran.

A diferencia de otras pruebas utilizadas para estudiar los cromosomas que requieren que las células se encuentren en división activa, la hibridación fluorescente in situ puede ser llevada a cabo en células no activas.



**FIGURA 1.2:**

Se ilustra los resultados de estudio de Hibridación por Fluorescencia in situ de los síndromes de microdelección estudiados: Prader Willi (a), Williams (b), 22q11 (c), 22q13 (d), observamos dos señales correspondientes para la sonda reportera (verde) y solo una señal (rojo) para la sonda de secuencia única.

En el caso del síndrome 22q11 el gen ARSA se encuentra en la sonda reportera, por tal motivo solo observamos una señal de la misma.

## **DESCRIPCION DE LOS SINDROMES DE MICRODELECCION ESTUDIADOS EN ESTE TRABAJO DE TESIS.**

Microdeleciones cromosómicas y microduplicaciones se han asociado con formas sindrómicas que cursan discapacidad intelectual y retraso del desarrollo, desde 1980.

Ejemplos clásicos incluyen la deleción 15q11-q13 asociado con el síndrome de Prader-Willi y Angelman, la deleción 17p11 asociado con el síndrome de Smith-Magenis, la deleción 7q11 asociada con el síndrome de Williams-Beuren, y las supresiones 22q11 asociado con el síndrome velocardiofacial.

Cada uno de estos trastornos se describió por primera vez basado en una serie de pacientes que compartió una colección reconocible de las características clínicas. La descripción clínica de cada síndrome fue seguido más tarde por el descubrimiento de la base molecular.

### **Síndrome de Prader Willi**

Su incidencia se estima en 1:12.000-15.000 recién nacidos (RN). Se origina por la pérdida de genes improntados paternos expresados en la región 15q11.2 -q13; la microdeleción del cromosoma paterno en esta región (65-75% de los individuos), la disomía uniparental materna 15 (20-30%) o un defecto en el imprinting (1-3%). (German et al 2013)

Clinicamente, se caracteriza por hipotonía infantil grave con mala succión y retraso en el desarrollo (está presente en el 90-100% de los niños); hipogonadismo; rasgos faciales (diámetro bifrontal estrecho, fisuras palpebrales almendradas, puente nasal estrecho, vermillón superior fino con comisuras labiales orientadas hacia abajo y micrognatia), obesidad e hiperfagia en la primera infancia; retraso del desarrollo / deficiencia intelectual leve (está presente en el 90-100% de los niños) y baja estatura. Las alteraciones del sueño, la escoliosis (40-80%) y displasia de cadera (10-20%) son comunes; con frecuencia presentan deficiencia de hormona de crecimiento. Alrededor del 10% de los adolescentes y los adultos mayores desarrollan problemas psiquiátricos que van desde la depresión severa y episodios psicóticos. (Vogels et al).

### **Síndrome de Angelman.**

Tiene una incidencia 1:12 000-20 000 en recién nacidos vivos.

El diagnóstico se basa en una combinación de criterios clínicos y pruebas moleculares y / o citogenética. El análisis de metilación de ADN en la región del cromosoma 15q11.2 -q13 detecta 78% de las personas con falta de contribución

materna. Menos de 1 % de los individuos tienen un reordenamiento cromosómico visible. El análisis de secuencia de UBE3A detecta mutaciones en un 11% adicional de los individuos.

El 10 % restante de los individuos con características clásicas fenotípicas del síndrome de Angelman tiene un mecanismo genético en la actualidad no identificada y por lo tanto no son susceptibles de pruebas de diagnóstico. (Williams et al 2010). El 70% de los pacientes tienen grandes deleciones cromosómicas de + / - 4 Mb de la región cromosómica 15q11-13 en el cromosoma materno. (Moncla et al, 1999)

Clinicamente, se caracteriza por retraso severo en el desarrollo, problemas del habla, marcha atáxica, temblores de las extremidades, y un fenotipo conductual único que incluye comportamiento alegre y la risa excesiva; dentro de las características faciales podemos encontrar (braquicefalia, microcefalia, aumento del espacio entre piezas dentarias, prognatismo mandibular, hipoplasia facial del tercio medio, los ojos hundidos, azules e hipopigmentación). (Mellado et al 2004)

Presentan trastornos de hiperactividad y el sueño comunes en la infancia. Las crisis epilépticas se producen en el 80% de los pacientes con un inicio variando entre el primer mes y los 5 años. (Schinzel et al 1998).

### **Síndrome de Williams**

Tiene una incidencia 1:20 000 recién nacidos vivos. Es causado por una microdeleción en el cromosoma 7q11.23 en el 99% de los casos; en la mayoría de los casos las deleciones son de un tamaño consistente de 1,6 Mb y comprometen a los genes ELN (elastina) y LIMK1 entre otros. (Tassabehji et al 2003)

Se caracteriza por malformación cardíaca ( más frecuentemente supra estenosis aórtica valvular, EASV ) en el 75 % de los casos , el retraso psicomotor , dismorfias faciales (puente nasal aplanado con una punta bulbosa , boca grande con un labio inferior evertido y ancho, edema periorbitario , epicanto y el iris estelar), déficits visuoespaciales , que contrastan con las habilidades lingüísticas conservadas .

Los niños afectados presentan un comportamiento hipersocial e interactúan bien con otras personas . Tienen una sensibilidad distintiva al ruido y tienen habilidades musicales . (Tassabehji et al 2003)

Entre otros síntomas se incluyen problemas dentales como la maloclusión, dientes pequeños y anodoncia, deficiencia de crecimiento, hipercalcemia, vómitos, estreñimiento, cólicos en la infancia.

### **Síndrome Velocardiofacial (microdelección 22q11)**

Este tiene una incidencia 1: 4 000 a 6 400 RNV. Es un cuadro con expresión variable, que incluye los síndromes de DiGeorge, Velocardiofacial y Facies-anomalía conotruncal. Es causado por una delección submicroscópica en 22q11.2 en 95% de los casos.

La mayoría de las delecciones son el resultado de un evento de novo, aunque probablemente 5-10% son heredables.

Las estructuras afectadas principalmente en VCFS incluyen el timo, la glándula paratiroidea, arco aórtico, arterias de arcos branquiales y la cara.

El fenotipo físico se caracteriza por dismorfia facial, hipocalcemia, inmunodeficiencia de células T y problemas de aprendizaje.

Los defectos cardíacos están presentes en el 50-75% de los pacientes y por lo general se diagnostican en la infancia temprana. Se ha reportado también delección 22q11.2 en pacientes portadores de arco aórtico interrumpido tipo b (en 50% de los casos), en pacientes con tronco arterioso (en 34,5% de los casos), en defectos septales tipo conotruncal (en 33% de los casos) y en tetralogía de Fallot (en 16% de los casos).

Manifestaciones menores se encuentran historia de polihidramnios, signos de insuficiencia velo faríngea, anomalías faciales menores, estreñimiento y la hipotonía. El retraso del habla y del lenguaje es una de las manifestaciones más consistentes del VCFS que se relaciona con la insuficiencia velo faríngea.

Las infecciones recurrentes de vías aéreas superiores y el oído son comunes durante la infancia y niñez temprana. En la adolescencia hay un alto riesgo para el desarrollo de la obesidad y la escoliosis (10%) .

Numerosos genes han sido identificados dentro de la región más comúnmente suprimido de 22q11.2. Varios genes candidatos han sido objeto de especial atención (*IDD / Sezi / LAN, GSCL, IPER, UFD1L*) debido a que son negativos en pacientes con VCFS sin una microdelección 22q11.

### **Síndrome 22q13 (Phelan-McDermid )**

La mayoría son delecciones terminales de 100 kb a 19 Mb, que resulta de delecciones simples, cromosomas en anillo y translocaciones desequilibradas. (Phelan et al 2011)

Casi todas estas delecciones incluyen la SHANK3 gen que codifica una proteína de andamiaje en las terminales postsinápticas.

Se caracteriza por déficit neurológico que incluyen retardo global de desarrollo, deterioro intelectual moderado a severo, ausente o retraso severo en el habla , e

hipotonía neonatal. Además , más del 50 % de los pacientes presentan autismo o autista comportamiento , por lo que se puede clasificar como una forma sindrómica de los trastornos del espectro autista.

Otras características importantes son crisis convulsivas presentes en aproximadamente el 25% de los individuos, anomalías cardíacas, incluyendo la regurgitación de válvula tricúspide, comunicación interauricular, conducto arterioso persistente, y el retorno pulmonar anómalo total, se producen en el 125% de individuos; las anomalías renales (125%) incluyen riñón ausente, anomalías estructurales, hydronefrosis, y el reflujo. (Philan et al 2011)

El diagnóstico se basa en la citogenética, la demostración molecular citogenético y / o molecular de la pérdida o alteración de la región cromosómica 22q13.3 que contiene el gen SHANK3/ProSAP2. (Philan et al 2011).

## DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

La etiología de las enfermedades genéticas se divide en dos grandes grupos: las ocasionadas por anomalías en los genes y las ocasionadas por anomalías en los cromosomas.

Dentro del grupo de las ocasionadas por anomalías cromosómicas, se pueden encontrar las alteraciones en el número de cromosomas, o en la forma de estos (deleciones, duplicaciones, inversiones y otras alteraciones en la estructura). Este tipo de aberraciones se estudian al analizar los cromosomas con estudios de citogenética convencional, realizando normalmente un cariotipo en leucocitos que puede detectar solamente alteraciones “gruesas” en los cromosomas.

En 2005, el Laboratorio de Genética del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre” en 2005 comenzó a ofrecer las técnicas de FISH de manera clínica para la detección de Síndromes de microdeleción para pacientes atendido en el Servicio de Genética. Actualmente en este Laboratorio se disponen de metodología establecidas para estudiar 5 síndromes ocasionados por microdeleciones cromosómicas.

Por tanto ya han pasado 8 años que se dispone esta tecnología en el Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”, por lo que a través de este proyecto se pretende conocer las características de los estudios de FISH realizados en el Laboratorio de Genética y las características clínicas de los pacientes con diagnóstico de Síndromes ocasionados por microdeleción.

Este estudio retrospectivo permitirá conocer la experiencia a nivel de laboratorio del diagnóstico de microdeleciones por FISH y las características clínicas de los pacientes del ISSSTE afectados por este tipo de padecimientos.

Este estudio permitirá conocer la frecuencia de pacientes portadores de cada una de estos padecimientos, sus características clínicas principales y las complicaciones asociadas. Para en un futuro establecer algoritmos y guías para la solicitud de estudios de FISH para pacientes mexicanos con sospecha de un síndrome por microdeleción, que impacten en el manejo y diagnóstico de los derechohabientes del ISSSTE.

## JUSTIFICACIÓN

Existen pocos estudios acerca de la experiencia de diagnóstico de Síndromes de microdelección en México, por lo tanto es de gran importancia la realización de trabajos como el presente para conocer la realidad local de la frecuencia de estas patologías en nuestra población, las características relevantes de nuestros pacientes, edad de diagnóstico y la evolución del padecimiento.

Esto es relevante ya que nos permitirá otorgar un asesoramiento más adecuado en la consulta genética, determinar el pronóstico y el riesgo de recurrencia de cada una de las alteraciones encontradas.

Para nuestra institución es indispensable contar con este tipo de estudios ya que permite establecer datos precisos acerca de la frecuencia y tipo de alteraciones cromosómicas en la población derechohabiente del instituto, que es una muestra heterogénea de pacientes que han sido referidos de las diferentes unidades de referencia del país.

Por otro lado este trabajo marca un primer paso para la realización de estudios moleculares como microarreglos que permitan establecer una relación fenotipo-genotipo dependiendo de tamaño del segmento microduplicado o con microdelección; ya que puede facilitarnos el manejo clínico de los pacientes y poder predecir el tipo de complicaciones.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Dar a conocer la experiencia en el laboratorio de citogenética del Centro Médico Nacional 20 DE Noviembre en el diagnóstico de síndromes de microdelección desde el implemento de técnicas de citogenética molecular .

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar la frecuencia y el tipo específico de desorden genómico en pacientes de nuestra institución.
- Valorar la presentación clínica del paciente y compararla con la reportada en la literatura internacional.
- Determinar si existe variaciones clínicas entre los pacientes de nuestra institución.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio retrospectivo de tipo descriptivo.

Tamaño de muestra:

Se realizó la revisión de las bitácoras de resultados del laboratorio de citogenética del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre del año 2006 al año 2015 y se seleccionaron aquellos pacientes con un resultado positivo de los estudios de FISH para síndromes de microdeleción.

Se distribuyeron los casos por año, edad y sexo de los pacientes para obtener datos sobre la edad del diagnóstico y la prevalencia por año y género.

Posteriormente se realizó una revisión de los expedientes electrónicos para capturar los datos clínicos relevantes y de esta forma poder hacer una relación fenotipo-genotipo.

## DEFINICIÓN DE LAS UNIDADES DE OBSERVACIÓN

- **Cardiopatía congénita:** Anomalia cardíaca demostrable por ecocardiografía presente desde el nacimiento.
- **Hipotonía:** Disminución de la tensión o del tono muscular
- **Talla baja:** Se considera que un paciente tiene talla baja cuando su relación talla/edad está dos desviaciones estándar (DS) bajo el promedio poblacional esperado para su edad y sexo, o por debajo del percentilo tres.
- **Retraso en la adquisición del lenguaje:** cuando un niño sin ninguna otra alteración aparente, va adquiriendo el lenguaje más tarde que otros de su misma edad.
- **Displasia de cadera:** Es una enfermedad ósea, congénita, hereditaria y degenerativa; producida por una malformación de la articulación coxofemoral.
- **Hipogonadismo:** Es una afección en la cual los testículos en los hombres y los ovarios en las mujeres producen pocas o ninguna hormona sexual.
- **Retraso en el neurodesarrollo:** significa que los logros o hitos del desarrollo que los niños deben adquirir dentro de una determinada edad, no están apareciendo o lo están haciendo de forma anómala.
- **Microcefalia:** Anomalia consistente en un desarrollo insuficiente del cráneo, a menudo acompañado de atrofia cerebral.
- **Braquicefalia:** ocurre cuando la sutura coronal se funde prematuramente, causando un acortamiento longitudinal
- **Obesidad:** Estado patológico que se caracteriza por un exceso o una acumulación excesiva y general de grasa en el cuerpo.
- **Insuficiencia velo Faringea:** corresponde a cualquier defecto estructural del velo o de las paredes faríngeas, donde no existe tejido suficiente para lograr el cierre del esfínter.

- Polihidramnios: Es un término médico que se refiere a la presencia excesiva o aumento de líquido amniótico, por lo general mayor a los 2 litros o un índice de líquido amniótico  $>18$  mm
- Alteraciones renales: Cual quier alteraciones estrudctural a nivel renal.
- Comportamiento autista: Se caracteriza por la presencia de un desarrollo muy anormal o deficiente de la interacción y comunicación sociales.

## **MATERIAL**

- Bitacora de resultados de FISH
- Expedientes electronicos de los pacientes con resultado positivo en el estudio de FISH para sindromes de microdelecion.  
Laptop para recolectar los datos y realizar el analisis de los mismos.

## **CRITERIOS**

### **CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

Todas las muestras de sangre periférica procesadas en el laboratorio en el periodo comprendido de 2006 a 2015 con resultado positivo para síndromes de microdelección.

### **CRITERIOS DE ELIMINACIÓN**

Muestra con un resultado negativo para microdelecciones.

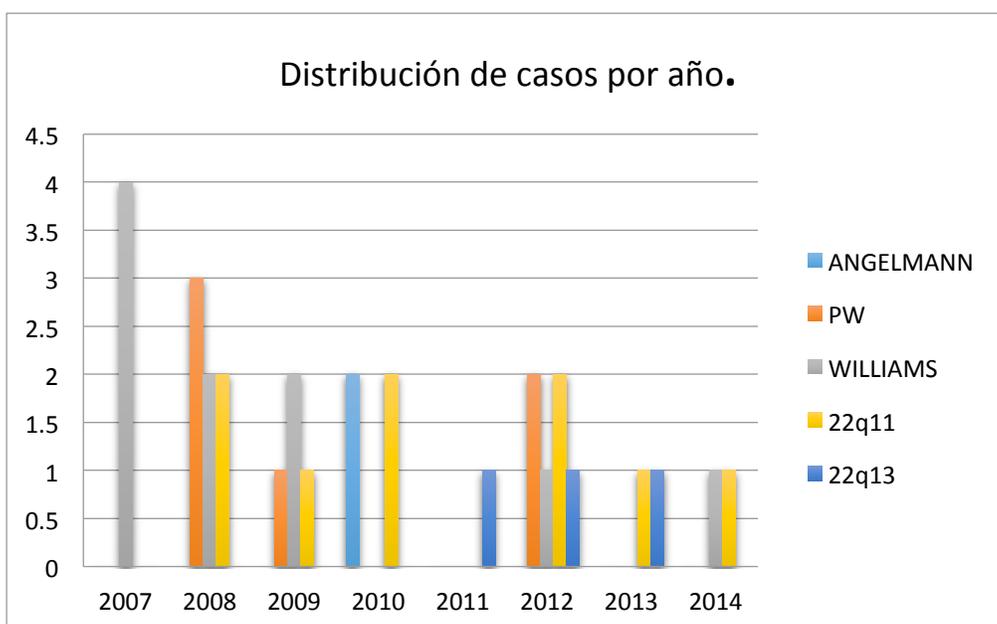
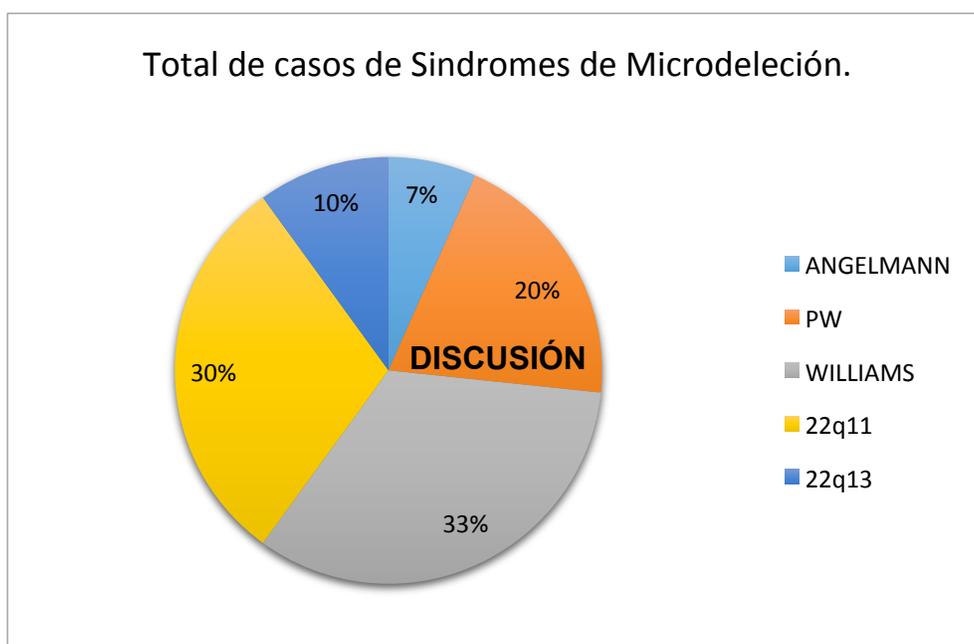
## **CONSIDERACIONES ÉTICAS**

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética e Investigación del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”, con número de registro 091-2014. Que considera que siendo un estudio retrospectivo no se requiere consentimiento informado.

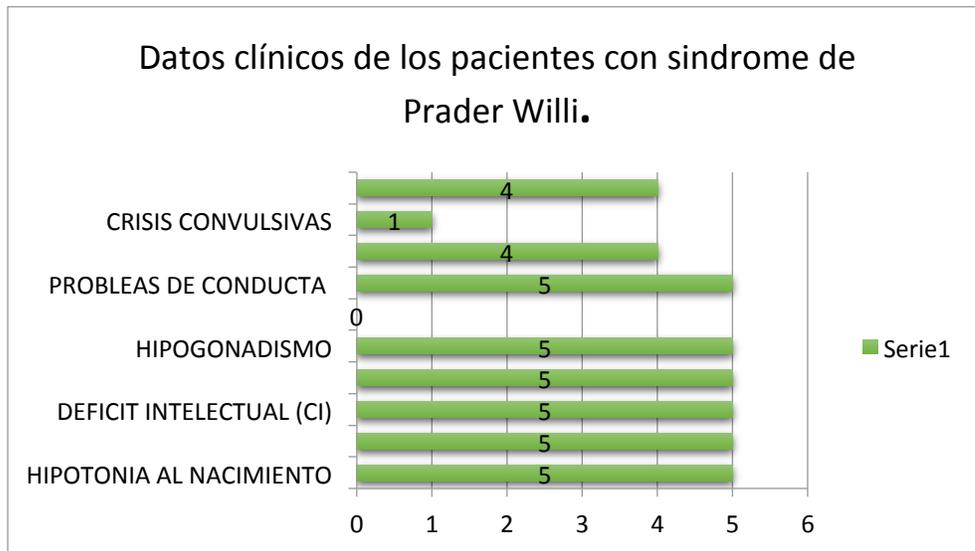
Los investigadores garantizaron que los datos relacionados con la privacidad fueron manejados en forma confidencial, para cumplir lo anterior se utilizó una de base de datos, que contiene número de folio para identificarlos y de esta forma conservar el anonimato de los mismos.

## RESULTADOS

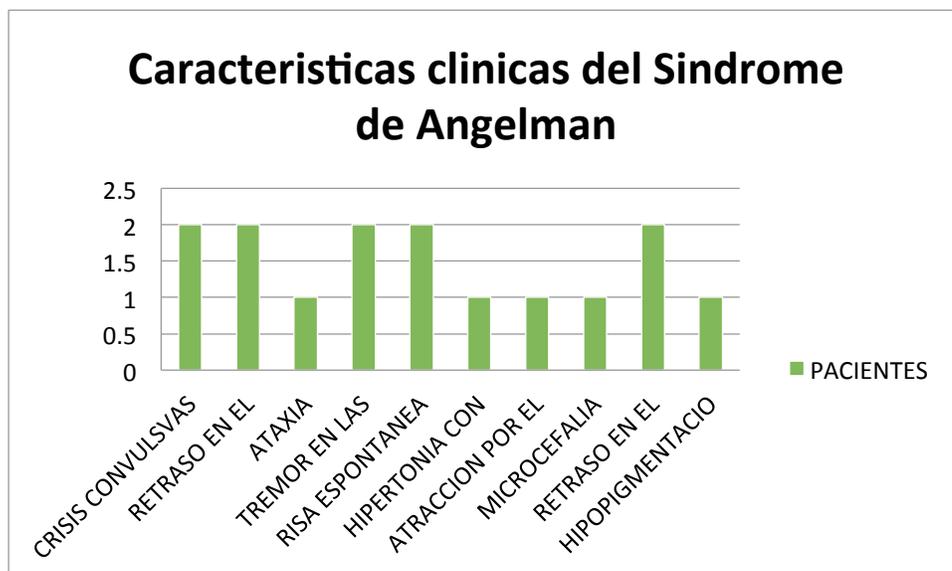
Se estudiaron 30 casos, 21 (70%) de sexo masculino y 9 (30%) femenino. De los pacientes estudiados 2 (7%) corresponde a síndrome de Angelan, 6 (20 %) síndrome de Prader Willi, 9 (30%) síndrome de 22q11, 10 (33%) síndrome de Williams y 3 (10%) con síndrome de microdelección 22q13. Con respecto a la edad del diagnostico 12 (39%) casos se diagnosticaron entre los 0 y los 3 años, 6 (19%) entre los 4 y 7 años, 11 (36%) entre los 8 y 11 años y 2 (6%) a una edad mayor a los 15años.



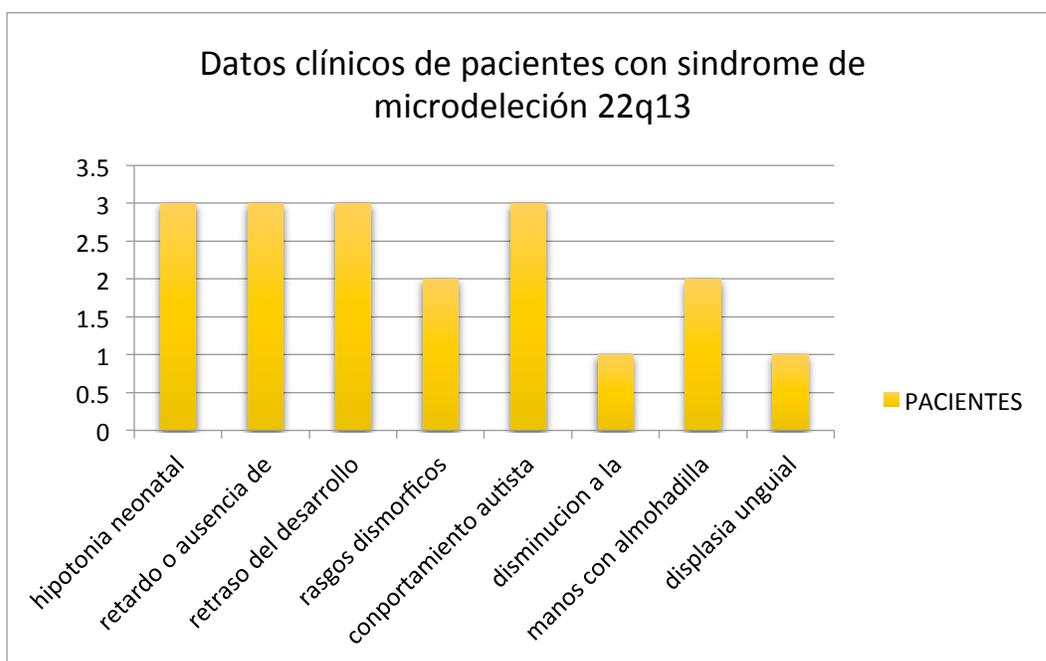
Del total de casos de síndrome de Prader Willi 5 (100%) presentaron hipotonía de leve a severa al nacimiento, déficit intelectual, problemas conductuales, hipogonadismo y obesidad, 4(80%) braquidactilia y facies característica (dentro de los rasgos representativos están ojos almendrados y cara redonda); ninguno de los pacientes estudiados presento alteraciones en la pigmentación de la piel y solo un paciente se reporto con crisis convulsivas de difícil control.



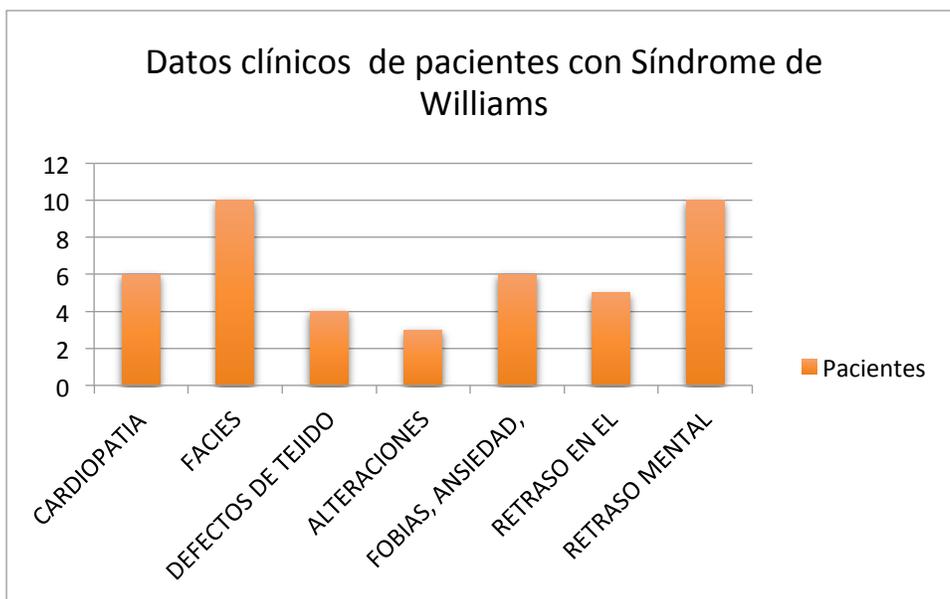
Con respecto al subgrupo pacientes con síndrome de Angelan: 2 (100%) casos se encontró retraso en el neuro desarrollo, crisis convulsivas de difícil control, tremor en extremidades superiores y risa espontanea; en 1 (50%) caso se presento microcefalia, hipo pigmentación y ataxia, en esta ultima característica se sesga ya que el otro caso aun no presentaba marcha autónoma.



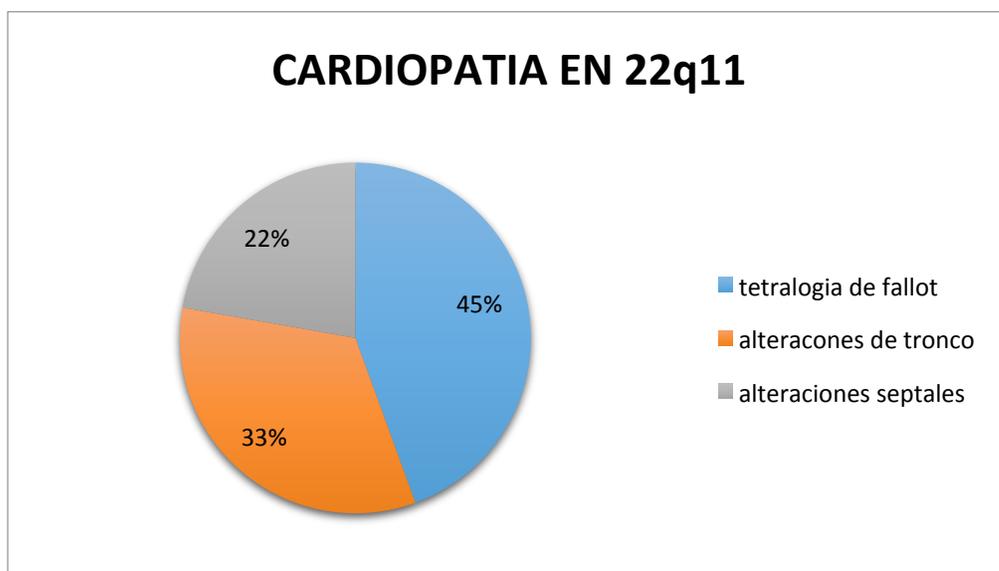
En 3 (100%) casos para síndrome de microdelección 22q13 se documentó ausencia del lenguaje, retraso en el neurodesarrollo, comportamiento autista e hipotonía al nacimiento, solo uno de los caso presento alteraciones en la percepción del dolor y displasia ungueal, cabe mencionar que el resto de los paciente solo presentaban discretas dismorfias faciales (plegamiento del hélix, fisuras palpebrales largas y paladar alto).



El 100% de los pacientes con síndrome de Williams fueron diagnosticados por facies características (puente nasal aplanado con una punta bulbosa , boca grande con un labio inferior evertido y ancho, edema peri orbitario , epicanto y el iris estelar), 6 (60%) de los casos se diagnosticaron con cardiopatía congénita; por orden de frecuencia se encontró (83.3%) estenosis supra valvular,(13.7 %) con CIV e insuficiencia tricuspídea. 6 (83.3%) de los casos presentaron alteraciones en el comportamiento ( fobias, agresividad, TDAH), 3 (30%) se documento alteraciones en el tejido conectivo (hiperlaxitud articular, antecedente de luxación de rotula, hernias inguinales y umbilicales), solo en un caso se asocio con sinostosis radio cubital. Dentro de las características endocrinológicas encontradas en esta población fueron hipogonadismo (20 %) e hipercalcemia (10%).

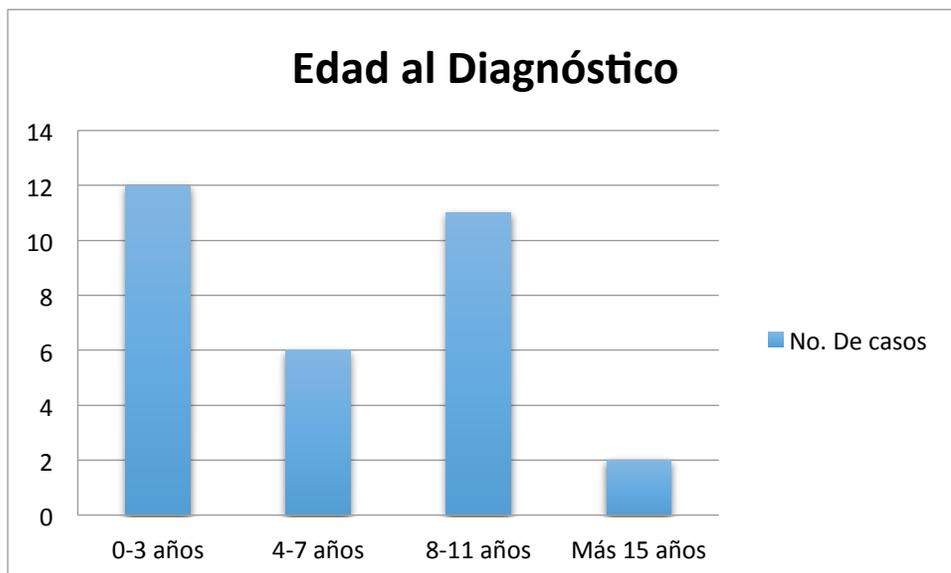


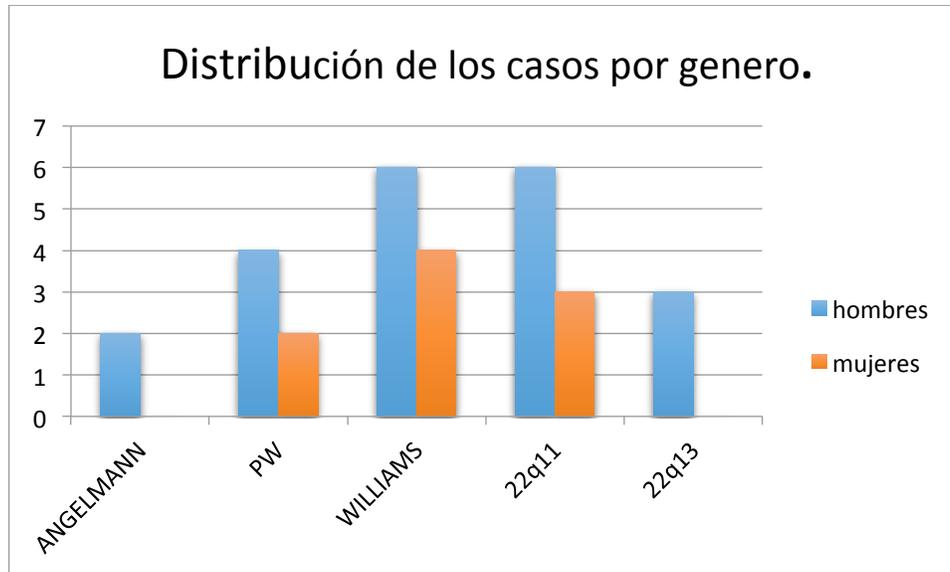
Por último en 9 (100%) de los casos de síndrome de microdelección 22q11 presentaron cardiopatía congénita, por frecuencia encontramos que el 45% corresponde al tipo tetralogía de Fallot, 33% a alteraciones como truncales (doble salida de ventrículo derecho, tronco arterioso común, interrupción de arco aórtico) y 22% alteraciones septales (CIVE, CIA Y PCA).



Otras características clínicas frecuente fueron infecciones en vías respiratorias 7 (77.7%) casos, 5 ( 55.5%) con retraso psicomotor de grado variable, 5 ( 55.5%) con dismorfias faciales menores ( dolicocefalia, micrognatia y frente amplia), 4 (44.4%) presentaron alteraciones en paladar ( paladar alto, insuficiencia velo faríngea y paladar hendido), se encontró un caso con parálisis cordal congénita.

Se encontró en dos casos pie equino varo unilateral, antecedente de crisis convulsivas y solo en un caso la asociación de malformación ano rectal; además solo se reporto hipocalcemia la cual se manejo con suplemento del mismo por un periodo corto de tiempo.





Durante la revisión encontramos 4 casos que presentaron microduplicaciones y microdeleciones en cromosoma 15.

El primer caso  $45,XX,rob(15;15)$  donde se documentó una duplicación de la región de Prader Willi/Angelman, observado un incremento en la señal de fluorescencia,  $46,XY,+15P+$  y  $46,XY,+15p11.2$  en ellos la detección de incremento de una región no codificante del cromosoma 15 correspondiente a la sonda reportera se realizó como diagnóstico prenatal y posteriormente se corroboró que se trataba de un polimorfismo heredado por rama paterna, el cual no tenía relevancia clínica.

$47,XX,del(5)(p13)+i(15)(p11p11)$  se detectó en una paciente enviada a la consulta externa con el diagnóstico de Cri Du Chat, en el estudio de citogenética convencional se encontró un cromosoma marcador; como protocolo de estudio se decide realizar FISH con sonda para el cromosoma 15 por la frecuencia de cromosomas marcadores derivados de este. Por medio de este estudio se confirma que se trata de un isocromosoma de brazo corto que posteriormente con el estudio en los padres se pudo concluir que era un marcador heredado por rama materna y que aparentemente no modificaba el cuadro clínico de síndrome de Cri Du Chat.

## DISCUSIÓN.

Los síndromes de microdeleción son definidos como un grupo de desórdenes clínicamente reconocibles caracterizados por una pequeña (< 5Mb) deleción de un segmento cromosómico que abarca múltiples genes asociados a enfermedades, cada uno contribuyendo al fenotipo de manera independiente.

En esta serie se realizó una revisión de los 5 síndromes de microdeleción que es posible diagnosticar en el CMN 20 de Noviembre.

Encontramos un total de 30 casos, con mayor frecuencia para el síndrome de Williams con un total de 10 casos y posteriormente el síndrome de microdeleción 22q11 9 casos; en menor frecuencia solo con 3 casos para síndrome de microdeleción 22q13, mencionando que en uno se realizó el diagnóstico solo por cariotipo de bandas GTG; lo antes descrito concuerda con lo reportado en la literatura internacional.

Dentro de los datos encontrados llama la atención la variabilidad en las edades a las que se realizó el diagnóstico, aunque la mayoría de los casos se diagnosticaron entre los 0-3 años, observamos que dos casos el diagnóstico se realizó a edades tardías; esto se puede justificar ya que no somos un servicio de primer contacto y por la dificultad que implica realizar el diagnóstico por parte de primer nivel ya que existe una expresividad variable.

Dentro de los objetivos de este estudio se encontraba realizar análisis de las características clínicas de cada padecimiento y compararlas con lo reportado en la literatura; en el caso del síndrome de Prader Willi los datos clínicos significativos fueron antecedente de hipotonía neonatal asociada a dificultades en la succión, obesidad, déficit intelectual, hipogonadismo y alteraciones conductuales; en el caso de síndrome de Angelman las características más frecuentes en esta población fueron crisis convulsivas de difícil control, risa espontánea, retraso psicomotor.

Los pacientes con síndrome de 22q11 encontramos una variabilidad fenotípica, siendo solo la presencia de cardiopatía congénita el dato clínico que se comparte en el 100% de los pacientes, además encontramos una asociación poco frecuente con atresia anal que no ha sido reportada.

Para el síndrome 22q13 encontramos una frecuencia baja y probablemente sea secundario a un diagnóstico difícil ya que dentro de los hallazgos clínicos que comparten los pacientes son ausencia del lenguaje y comportamiento autista que puede o no acompañarse de dismorfias menores, por lo que se recomendaría realizar una valoración detallada en aquellos pacientes que cumplan con los datos clínicos antes mencionados. Por último en el síndrome de Williams encontramos como dato principal la presencia de estenosis supraaórtica en 8 de los 10 pacientes, los dos casos restantes se descartó esta alteración por ecocardiograma avalado por el servicio de cardiología pediátrica de esta institución; todos los pacientes presentaron dismorfias faciales características (facies de duende) y retraso mental, con menor frecuencia alteraciones endocrínicas siendo las más importantes hipercalcemia y hipogonadismo.

## CONCLUSIÓN

La gran mayoría de los datos que se reportan son compatibles con los publicado en la literatura internacional , sin embargo vemos características que no han sido mencionadas lo que podría ser considerada como característico de nuestra población o que se presente una deleción mayor en estos casos que involucre la pérdida de otros genes que modifican el cuadro clínico; sin embargo debido a tamaño de la muestra no es posible obtener datos confiables para sustentar dicha hipótesis, por lo que sugerimos continuar con el registro de los nuevos casos para ampliar el tamaño de la muestra y de esta forma obtener datos fiables que ayuden a realizar un diagnóstico clínico oportuno.

Se debería incrementar la difusión de los síndromes de microdeleción para lograr que el tratamiento multidisciplinario adecuado.

Además sería importante valorar la posibilidad de realizar estudios moleculares complementarios para determinar el tamaño de la microdeleción y de esta forma realizar una relación fenotipo genético más certera.

## BIBLIOGRAFÍA

- Malcolm S. Microdeletion and microduplication syndromes; *PRENATAL DIAGNOSIS* Volume 16, Issue 13, December 1996, Pages: 1213–1219.
- Krantz ID, Spinner NB. Novel microdeletion syndromes. *Am J Med Genet Part C Semin Med Genet* 145C :323–326
- Gemma L Carvill, Heather C Mefford. Microdeletion syndromes; *Current Opinion in Genetics & Development*, Available online 9 May 2013.
- Vogels A, Fryns JP . Microdeletions and Molecular Genetics. *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol*. February 2004.
- Moncla A, Malzac P, Voelckel MA, Auquier P, Girardot L, Mattei MG, Philip N, Mattei JF, Lalande M, Livet MO. Phenotype-genotype correlation in 20 deletion and 20 non-deletion Angelman syndrome patients. *Eur J Hum Genet*. 1999 Feb-Mar;7(2):131-9.
- Schinzel A. Microdeletion syndromes, balanced translocations, and gene mapping; *Journal of Medical Genetics* 1988, 25, 454-462.
- Yeshaya J, Amir I , Rimon A, Freedman J; Microdeletion syndromes disclose replication timing alterations of genes unrelated to the missing DNA; *Molecular Cytogenetics* 2009, 2:11
- Tassabehji M. Williams–Beuren syndrome: a challenge for genotype–phenotype correlations; *Human Molecular Genetics*, 2003, Vol. 12, Review Issue 2 R229–R237 DOI: 10.1093/hmg/ddg299.
- Slavotinek M. Novel microdeletion syndromes detected by chromosome microarrays; *Human Genetics* August 2008, Volume 124, Issue 1, pp 1-1
- CORTES M, ALLIENDE M, BARRIOS A, ETA COL; Clinical, genetic and molecular features in 45 patients with Prader-Willi Syndrome; *Rev Méd Chile* 2005; 133: 33-41.
- MELLADO C. Síndromes por Microdelección; *Rev Chil Pediatr* 75 (5); 473-

482, 2004

- Ken-Shiung Chen, Prasad Manian, Thearith Koeuth and cols, Homologous recombination of a flanking repeat gene cluster is a mechanism for a common contiguous gene deletion syndrome, *Nature Genetics* 17, 154 - 163 (1997) doi:10.1038/ng1097-154
- Lisa G. Shaffer, James R. Lupski; MOLECULAR MECHANISMS FOR CONSTITUTIONAL CHROMOSOMAL REARRANGEMENTS IN HUMANS, Annual Review of Genetics, Vol. 34: 297-329 -December 2000)
- PJ Hastings, James R Lupski, Susan M Rosenberg, Grzegorz Ira; Mechanisms of change in gene copy number, Nat Rev Genet. 2009 August; 10(8): 551–564.
- Charles A. Williams, MD, Daniel J. Driscoll, MD, PhD, and Aditi I. Dagli, MD ;Clinical and genetic aspects of Angelman syndrome , *Genetics IN Medicine*
  - Volume 12, Number 7, July 2010
- Philan. K, MacDermid H.E; The 22q11 Deletion Syndrome; Mol Syndromol 2011;2:186–2012