



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

ANÁLISIS CLÍNICO, CITOGENÉTICO Y MOLECULAR DE UN CASO FAMILIAR DE
t(2;9)(q31;p22) RESULTANDO EN TRISOMÍA PARCIAL 2q Y MONOSOMÍA
PARCIAL 9p Y DE UN CASO CON MONOSOMÍA 9p24

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN GENÉTICA MÉDICA

PRESENTA:

DRA. NAYLA YAZMÍN LEÓN CARLOS

TUTORA: DRA. VERÓNICA FABIOLA MORÁN BARROSO

ASESORES DE TESIS: DRA. CONSTANZA GARCÍA DELGADO

M. en C. ALICIA BEATRIZ CERVANTES PEREDO



CIUDAD DE MÉXICO, FEBRERO 2017



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.

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

Directora de tesis:



Dra. Verónica Fabiola Morán Barroso
Jefe del Departamento de Genética
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, Universidad Nacional Autónoma de México

ÍNDICE

Resumen

1.	Marco teórico.....	3
1.1	Estructura de los cromosomas humanos	3
1.2	Clasificación de los cromosomas humanos	4
1.3	Ciclo celular	6
1.3.1	Mitosis.....	9
1.3.2	Meiosis.....	10
1.4	Técnicas de análisis cromosómico.....	12
1.4.1	Técnicas de análisis citogenético	12
1.4.2	Técnicas de citogenética molecular	14
1.5	Indicaciones clínicas para realizar cariotipo	17
1.6	Clasificación de las alteraciones cromosómicas.....	19
1.6.1	Alteraciones cromosómicas numéricas	19
1.6.2	Alteraciones cromosómicas estructurales	21
1.7	Características del cromosoma 2 humano	27
1.7.1	Síndrome de trisomía 2q pura	28
1.8	Características del cromosoma 9 humano	29
1.8.1	Síndrome de monosomía 9p.....	31
2.	Planteamiento del problema	33
2.1	Pregunta de investigación.....	33
3.	Justificación.....	34
4.	Objetivos	35
4.1	Objetivo general.....	35
4.2	Objetivos específicos	35
5.	Hipótesis	36
6.	Material y métodos	36
7.	Resultados del análisis estadístico	37
7.1	Análisis estadístico de las alteraciones de los cromosomas 2 y 9 en el HIMFG	37
8.	Discusión del análisis estadístico	39
9.	Presentación del caso clínico 1	41
10.	Análisis citogenéticos del caso clínico 1	45
11.	Discusión del caso clínico 1.....	50
12.	Presentación del caso clínico 2	63
13.	Resultados citogenéticos del caso clínico 2.....	66
14.	Discusión del caso clínico 2.....	70
15.	Conclusiones.....	74

16. Bibliografía	76
------------------------	----

Anexos

Anexo I: Técnica de cariotipo con bandas GTG

Anexo II: Técnica de FISH

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

Anexo IV: Carta de consentimiento informado para fotografías

Resumen

Introducción: Las translocaciones son las cromosopatías estructurales más frecuentes, presentes en 1:1000 recién nacidos vivos; las aberraciones desbalanceadas implican ganancia o pérdida de material genético y pueden resultar en trisomías o monosomías parciales. Ejemplos de estas alteraciones son la trisomía 2q y la monosomía 9p. En esta tesis se describen dos casos: el primero es un caso familiar de $t(2;9)(q31;p22)$ en el que la propósita presentó malformaciones secundarias a trisomía parcial 2q y monosomía parcial 9p. El segundo caso corresponde a una paciente en la que se detectó por citogenética convencional una $t(2;9)(p10;p24)$ *de novo* aparentemente balanceada. **Objetivo principal:** Caracterizar clínica, citogenética y molecularmente a una paciente con trisomía parcial 2q y monosomía parcial 9p derivada de un caso familiar de $t(2;9)(q31;p22)$ y a una paciente con monosomía 9p24. **Justificación:** Los pacientes con malformaciones múltiples requieren de la realización de cariotipo para descartar alteraciones cromosómicas. Al encontrarse una aberración estructural no balanceada está indicado extender el estudio a la familia para realizar la relación fenotipo-genotipo y brindar asesoramiento genético. **Material y métodos:** Este trabajo se dividió en dos partes, la primera fue el análisis de la frecuencia y tipo de alteraciones de los cromosomas 2 y 9 identificadas en el Laboratorio de Citogenética del Depto. de Genética del HIMFG en un periodo de 10 años (2005-2014). La segunda parte corresponde al estudio clínico y citogenético con cariotipo con bandas GTG y FISH, a las propósitas y el estudio citogenético familiar. **Resultados:** Se identificaron 22 reportes que involucraron a los cromosomas 2 y/o 9, lo cual representa el 0.38% de los 5,762 cariotipos reportados en este periodo. Se observó con mayor frecuencia alteraciones del cromosoma 9 vs el 2 en una relación 4:1. El primer caso correspondió a una recién nacida con dismorfias, catarata, paladar hendido y cardiopatía. Se realizó cariotipo con bandas GTG que reportó: $46,XX,add(9)(p22)$, el estudio materno fue: $46,XX,t(2;9)(q31;p22)$, con lo que se integró el cariotipo de la paciente como: $46,XX,der(9)t(2;9)(q31;p22)mat$. El abuelo y bisabuelo maternos fueron portadores identificados por FISH. En el segundo caso se estudió a una paciente femenina de 5 años con diagnósticos de retraso global del desarrollo, talla baja y endotropía bilateral. El estudio citogenético reportó $46,XX,t(2;9)(p10;p24),del(9)(p24)$. Esta alteración cromosómica ocurrió *de novo*. **Discusión:** En la mayoría de los casos reportados con alteraciones en el cromosoma 2 o en el 9, también presentaban otro cromosoma involucrado y con

diversos puntos de ruptura, lo que dificultó el establecer la relación fenotipo-genotipo. Llama la atención en particular que sean más frecuentes las alteraciones en el cromosoma 9 que en el 2 y que entre estas haya 5 casos que corresponden a monosomía 9p. La frecuencia de estos casos en nuestra experiencia refleja que el HIMFG es una Institución de referencia para este tipo de pacientes. La primera paciente presentó múltiples malformaciones congénitas debido a la ganancia de material genético de 2q31 y a la pérdida de material de 9p22, secundarias a la segregación adyacente 1 de la translocación materna. La madre, abuelo y bisabuelo maternos no muestran alteraciones ya que son portadores balanceados. Se han reportado 4 casos con regiones cromosómicas similares involucradas, compartiendo con el caso presentado: frontal prominente, fisuras palpebrales cortas, pabellones auriculares dismórficos, puente nasal deprimido, narinas antevertidas y malformaciones del tracto urinario. Realizando un análisis con los casos reportados en la literatura, la paciente presenta más datos clínicos de la trisomía 2q, que resultó letal debido a la cantidad de material genético extra del cromosoma 2 y a las malformaciones asociadas a ésta. En el segundo caso, se encontraron 7 pacientes similares con monosomía 9p24 pura. Las características que compartió la paciente con lo previamente reportado son: retraso del desarrollo psicomotor, cejas arqueadas, narinas antevertidas, punta nasal bulbosa, anomalía de pabellones auriculares, *filtrum* largo y labio superior delgado; por otra parte los datos que sólo estuvieron presentes en la propósita son talla baja, plagiocefalia, fisuras palpebrales ascendentes, estrabismo, teletelia, dedos largos y malformación del sistema nervioso central. **Conclusión:** En los dos casos presentados hubo pérdida de 9p24 que está relacionada con alteraciones en el desarrollo sexual. Estas anomalías no estuvieron presentes en ningún caso, lo que se atribuye a que ambos pacientes eran femeninos y las alteraciones genitales y/o gonadales se presentan principalmente en individuos XY. Las dos pacientes comparten las siguientes alteraciones: malformación del sistema nervioso central, narinas antevertidas, anomalías en pabellones auriculares y *filtrum* largo; sin embargo resulta complicado hacer una comparación de ambas pacientes debido a que en el primer caso la región perdida de 9p es más extensa, además de que el fenotipo de esta paciente se debía en particular también a trisomía de 2q31. Se ofreció asesoramiento genético con bases moleculares en ambos casos.

1. Marco teórico

1.1 Estructura de los cromosomas humanos

Los cromosomas se encuentran en el núcleo de las células eucariontes y se llaman así por la propiedad de teñirse con algunos colorantes (del griego *chromos*: color, *soma*: cuerpo). Las células somáticas de un individuo tienen un número constante de cromosomas que es diploide ($2n$) y son 46 cromosomas. Los gametos tienen un número cromosómico denominado haploide (n) que corresponde a 23, 22 de ellos son autosomas y el par restante son cromosomas sexuales; en las mujeres es 46,XX y en el varón 46,XY ^{Miller O, 2001; Gersen S, 2013}.

Los cromosomas tienen dos regiones de particular importancia: centrómero y telómeros. El centrómero o constricción primaria mide aproximadamente 10 Mb, mantiene unidas a las cromátidas hermanas y participa en la unión correcta al huso mitótico para una segregación cromosómica adecuada en la mitosis y la meiosis. La posición del centrómero divide al cromosoma en dos brazos: el corto o brazo p y el largo o brazo q. Está conformado por DNA alfa satélite que se asocia con proteínas específicas del centrómero llamadas CENP ^{Przewlaka MR, 2009}. CENPA es una variante de la histona H3, se encuentra en la placa interna del cinetocoro e inicia el ensamblaje de CCAN (del inglés “*constitutive centromere associated network*”); este complejo incluye a las demás proteínas CENP (B-W) cuya función es formar el cinetocoro ^{Ogiyama Y, 2012}.

El cinetocoro es un complejo proteico que participa en la unión con los microtúbulos, tiene forma de un disco tripartita que comprende a las placas interna y externa separadas por una interzona. La placa interna interacciona con la cromatina, mientras que la externa lo hace con los microtúbulos ^{Fukugawa T, 2014}. Los cinetocoros que no se encuentran unidos funcionan como señal en el punto de control para frenar la mitosis hasta que éstos se encuentren adecuadamente ensamblados, siendo un mecanismo de protección contra la pérdida de cromosomas ^{Frederick G, 2013}. Algunas proteínas (INCENP, sobrevivina, borealina, aurora cinasa) se mueven de la placa externa hacia la placa metafásica del huso donde se forma el surco de división, constituyendo el complejo CPC (*chromosomal passenger complex*). Éste regula la alineación de los cromosomas en la placa metafásica y su adecuada segregación censando la tensión de los microtúbulos ^{Ogiyama Y, 2012}.

Los telómeros son las estructuras finales de los cromosomas, están constituidos por la secuencia de DNA no codificante altamente repetitiva -TTAGGG-, formando un segmento de 10 000 pb ^{Hansen NJ, 2005}. El telómero termina en una cadena sencilla de DNA que se enrolla sobre sí misma formando un par de estructuras conocidas como vuelta T y vuelta D, esto se da gracias a la intervención de proteínas como TRF1 y TRF2 (Factor de unión de Repeticiones Teloméricas 1 y 2 respectivamente). En la vuelta D se forma una triple hélice, cuyo objetivo es evitar la fusión de extremos cromosómicos y proteger contra la acción de exonucleasas. Los telómeros participan entre otros aspectos en mantener la estabilidad cromosómica y la división celular ^{Galati A, 2013}. El complejo de proteínas llamado cubiertina o *shelterin* está formada por seis proteínas: TRF1, TRF2, TIN2, POT1, TPP1 y RAP1, tiene las funciones de proteger y regular la longitud del telómero interactuando con la enzima telomerasa para evitar que el telómero se recorte en cada proceso de replicación del DNA ^{Speicher R, 2006}.

La telomerasa es un complejo enzimático formado por una subunidad TERT que es una retro-transcriptasa y una TERC que añade nuevas unidades de repetición al extremo 3' usando un templado de RNA. TERT se encuentra altamente expresada en células madre y tumorales, su regulación se ha implicado con p53, NFKB, NGF, Smad3 y BMP7, quienes inducen la inhibición del promotor de hTERT ^{Lu W, 2013}.

1.2 Clasificación de los cromosomas humanos

Los términos cariotipo, cariograma e idiograma se utilizan indistintamente, sin embargo tienen diferentes significados. El cariograma es el conjunto ordenado de los cromosomas en dibujo, imagen digitalizada o fotografía, de un organismo determinado. El esquema de un cariograma se denomina idiograma. El cariotipo se refiere a la constitución cromosómica de un individuo, tejido o línea celular ^{ISCN, 2013}.

Los cromosomas según la posición de su centrómero se clasifican en (Figura 1): ^{ISCN, 2013}

- 1) Metacéntrico: el centrómero se localiza en la parte central del cromosoma, teniendo ambos brazos el mismo tamaño.
- 2) Submetacéntrico: el centrómero se localiza proximal a uno de sus extremos, dando como resultado un brazo corto o p y un brazo largo o q.

3) Acrocéntrico: el centrómero está situado muy próximo a uno de sus extremos, quedando el brazo corto muy reducido, corresponden a los cromosomas acrocéntricos 13, 14, 15, 21 y 22 que se caracterizan porque en los brazos cortos presentan la constricción secundaria, que es un adelgazamiento de las cromátidas formando una región llamada tallo y terminan en una región más gruesa llamada satélite. El tallo es el lugar en donde se localizan los genes de RNA ribosomal, durante la interfase se reúnen para formar el nucléolo, por lo que también son llamados regiones organizadoras nucleolares o NOR ^{Gersen S, 2013}.

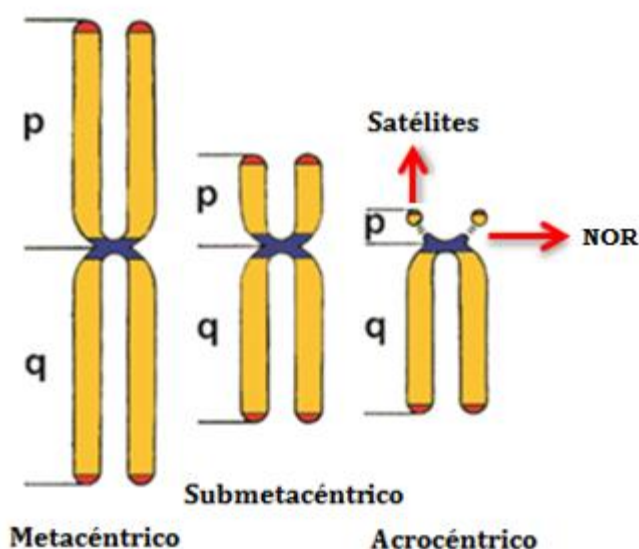


Figura 1. Clasificación de los cromosomas según la posición del centrómero. Imagen modificada de R. Speicher, 2006.

Cuando los cromosomas son teñidos con métodos que no producen bandas, se pueden clasificar en 7 grupos basados en el orden de tamaño y la posición del centrómero ^{ISCN 2013} (Figura 2):

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

- Grupo F: Cromosomas 19 y 20, son metacéntricos.
- Grupo G: 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.

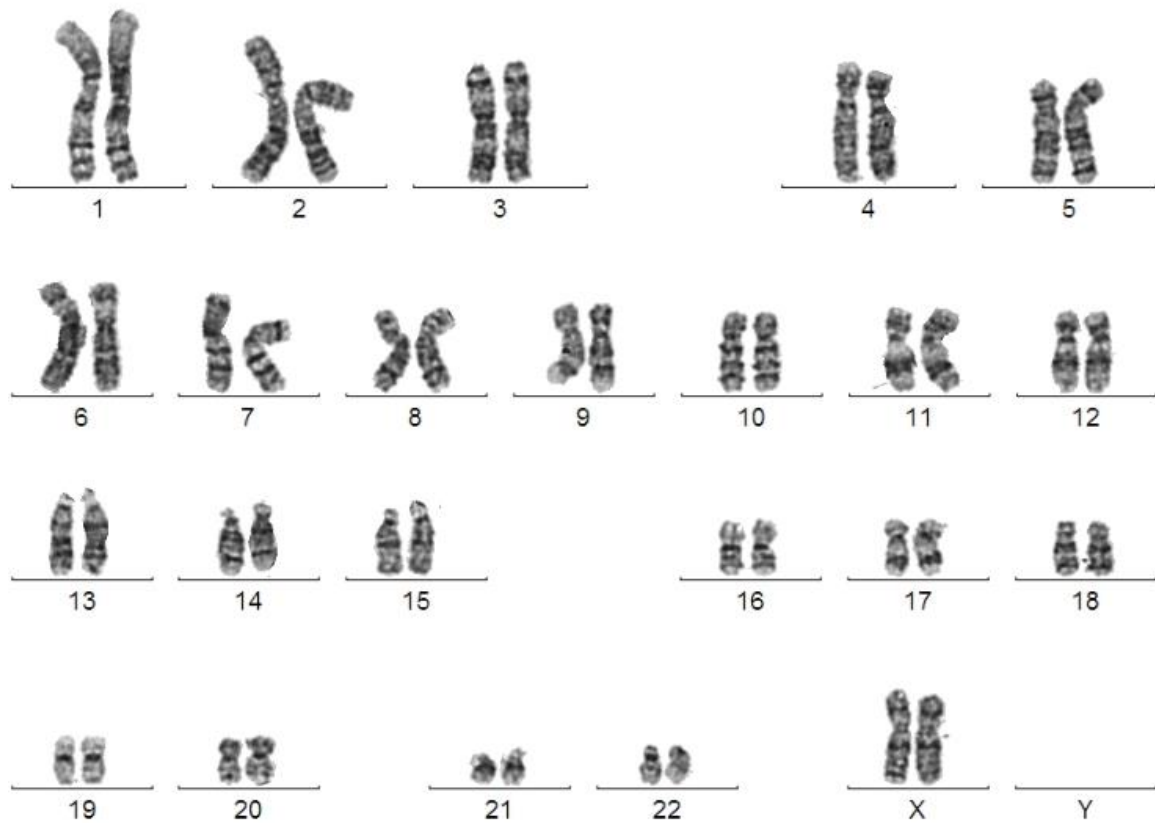


Figura 2. Cariograma normal de un individuo femenino con tinción de bandas GTG (Biol. Ariadna Berenice Morales Jiménez, Lab. de Citogenética, Depto. de Genética, HIMFG).

1.3 Ciclo celular

El ciclo celular está formado por una serie de etapas que permiten que la célula se duplique y se divida para producir dos células hijas. Con base en las actividades celulares visibles al microscopio óptico, el ciclo celular tiene dos fases principales que son: la fase M o de división y la interfase ^{Stein GS, 2002}. La división o mitosis es la fase en la que los cromosomas duplicados se separan y se forman dos células hijas. La interfase es el periodo entre las divisiones celulares, donde la célula crece y efectúa actividades metabólicas ^{Truman AW, 2012}. La interfase está formada por las fases G1 (Gap1), S (síntesis) y G2 (Gap2), durante ellas se realizan el crecimiento celular

y la replicación del material genético. Cuando un organismo ya no requiere de la proliferación continua de un tipo celular específico, debido a la ausencia de estímulo o alta especialización celular, las células abandonan el ciclo y entran en un periodo de latencia denominado G₀; en algunos casos con el estímulo adecuado pueden entrar nuevamente al ciclo celular ^{Kitonazo A, 2005}.

El sistema de control se basa en la regulación cíclica de la actividad de un complejo conformado por ciclinas y cinasas dependiente de ciclinas (CDK); además participan otras proteínas reguladoras que activan o inhiben la actividad de dichas moléculas, como Wee1, Cdc25, p21 y p27 ^{Bloom J, 2007}. Durante la interfase la cinasa Wee1 fosforila e inhibe el complejo MPF (*Mitosis Promoting Factor*). Al final de la fase G₂, CDK1 es activada por la fosfatasa Cdc25 que remueve el fosfato del sitio inhibidor. Las proteínas p21 y p27 regulan negativamente el ciclo celular, por medio de la inhibición de cinasas dependientes de ciclina. Existen varios puntos de verificación del ciclo celular, en los cuales éste se detiene si los eventos previos no han sido realizados, como en el caso de que la replicación este incompleta o que los cromosomas no estén adecuadamente ensamblados a los microtúbulos del huso mitótico ^{Strachan T, 2010}. El ciclo se pausa si hay daño al DNA para poder repararlo. Los puntos de control se regulan por medio de señales extracelulares e intracelulares que promueven o inhiben la proliferación celular.

La fase G₁ es una etapa de crecimiento celular en donde los organelos y el tamaño celular se duplican. Existe síntesis de RNA y proteínas muy activa. Las células son capaces de responder a estímulos locales como citocinas o sistémicos como hormonas. También tienen la capacidad de responder a estímulos proliferativos y antiproliferativos ^{Li Y, 2014}. La respuesta a señales proliferativas requiere de las cinasas CDK4 y CDK6, además de ciclinas D1, D2 y D3, que actúan durante la mayor parte de la fase G₁, y la ciclina E, que se activa en la transición de G₁ a S ^{Besson A, 2008}. El complejo ciclina D/CDK4-6 fosforila a la proteína Rb (retinoblastoma), lo cual detiene su efecto inhibitorio sobre el factor de transcripción E2F, que está implicado en la expresión de un gran número de genes reguladores del ciclo celular y del progreso hacia la fase S ^{Frías S, 2012}.

La fase S es la etapa de síntesis de DNA, cada cromosoma se duplica y al final de esta fase queda formado por dos cromátides hermanas. La replicación inicia en sitios específicos de los cromosomas, denominados orígenes de replicación; cada cromosoma posee aproximadamente 25 de estos sitios ^{Karp, 2013}. La replicación del

DNA se basa en la complementariedad de bases, este proceso tiene varios mecanismos de regulación, con un promedio de un error por cada mil millones de nucleótidos que se incorporan ($1/10^9$) ^{Stein GS, 2002}. Esta fase está principalmente controlada por la CDK2 con unión a la ciclina A. La actividad de cinasa del complejo CDK2/ciclina A previene que la replicación ocurra más de una vez dentro de un mismo ciclo celular mediante la asociación de Cdc6 con el complejo ORC (*origin recognition complex*) en el sitio de inicio de la replicación y a los lados de éste se ensamblan en forma de anillos las proteínas Mcm, constituyendo el complejo prerreplicativo; luego la S-CDK activa inicia la síntesis del DNA y al fosforilar a Cdc6, a ORC y a las proteínas Mcm provoca desensamblaje del complejo prerreplicativo y la degradación de Cdc6 y Mcm ^{Pajalunga D, 2008}.

En la fase G2 la célula sigue creciendo, continúa con la síntesis de proteínas y de RNA, se verifica el estado de la cromatina, hay reparación postreplicativa de daños, tales como apareamientos erróneos entre las bases y rupturas de una o doble cadenas de DNA y se prepara para realizar la mitosis ^{Besson A, 2008}.

1.3.1 Mitosis

Es el mecanismo por el cual se dividen las células somáticas y germinales. Asegura la producción de dos células hijas idénticas y se divide en las etapas de: profase, metafase, anafase, telofase y citocinesis ^{Karp G, 2013}.

La profase inicia cuando los cromosomas se condensan y se hacen visibles. 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 ^{Strachan, 2010}. Los centrómeros de cada cromosoma se asocian a las proteínas que conforman los cinetocoros y con los complejos pasajeros de los cromosomas o CPC (*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 ^{Karp G, 2013}.

En la metafase los cromosomas alcanzan su estado máximo de condensación y se ubican en el ecuador del huso mitótico, formando la placa metafásica ^{Stein GS, 2002}. En la anafase hay separación de las cromátides hermanas, debido a que el complejo APC (complejo promotor de anafase) ubiquitina a la securina y libera a la proteína separasa, la cual degrada a la cohesina de los centrómeros ^{Kitonazo A, 2005}. La actividad del complejo CDK1/ciclina B hace que la afinidad de APC por su subunidad activadora, la proteína Cdc20, aumente. Una vez activado, añade ubiquitinas a la ciclina B, degradándola. Al disminuir la actividad enzimática del complejo CDK1/ciclina B, se desestabiliza el extremo distal de los microtúbulos. El acortamiento de los microtúbulos crea una fuerza de tracción que atrae a las cromátides hacia los polos. Esta serie de procesos da como resultado que las cromátides hermanas se separen y se segreguen en forma balanceada hacia cada uno de los polos celulares ^{Nussbaum RL, 2008}.

La telofase inicia al momento en que las cromátides llegan a cada uno de los polos de la célula. En esta fase la envoltura nuclear vuelve a estructurarse alrededor de las cromátides. En telofase tardía empieza la transcripción y se restablece el nucléolo ^{Paweletz N, 2001}. La citocinesis comienza con la constricción de la membrana en el plano de la placa metafásica proceso en que participa la cinasa Aurora B. Durante la metafase se deposita por debajo de la membrana celular un cinturón formado por filamentos de actina unidos a miosina; la fosforilación inhibitoria del complejo

CDK1/ciclina B se pierde debido a que a partir de la anafase la ciclina B es degradada y el complejo pierde actividad, por lo que la actina se activa, se contrae y da lugar al surco de división. Se forman el retículo endoplásmico y el aparato de Golgi de cada una de las células hijas y se restablece el tránsito vesicular ^{Strachan 2010;}
Lisker R, 2013 .

1.3.2 Meiosis

La meiosis es un proceso de división presente en las células germinales que genera gametos femeninos y masculinos haploides a partir de células diploides ($2n$), que experimentarán una replicación de su material genético seguida de dos divisiones celulares sucesivas con la finalidad de generar cuatro células haploides ($1n$) ^{Karp G, 2013} . Las divisiones celulares, una reduccional (meiosis I) y una ecuacional (meiosis II), comprenden profase, metafase, anafase y telofase. La meiosis genera recombinación cromosómica y la segregación al azar de los cromosomas de origen paterno y materno produce variabilidad ^{Gersen S, 2013} .

En la primera división meiótica, la profase, debido a que es un periodo largo y complejo, se divide en cinco etapas: leptoteno, cigoteno, paquiteno, diploteno y diacinesis ^{Gersen S, 2013} .

En **leptoteno** comienza al condensarse los cromosomas y hacerse visibles. Cada cromosoma está formado por un par de cromátides hermanas, que resultan de la replicación durante la fase S premeiótica. Las cromátides hermanas se encuentran estrechamente unidas por moléculas como las cohesinas REC8. En la cara interna de los cromosomas se forma una banda continua que sirve de soporte a todo lo largo de cada uno de los cromosomas homólogos, denominado elemento axial o lateral, el cual está formado por un polímero de proteínas SYCP2 y SYCP3 (proteínas del complejo sinaptonémico tipos 2 y 3 respectivamente). El proceso de recombinación inicia en esta etapa cuando la proteína SPO11 genera rupturas de doble cadena en el DNA ^{Baudat, 2013} .

Durante **cigoteno** los cromosomas homólogos se alinean y aparean. Este apareamiento se da por la adición de las proteínas SYCP1 (proteína del complejo sinaptonémico tipo 1). Por medio de su sinapsis se genera una estructura denominada complejo sinaptonémico, cuya formación inicia en los telómeros y avanza hacia la región centromérica. Los cromosomas X y Y también establecen

sinapsis, pero únicamente lo hacen en los extremos distales de los brazos cortos; región conocida como pseudoautosómica (PAR1) ^{Bhalla, 2008}.

La fase de **paquitenio** se caracteriza por la condensación de los satélites de los cromosomas acrocéntricos, el tallo desaparece y se asocian con el resto del cromosoma. Durante esta etapa se forma un nuevo grupo de complejos proteicos ubicados en forma aleatoria a lo largo del complejo sinaptonémico, denominados nódulos de recombinación tardíos. Sus principales componentes estructurales son las proteínas MLH1 y MLH3, que forman parte de la maquinaria de reparación de bases mal apareadas (MMR) ^{Duro E, 2015}.

Durante **diploteno** se hacen visibles puntos de contacto en diferentes lugares de las cromátidas, llamados quiasmas, que corresponden a los lugares en donde al final del paquitenio los nódulos meióticos maduros produjeron entrecruzamientos entre cromátidas homólogas, en promedio hay 52 quiasmas por cada célula. La cohesina Rad21 es la responsable de mantener unidas a las cromátidas que han intercambiado material y de mantener el quiasma visible durante la separación de las cromátidas. En la meiosis femenina la célula entra en la etapa de dictioteno, la cual se caracteriza por un arresto prolongado; inicia de manera tardía en la vida fetal y termina antes de la ovulación cuando aumentan los niveles de hormona luteinizante ^{Duro E, 2015}.

Diacinesis es la última fase de la profase I, el huso meiótico se ensambla y los cromosomas se preparan para su segregación. Finaliza con la desaparición del nucléolo, la ruptura de la membrana nuclear y el inicio del movimiento de las tétradas hacia la placa metafásica; además se incrementa la actividad del factor promotor de mitosis (MPF) ^{Del Castillo RV, 2012; Gersen S, 2013}.

Durante la metafase de meiosis I cada cromosoma homólogo de cada bivalente está conectado al huso meiótico de polos opuestos. Ambos cinetocoros de cada par de cromátidas hermanas se ensamblan al mismo polo del huso microtubular, esta interacción se conoce como adhesión monovalente ^{Peters JM, 2005}. En la anafase de meiosis I se separan los cromosomas homólogos, por la disolución de los quiasmas y la pérdida de cohesión entre los brazos de cromátidas hermanas. La cohesión en el centrómero entre cromátidas hermanas permanece, debido a que las proteínas de la familia shugoshina (SGO1/SGOL1) y la fosfatasa PP2A protegen a la cohesina REC8 situada en esta zona. La envoltura nuclear puede o no formarse durante la telofase I ^{Gersen S, 2013}.

La meiosis II es un proceso similar a la mitosis I, en esta no hay fase S por lo cual al inicio del ciclo la célula es $1n\ 2c$; sin embargo en anafase II las cromátidas de cada cromosoma migran hacia polos opuestos y como resultado se obtienen células hijas haploides $1n\ 1c$.

1.4 Técnicas de análisis cromosómico

La citogenética humana tiene como objetivo el análisis de las características de los cromosomas por medio del microscopio de luz ^{Lisker R, 2013}. Las técnicas tradicionales de bandeo permiten el estudio global de la estructura cromosómica y tienen diversas aplicaciones en el diagnóstico clínico e investigación. En la clínica las técnicas citogenéticas por ejemplo se usan para la detección de diversas cromosopatías, para el diagnóstico prenatal y preimplantación y en el área oncológica para diagnóstico y pronóstico. En cuanto a la investigación se utilizan para la localización de genes, detección de material genético en células somáticas híbridas, análisis de la estructura cromosómica, estudio del movimiento de los cromosomas en el núcleo y en la detección de deleciones de material genético ^{Jacobs P, 2014}. En las últimas dos décadas las técnicas citogenéticas han ganado poder y utilidad con el desarrollo de nuevos métodos de detección con tecnología computacional y herramientas moleculares. Éstas últimas han aumentado la resolución y la capacidad del análisis citogenético ^{Chih-Lin H, 2011}.

1.4.1 Técnicas de análisis citogenético

Es posible realizar un análisis cromosómico convencional con una variedad de tejidos, entre ellos el cultivo de linfocitos T de sangre periférica es rápido, económico y provee un número adecuado de células en división. Sin embargo puede utilizarse cualquier tejido que tenga células que se dividen, como: fibroblastos, células exfoliadas de mucosa, líquido amniótico, vellosidades coriales y médula ósea ^{Moore CM, 2001; Gersen S, 2013}.

En la citogenética convencional hay distintas técnicas de tinción y bandeo, las cuales se observan como regiones oscuras y claras en los cromosomas de acuerdo a un patrón característico de cada uno de ellos. El nivel de resolución se

considera estándar cuando se puede observar un número de 450-550 bandas, mientras que al observarse 800 bandas se considera de alta resolución. Por medio de estas técnicas se pueden detectar alteraciones de máximo 3-5 megabases ^{ISCN 2013}.

- **Bandas GTG:** el nombre proviene de bandas producidas con tripsina y Giemsa, es el método más utilizado. Se producen una serie de bandas claras y oscuras que permiten identificar a cada cromosoma. Las bandas oscuras son ricas en A-T, replican de forma tardía, y corresponden a las regiones heterocromáticas de los cromosomas. Las bandas claras son regiones eucromáticas ricas en C-G, que replican de forma temprana y tienen elevada densidad génica con alta actividad transcripcional ^{Shaffer GL, 2005}.
- **Bandas QFQ:** bandas Q por fluorescencia usando quinacrina, la cual es fluorescente y al unirse al DNA produce un patrón de bandas con distinta intensidad cuando es estimulado con luz fluorescente. Las regiones más brillantes son ricas en A-T y recuerda al patrón de bandas GTG, con excepción de las regiones pericentroméricas de los cromosomas 1, 9 y 16, que se observan débilmente teñidas. Los satélites de los acrocéntricos y las parte distal del cromosoma Y se observan teñidas en forma brillante ^{Chih-Lin H, 2011}.
- **Bandas RHG:** bandas R se producen mediante desnaturalización térmica utilizando Giemsa. También hay bandas R por fluorescencia usando naranja de acridina (bandas RFA). Produce un patrón de bandeo opuesto al que se presenta en las bandas GTG o QFQ, ya que las regiones que se observan claras en estas técnicas son oscuras por el bandeo RHG. Es útil en la investigación de rearrreglos que involucren los telómeros ^{Chih-Lin H, 2011}.
- **Bandas CBG:** tiñe selectivamente regiones cromosómicas, como la heterocromatina constitutiva alrededor de los centrómeros, regiones de heterocromatina polimórfica de los cromosomas 1, 9, 16 y Y. Se realizan mediante la desnaturalización y renaturalización del DNA con soluciones de ácido clorhídrico y de hidróxido de bario, seguida de soluciones salinas a altas temperaturas y tiñendo con Giemsa ^{Gersen S, 2013}.

- **Bandas NOR:** técnica que utiliza tinción con nitrato de plata de manera selectiva a las regiones organizadoras nucleolares (NOR). Se realiza para la identificación de marcadores cromosómicos y rearrreglos o polimorfismos que involucren a los cromosomas acrocéntricos ^{Gersen S, 2013}.
- **Bandas THG:** bandas T por desnaturalización térmica empleando Giemsa. Es una variante de las bandas RHG, que tiñe únicamente los telómeros. Existen técnicas fluorescentes y no fluorescentes ^{Gersen S, 2013}.

1.4.2 Técnicas de citogenética molecular

La introducción en los años 1980 y 1990, de métodos de citogenética molecular como la hibridación *in situ* fluorescente (FISH) y la hibridación genómica comparativa (CGH), permitieron examinar con mayor resolución el genoma ^{Ekong R, 2002; Speicher M, 2005}.

○ Hibridación *in situ* fluorescente (FISH)

Se basa en el marcaje en colores de segmentos de DNA de 100-300 pb, conocidos como sondas, ya sea de forma directa con nucleótidos unidos a fluorocromos o de forma indirecta por incorporación de nucleótidos unidos a grupos como biotina o digoxigenina, los cuales se detectan mediante anticuerpos acoplados a un fluorocromo que emite un color específico por lo que requiere de microscopía con filtros especiales (Figura 3) ^{Riegel M, 2014}. Dentro de las sondas más utilizadas están las centroméricas, teloméricas, de secuencia única, subteloméricas y de tinción de cromosoma completo ^{Gersen S, 2013}.

Las sondas para secuencia única se utilizan principalmente para detectar secuencias específicas de DNA en el genoma y son especialmente útiles 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 blanco o diana tienen un tamaño de 1 – 10 Kb ^{Speicher M, 2005}.

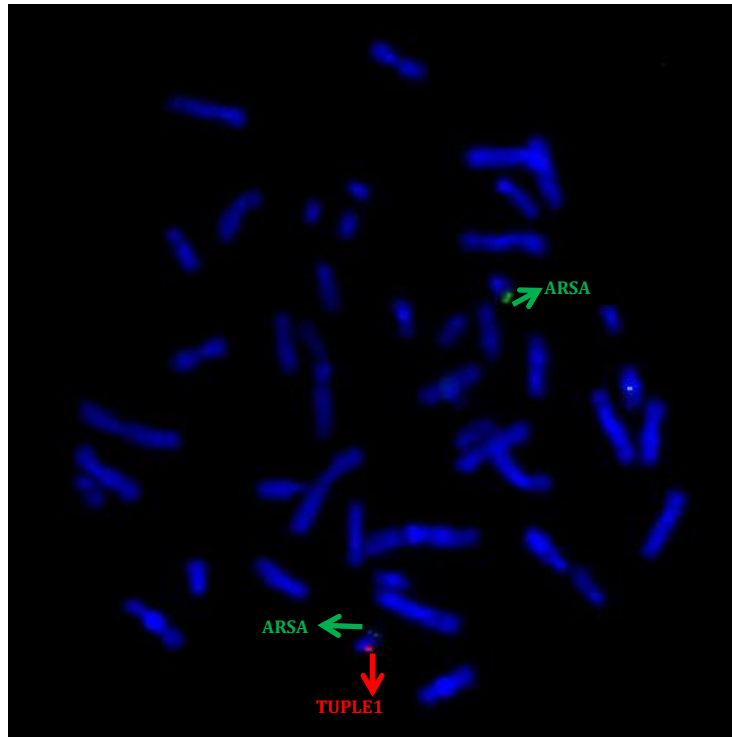


Figura 3. Ejemplo de imagen de análisis de FISH: positivo para delección 22q11.2. Se observa sonda TUPLE1 en color rojo y sonda ARSA en color verde (Vysis®). (Biol. Ariadna Berenice Morales Jiménez, Lab. de Citogenética, Depto. de Genética, HIMFG).

- **Hibridación genómica comparativa (CGH)**

Existen otras técnicas para el análisis cromosómico entre ellas la hibridación genómica comparativa (CGH) y los microarreglos cromosómicos o cartiotipo molecular. Existen 3 tipos de microarreglos: 1) hibridación genómica comparativa sobre microarreglos (o aCGH por sus siglas en inglés), 2) microarreglos basados en polimorfismos de un solo nucleótido (SNPa) y 3) microarreglos de CNV (variantes en el número de copias) ^{Bejjani, 2008}.

La técnica de CGH convencional permite analizar el genoma de un individuo de forma global mediante la detección de cambios en el número de copias de DNA, puede detectar pérdidas o ganancias con una resolución de 5 a 10 Mb. Consiste en marcar el DNA genómico de un individuo control y de una muestra problema con fluorocromos distintos, se cohibridan en una laminilla que contiene cromosomas en metafase de un individuo normal y compiten para la hibridación con los *loci* correspondientes. Las señales fluorescentes son detectadas y examinadas por un

analizador de imágenes. La relación del DNA del paciente con el del control indicará si el DNA del paciente es normal (la relación es de 1:1) o si existe una adición o pérdida en alguna región en particular. Esta técnica permite el análisis de ganancias o pérdidas cromosómicas. La CGH solo detecta alteraciones desbalanceadas, por lo que no identifica translocaciones balanceadas o inversiones cromosómicas ^{Gersen, 2013}.

En la hibridación genómica comparativa sobre microarreglos o cariotipo molecular se utilizan plataformas con pequeñas secuencias de DNA o sondas marcadas, colocándose sobre ésta el DNA de estudio y de referencia para que hibriden de forma competitiva con las sondas. Posteriormente se capturan y cuantifican las intensidades de fluorescencia de las sondas de DNA marcado mediante sistemas digitales. Para analizar los resultados se determina la relación entre la intensidad de la fluorescencia de las señales de hibridación del paciente y de la referencia en las distintas posiciones del genoma. La resolución teórica de un microarreglo está determinada por el tamaño, número y distancia del DNA genómico entre las sondas ^{Shaffer LG, 2004}.

Dentro de las ventajas de aCGH está su capacidad para detectar tanto alteraciones identificadas por citogenética convencional como alteraciones más pequeñas. También permite estudiar las variaciones en el número de copias (CNV) de aproximadamente 100 kb y permite una localización precisa de las alteraciones cromosómicas. Entre sus desventajas está el hecho de que no detecta alteraciones balanceadas como translocaciones e inversiones ^{Walker LC, 2010}.

Los SNPs (polimorfismo de un solo nucleótido) son variantes en la secuencia de DNA en el cual sólo cambia un nucleótido. El microarreglo de SNPs o SNP_a (SNP *array*) se basa en la hibridación de DNA desnaturalizado de un paciente en un microarreglo con dos sondas por posición genómica que contienen SNPs, determinando de forma cuantitativa el número de copias para una región del genoma, sin comparación simultánea con otro genoma de referencia. Las CNV de la muestra se comparan con una base de datos de controles y mediante un *software* especializado. Las ventajas de esta técnica son la capacidad de identificar cambios de un solo nucleótido y la detección de la pérdida de heterocigosidad; sin embargo, no pueden detectar anomalías estructurales balanceadas ^{Askree SH, 2012}.

1.5 Indicaciones clínicas para realizar cariotipo

La principal herramienta para diagnosticar e identificar alteraciones cromosómicas es el cariotipo. Se considera que las cromosomopatías se observan en un 0.5-1% de los recién nacidos vivos, se encuentran en un 6% de los fallecimientos en la época perinatal y en 39-54% de los abortos espontáneos del primer trimestre. Antes de la semana 20 de gestación, son más frecuentes los abortos por aberraciones cromosómicas ^{Warren JE, 2009; Reddy UM, 2012}, así las indicaciones para realizar el estudio citogenético se enlistan en la Tabla 1.

Tabla 1. Indicaciones para realizar cariotipo por grupo de edad ^{Delgado AR, 2005; Shaffer L, 2005}

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 Alteración cromosómica balanceada en un progenitor
Período neonatal
2 o más malformaciones mayores aisladas Presencia de 3 o más malformaciones menores Recién nacido con rasgos dismórficos Recién nacido con genitales ambiguos Óbito de causa desconocida Muerte neonatal de causa inexplicable
Período de lactancia
Dificultades para el aprendizaje Sospecha de cromosomopatía Retraso del desarrollo psicomotor
Período Preescolar-Escolar
Trastornos del crecimiento Retraso del desarrollo psicomotor Sospecha de cromosomopatía
Período de adolescencia
Ginecomastia Falta del desarrollo puberal Amenorrea Retraso mental Sospecha de cromosomopatía
Período del adulto
Padres de niños con anomalías cromosómicas estructurales Abortos de repetición (2 o más abortos) Infertilidad de origen desconocido Diagnóstico prenatal
Todas las edades
Procesos malignos Control de trasplantes de médula ósea

1.6 Clasificación de las alteraciones cromosómicas

Las alteraciones cromosómicas se deben a un cambio en el número o en la estructura normal de los cromosomas. En éstas pueden estar involucrados, desde un cromosoma hasta ser un rearrreglo complejo que incluya a varios ^{Warren JE, 2009; Reddy}

UM, 2012

1.6.1 Alteraciones cromosómicas numéricas

Las alteraciones cromosómicas numéricas se clasifican en aneuploidías y poliploidías ^{Storchova Z, 2011}. Las aneuploidías corresponden a las alteraciones que no son múltiplo exacto del número haploide e incluyen a las monosomías (en que falta un cromosoma) y a las trisomías (existe un cromosoma extra). La única monosomía compatible con la vida en la especie humana es la del cromosoma X, aunque se aborta en el 99% de las ocasiones, tiene una frecuencia de 1:9000 nacidas vivas y se asocia a síndrome de Turner que tiene una frecuencia de 1:2500 nacidas vivas ^{Pinsker, 2012}. Las trisomías ocurren en 3-4% de todos los embarazos, siendo la más frecuente la trisomía 16, la cual no es compatible con la vida. La trisomía más frecuente en recién nacidos vivos es la 21, con una frecuencia en México de 1:650

Secretaría de Salud, 2007; Gersen S, 2013; Loane M, 2013

La **aneuploidía** de cromosomas completos se origina por la no disyunción meiótica, que se refiere a la falta de separación de los cromosomas bivalentes homólogos durante la anafase en meiosis I, o de las cromátidas hermanas durante la meiosis II (Figura 4). La no disyunción puede suceder también durante las primeras divisiones mitóticas del cigoto, lo que da origen a mosaicos celulares. Otro error caracterizado en las primeras divisiones mitóticas es el rezago anafásico, en el cual uno de los cromosomas se pierde, originando una célula hija con monosomía y la otra célula con un complemento cromosómico normal. La no disyunción materna en meiosis I es el origen más común de las aneuploidías, el riesgo de no disyunción se relaciona significativamente con la edad materna a partir de los 35 años. La ausencia de recombinación entre cromosomas homólogos durante la meiosis I o la recombinación muy distal o muy cercana al centrómero predispone a la no disyunción ^{Loane M, 2013}.

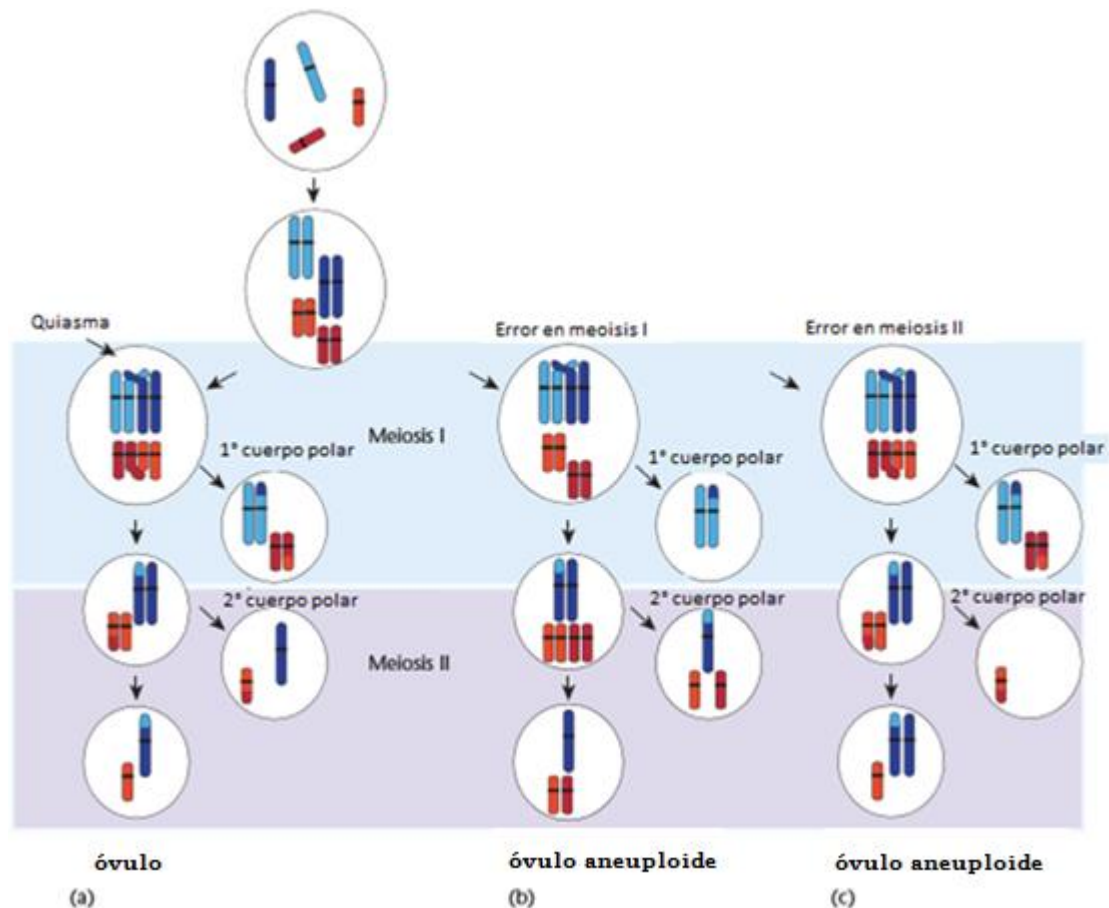


Figura 4. Esquema representativo de no disyunción meiótica. (a) Meiosis materna normal; (b) No disyunción en meiosis I materna; (c) No disyunción en meiosis II materna. Imagen modificada de Storchova Z, 2011.

Las **poliploidías** corresponden a la alteración con complementos de cromosomas múltiples del número haploide, por ejemplo triploidía ($3n$), tetraploidía ($4n$) y pentaploidía ($5n$). La triploidía es la poliploidía más frecuente, afectando hasta el 7.5% de todos los abortos espontáneos. Rara vez estos fetos llegan al tercer trimestre, y si lo hacen mueren en etapa neonatal. Los casos que sobreviven postnatalmente son mosaicos somáticos con una línea diploide normal ^{Taylor H, 2014}. Los mecanismos citogenéticos que llevan a la triploidía son la diginia y la diandria. La primera sucede cuando un espermatozoide haploide fertiliza un óvulo con doble contribución genética debido a que no expulsa su segundo cuerpo polar. La diandria ocurre cuando un óvulo haploide es fecundado de forma simultánea por dos espermatozoides o por uno diploide ^{Gersen S, 2013}.

1.6.2 Alteraciones cromosómicas estructurales

Las alteraciones cromosómicas estructurales se pueden clasificar de acuerdo con: 1) el tipo de alteración presente (por ejemplo: translocaciones, deleciones, anillos, etc.); 2) dependiendo si implican o no ganancia y/o pérdida del material cromosómico, en balanceadas o desbalanceadas ^{Hultén MA, 2010}; 3) de acuerdo a su origen son *de novo* o heredadas por padres portadores asintomáticos o 4) por el número de cromosomas involucrados pueden ser intra o intercromosómicas ^{Kang SH, 2010}.

Las alteraciones cromosómicas estructurales pueden ocurrir por mecanismos como error en la unión cinetocoro-microtúbulo, estrés replicativo, desgaste telomérico, inestabilidad de sitios frágiles comunes, alteración en el entrecruzamiento cromosómico o en la recombinación ^{Russo A, 2015}. Una sola ruptura cromosómica produce una deleción terminal, mientras que dos rupturas pueden resultar en deleción intersticial, anillos o inversiones. Si las dos rupturas ocurren en cromosomas distintos puede ocasionar translocaciones recíprocas o robertsonianas. Las alteraciones en el entrecruzamiento originan duplicaciones y/o deleciones ^{Hultén MA, 2010}.

Los principales tipos de aberraciones cromosómicas estructurales de acuerdo a la implicación o no de ganancia y/o pérdida de material cromosómico son ^{Moore C, 2001}:

❖ Alteraciones estructurales no balanceadas

- **Deleción:** pérdidas de regiones, bandas o sub-bandas cromosómicas; generalmente el cromosoma homólogo es normal por lo que resulta en una monosomía parcial. Se clasifican en 1) terminales: pérdida de un extremo de uno de los brazos cromosómicos (Figura 6a) e 2) intersticiales: pérdida de un segmento dentro de uno de los brazos de los cromosomas, generado por dos rupturas y unión de los extremos (Figura 6c) ^{Gersen S, 2013}.

Los efectos fenotípicos de estas alteraciones pueden ser múltiples y variados, dependiendo de la región afectada. Producen desde malformaciones hasta muerte del embrión; si bien su origen es diverso, la mayoría ocurre por un entrecruzamiento anormal en la meiosis de uno de los progenitores que produce deleciones intersticiales ^{Gersen S, 2013}.

- **Anillos:** Son cromosomas circulares originados por pérdida de los telómeros de ambos brazos y la subsecuente reunión de los segmentos rotos, céntrico cuando contiene el centrómero y acéntrico cuando carece de él; en el caso de los acéntricos se perderían en la siguiente división celular. Los anillos también pueden formarse por la fusión de los telómeros sin pérdida de regiones subtelo méricas. Se han reportado anillos de todos los cromosomas pero los más frecuentes son del 13 y 18. El fenotipo depende de las deleciones implicadas o de la región de la trisomía parcial cuando se presentan como supernumerarios. Son inestables en mitosis debido a los errores que pueden ocurrir en la separación de las cromátidas y como consecuencia pueden variar en número y tamaño lo que provoca un mosaico celular dinámico (Figura 6b) ^{Rosenberg, 2012}.
- **Duplicaciones:** son aberraciones cromosómicas con ganancia de material que resulta en una trisomía parcial. Cuando ésta se encuentra contigua al segmento de origen se le conoce como duplicación en tándem y se clasifica en directa cuando la orientación es normal o inversa si se encuentra en orientación opuesta. Se generan principalmente por recombinación homóloga no alélica, especialmente en regiones con secuencias repetidas de bajo número (LCR, *Low Copy Repeats*) (Figura 6d) ^{Moore C, 2001; Gersen S, 2013}.

❖ **Alteraciones estructurales balanceadas**

- **Translocación:** involucra el intercambio de dos segmentos cromosómicos entre dos o más cromosomas, existen dos tipos, la recíproca y la robertsoniana.
 - 1) Las translocaciones **robertsonianas** son la alteración estructural balanceada más frecuente, tienen una frecuencia de 1/1000, se forman por la ruptura a nivel de centrómeros y fusión de brazos largos de dos cromosomas acrocéntricos ^{Solari AJ, 2011}. Los portadores balanceados tienen un cariotipo con 45 cromosomas, implica la pérdida de material de los brazos cortos en donde se localizan los genes que codifican para RNA ribosomal, que es material genético no esencial por lo que no presentan consecuencias clínicas. El 95% de estas translocaciones son t(13;14) y t(14;21) (Figura 6f) ^{Moore C, 2001}. Los portadores de estas translocaciones pueden tener descendencia con trisomías o monosomías en el caso de presentarse segregación adyacente. Las monosomías de autosomas son incompatibles con la vida, sin embargo hay trisomías de acrocéntricos, como la 13 y 21, que son viables pero

presentan múltiples malformaciones y se asocian a síndromes clínicos bien establecidos ^{Gersen S, 2013}.

- 2) Las translocaciones **recíprocas** tienen una frecuencia de 1/673-1000 RNV ^{Rosenberg, 2012}. Se generan por rupturas en dos cromosomas diferentes, seguidas de un intercambio de material entre los dos cromosomas no homólogos involucrados (Figura 6e). Los cromosomas originados por el rearreglo reciben el nombre de derivados y se identifican de acuerdo al cromosoma del cual posean el centrómero.

En meiosis la recombinación entre cromosomas homólogos se realizará en la cruz de paquiteno, en la cual los cromosomas involucrados aparean sus segmentos homólogos. La distribución de los cromosomas homólogos depende de la unión de los microtúbulos del huso mitótico al cuadrivalente y dependiendo del número de cromosomas que se distribuyen entre las células hijas, resultan tres tipos de segregación: 2:2, 3:1 y 4:0 ^{Moore C, 2001; Strachan T, 2010}.

Los tipos de segregación 2:2 son: alterna, adyacente 1 y adyacente 2. En la segregación alterna ambos cromosomas normales se mueven a un polo y los cromosomas derivados al polo opuesto. Los gametos formados derivados de esta segregación son balanceados (Figura 5) ^{Moore C, 2001; Strachan T, 2010}.

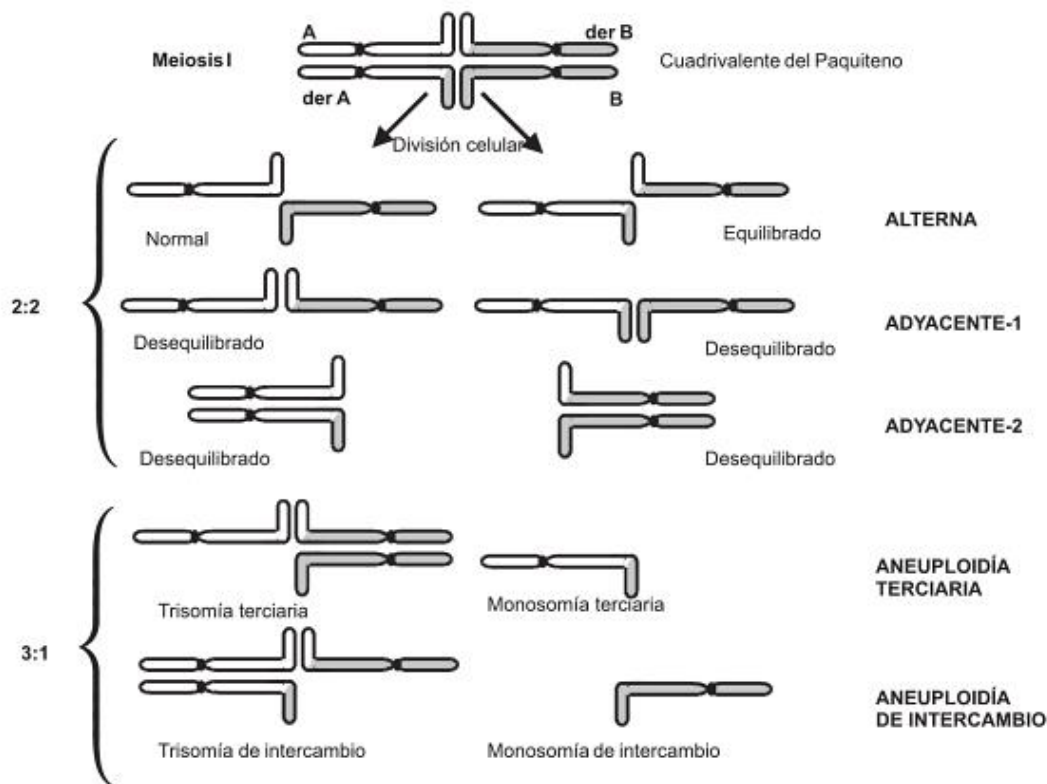


Figura 5. Cruz de paquiteno de una translocación recíproca balanceada. Esquema de cuadrivalente meiótico y los tipos de segregación 2:2 y 3:1 posibles. Imagen modificada de Oliva R, *Genética Médica*, 2008.

En la segregación adyacente 1 los cromosomas con centrómeros no homólogos se localizan en el mismo polo, resultando un componente cromosómico no balanceado con un cigoto con trisomía parcial de un cromosoma y monosomía parcial del otro, cuando es fertilizado por un gameto haploide normal. La segregación adyacente 1 tiene dos posibles gametos. Generalmente el producto es viable, pero muestra una amplia variedad de alteraciones ^{Moore C, 2001; Strachan T, 2010}.

La segregación adyacente 2 se caracteriza por la localización de cromosomas con centrómeros homólogos en el mismo polo. Resulta en material genético no balanceado que usualmente no es compatible con la supervivencia del embrión, debido a que el material genético ganado y perdido es extenso ^{Moore C, 2001; Strachan T, 2010}.

La segregación 3:1 ocurre al tener 3 cromosomas en un polo dejando solo un cromosoma en el polo opuesto. En la aneusomía terciaria los cromosomas normales y un derivativo se distribuye a una célula; y el otro derivativo a la célula hermana, obteniendo como resultado trisomía y monosomía en cada célula respectivamente. La aneusomía de intercambio se caracteriza porque en una célula se distribuyen los cromosomas derivativos y un normal, obteniendo trisomía; y en la célula hermana se segrega sólo el otro cromosoma normal. Se han descrito desequilibrios viables, debidos a trisomías de intercambio, en translocaciones en las que están implicados cromosomas 13, 18, 21 y X. Dado que la monosomía de cualquier autosoma es incompatible con la vida, la monosomía de intercambio sólo se ha observado en casos en los que el cromosoma X está implicado Moore C, 2001; Strachan T, 2010.

- **Inversión:** requieren de dos puntos de ruptura dentro del mismo cromosoma para generar un segmento que gira 180°. Cuando el segmento invertido involucra al centrómero se le conoce como inversión pericéntrica con una frecuencia de 0.12-0.7% en la población (Figura 6g). Si no involucra al centrómero se denomina inversión paracéntrica con una frecuencia de 0.1-0.5% de los individuos (Figura 6h). Las inversiones no generan desbalance, pero si alguno de los puntos de ruptura ocurre en el interior de un gen puede generar un fenotipo anormal. Las inversiones cuyos puntos de ruptura se encuentran dentro de las regiones heterocromáticas de los cromosomas 1, 9, 16 y Y se consideran polimorfismos Moore C, 2001; Solari AJ, 2011.

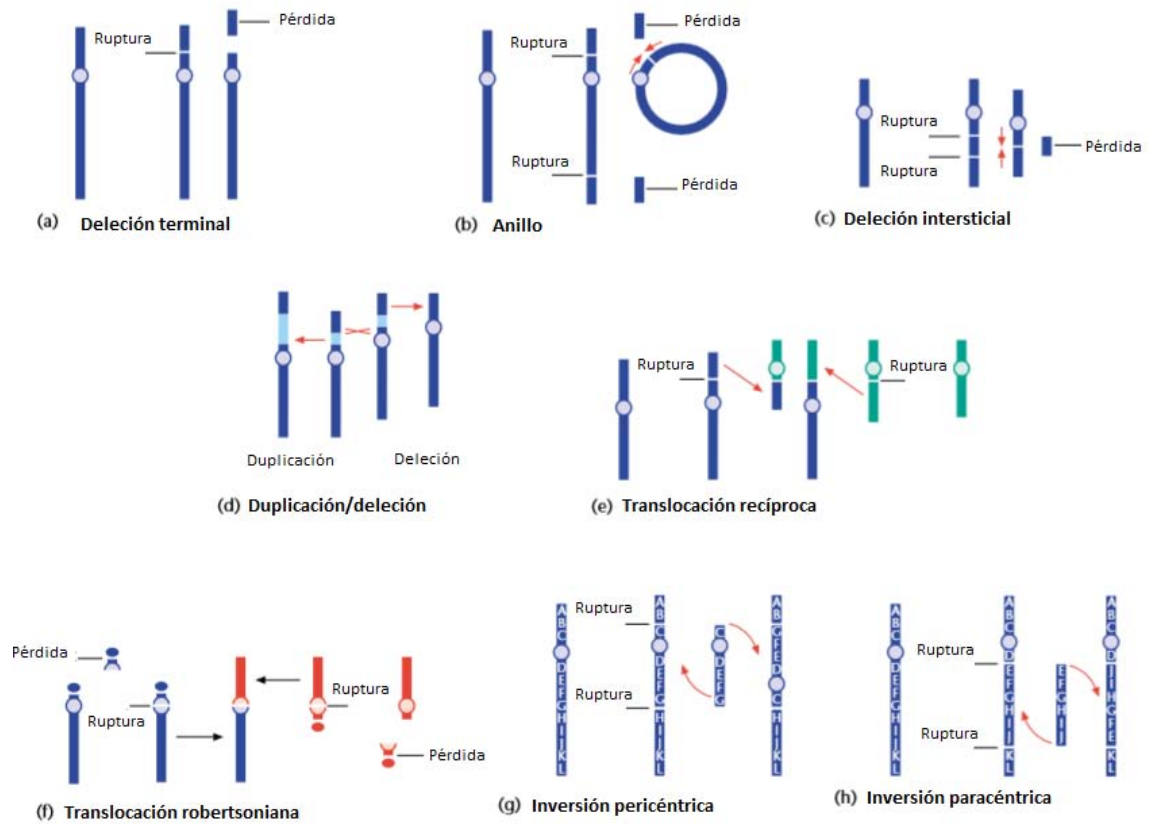


Figura 6. Formación de aberraciones cromosómicas estructurales. Imagen modificada de Moore C, 2001.

1.7 Características del cromosoma 2 humano

El cromosoma 2 es el segundo cromosoma de mayor tamaño del cariotipo, presenta un tamaño de 242.9 Mb lo cual constituye el 8% del total del genoma. A nivel evolutivo es interesante considerar que en 2q13 existe una antigua fusión tipo telómero-telómero, la cual marca el punto en el que dos cromosomas acrocéntricos ancestrales provenientes de los primates se fusionaron para dar lugar al cromosoma 2 humano ^{Ijdo, 1991}. El cromosoma 2 corresponde al grupo A de cromosomas y es submetacéntrico, su brazo corto contiene 93 Mb y el largo 150 Mb ^{Nothwang, 1998}. Consta de 1297 genes codificantes, 1790 genes no codificantes y 1011 pseudogenes, además contiene 889406 SNP, es decir, que se encuentra un SNP cada 273 pb (Figura 7) ^{www.ensembl.org}.



Figura 7. Ideograma del cromosoma 2. Al lado izquierdo se muestra el idiograma con bandas GTG, así como la representación gráfica del porcentaje general de los genes codificantes (rojo), no codificantes (azul) y pseudogenes (negro). Imagen tomada de www.ensembl.org, septiembre 2015.

Se han descrito aproximadamente 196 enfermedades cuyo *loci* se encuentra en el cromosoma 2, como por ejemplo los síndromes de distrofia muscular tibial (MIM #600334, *locus* 2q31.2), Bardet–Biedel tipo 5 (MIM #615983, *locus* 2q31.1), síndrome de Duane tipo 2 (MIM #604356, *locus* 2q31.1), polisindactilia tipo 1 (MIM #186000, *locus* 2q31.1), catarata tipo 2 (MIM #604307, *locus* 2q33.3), hendidura orofacial tipo 10 (MIM #613705, *locus* 2q33.1), síndrome de duplicación 2q31.1 (MIM #613681), entre otras patologías ^{www.omim.org}.

El síndrome de duplicación 2q31.1, implica una región de 1-3.8 Mb, tiene un patrón de herencia autosómico dominante y la principal afección es a nivel óseo, presentando manifestaciones clínicas como talla baja y acortamiento mesomérico. En la región 2q31.1 se encuentra el agrupamiento de genes *HOXD* y *MTX2*. Se ha sugerido la asociación entre esta región y la displasia mesomérica tipo Kantaputra (MIM #156232), correspondiendo a una variante alélica del síndrome de duplicación 2q31.1 ^{Byung, 2014}.

Se han descrito otras aberraciones estructurales del cromosoma 2, como la inversión pericéntrica que corresponde a inv(2)(p11q13), la cual está presente hasta en 1% de los individuos normales ^{Lautner-Riesk, 1992}. Además se ha identificado una duplicación intracromosómica en 2q12.3, la cual es frecuente y puede llevar a deleciones grandes por eventos de recombinación homóloga no alélica. Esta duplicación se ha asociado a nefronoptosis juvenil familiar (MIM #256100) ^{Saunier, 2000}.

Además, se han reportado pacientes con alteraciones numéricas y estructurales del cromosoma 2 que incluyen trisomías y monosomías parciales puras y en conjunto con monosomías y/o trisomías parciales de otros cromosomas.

1.7.1 Síndrome de trisomía 2q pura

La trisomía 2q pura es muy poco frecuente, se han reportado menos de 20 casos desde 1978, la mayoría de ellos son resultado de una translocación o una inserción balanceada en alguno de los padres. En este sentido, ha sido complicado el delinear un fenotipo característico de la trisomía 2q pura, ya que en muchas ocasiones se acompaña de una monosomía de otro cromosoma y además estará modificada de acuerdo a los puntos de ruptura y al tamaño del material involucrado ^{Slavotineke, 2003}.

Sin embargo, se ha propuesto la distinción entre el fenotipo causado por la trisomía 2q pura proximal y la distal. El *locus* que divide a estas trisomías se encuentra en 2q33, ya que duplicaciones proximales a 2q33 parecen causar un fenotipo más grave con malformaciones mayores y retraso en el desarrollo importante, mientras que las duplicaciones distales a 2q33 presentan manifestaciones leves^{Dahoun-Hadorn and Bretton-Chappius, 1992; Angle, 2000; Elbracht, 2009}. El fenotipo facial se atribuye a la región 2q35-qter e incluye frontal abombado, hipertelorismo, nariz pequeña con puente nasal ancho y deprimido, narinas antevertidas, filtrum largo, además de braquicefalia, pabellones auriculares de baja implantación, comisuras labiales descendentes, micrognatia y clinodactilia del quinto dedo. Otras manifestaciones que están presentes hasta en 40% de los casos son el retraso en el desarrollo psicomotor, hipotonía y alteraciones sistémicas, como malformaciones cardíacas, urinarias y del tracto gastrointestinal^{Angle, 2000}.

Se ha descrito que el fenotipo facial cambia con el tiempo ya que en la infancia presentan proptosis, nariz pequeña, narinas antevertidas, micrognatia y xifoescoliosis, mientras que a edades posteriores se han reportado individuos con enoftalmos y nariz en pico^{Lynne, 2001}.

1.8 Características del cromosoma 9 humano

El cromosoma 9 es submetacéntrico y pertenece al grupo C dentro de la clasificación citogenética. Tiene un tamaño de 138.3 Mb y representa 4% del genoma humano. Tiene una región pericéntrica heterocromática grande que comprende el 10% de la longitud total del cromosoma. Los polimorfismos del cromosoma 9 incluyen variaciones en el tamaño de la heterocromatina e inversiones pericéntricas^{Slaugenhaupt S, 2006}. Consta de 772 genes codificantes, 903 genes no codificantes y 651 pseudogenes, siendo las regiones 9p proximal y 9q distal las que tienen mayor densidad génica (Figura 8) www.ensembl.org.

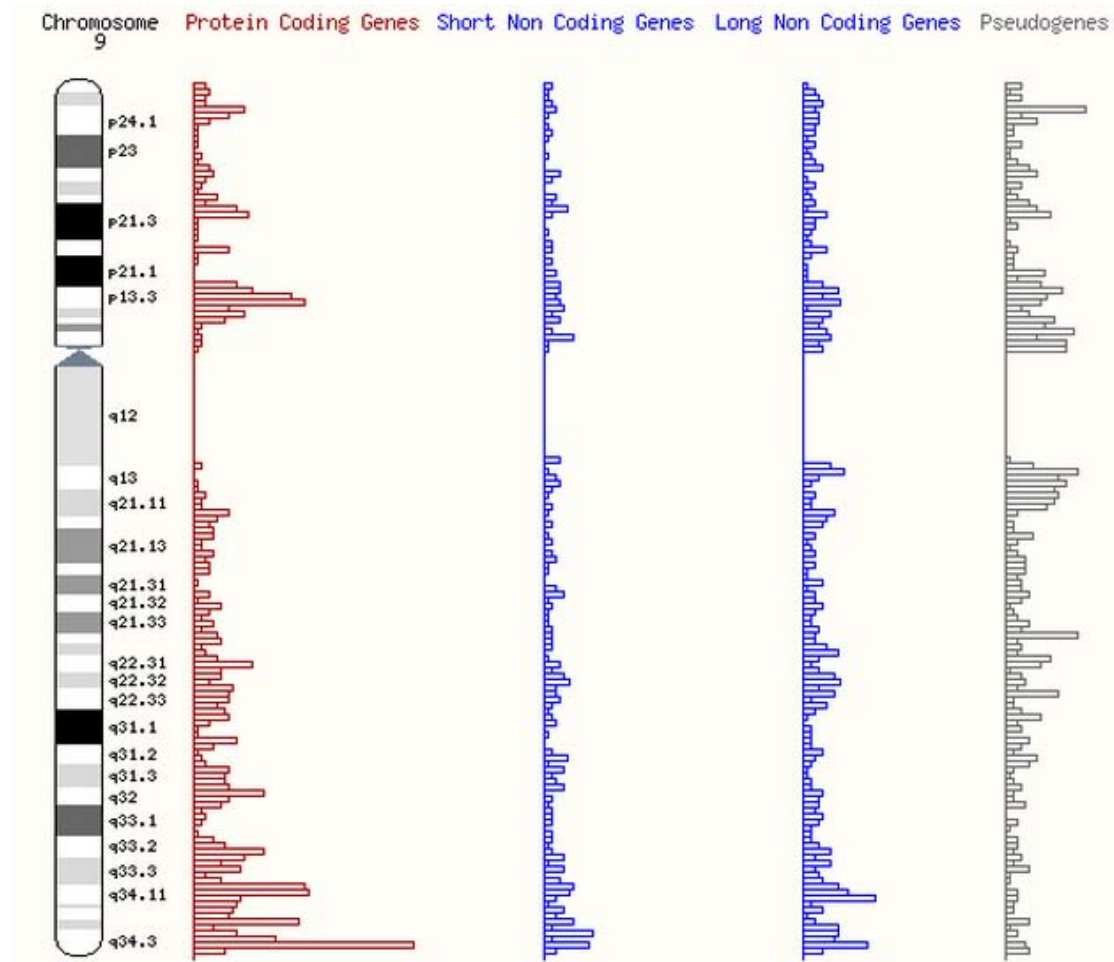


Figura 8. Ideograma del cromosoma 9. Al lado izquierdo se muestra el ideograma con bandas GTG, así como la representación gráfica del porcentaje general de los genes codificantes (rojo), no codificantes (azul) y pseudogenes (negro). Imagen modificada de www.ensembl.org, septiembre 2015.

Se han descrito aproximadamente 68 enfermedades cuyo *loci* se encuentra en el cromosoma 9, dentro de las cuales están por ejemplo trigonocefalia tipo 2 (MIM #614485, *locus* 9p22.3), ataxia de Friedreich 1 (MIM #229300, *locus* 9p21.11), síndrome de MOTA (MIM # 248450, *locus* 9p22.3), enfermedad alzheimer tipo 11 (MIM #609790, *locus* 9p22.1), síndrome de Kleeftstra (MIM #610253, *locus* 9q34.3), síndrome de delección 9p (MIM #158170), entre otras patologías ^{www.omim.org}.

El síndrome de delección 9p es *de novo* en 50% de los casos y clínicamente los pacientes presentan retraso del desarrollo psicomotor, déficit intelectual, dismorfias faciales y diversas alteraciones sistémicas. Otra delección del brazo corto del cromosoma 9 es el síndrome de delección 9p24.3 (MIM #154230), el cual se

caracteriza principalmente por alteración en el desarrollo sexual en individuos XY
www.omim.org

Se han descrito otras aberraciones estructurales del cromosoma 9. Una de las translocaciones relacionadas con cáncer más estudiadas es la t(9;22)(q34;q11), resulta en la fusión del gen *BCR* del cromosoma 22 y el gen *ABL1* del cromosoma 9, formando el cromosoma Philadelphia. Esta translocación ocurre en más del 90% de las leucemias mieloides crónicas ^{Slaugenhaupt S, 2006}.

1.8.1 Síndrome de monosomía 9p

El síndrome de monosomía 9p es poco frecuente, la primera descripción fue realizada por Alfi *et al.* en 1973; a la fecha se han reportado 24 casos de monosomía 9p pura. En 66% de los casos esta monosomía es *de novo* ^{Durmaz, 2016}. Este síndrome cuenta con características cardinales que incluyen retraso en el desarrollo psicomotor, trigonocefalia, puente nasal deprimido, filtrum largo, cuello corto y alado y anomalías genitales ^{Alfi, 1973; Hoo, 1982; Swinkels, 2008}. Otras manifestaciones frecuentes son hipertelorismo, epicanto, fisuras palpebrales cortas, narinas antevertidas, pabellones auriculares dismórficos y de baja implantación, micrognatia e hipotonía ^{Taylor, 1991; Shashi, 1998}.

Hay diferentes estudios donde se analiza la correlación fenotipo-genotipo. Entre ellos en 1999 Christ *et al.* sugirió la región crítica de 4-6 Mb en 9p22-p23. Posteriormente con el análisis realizado por Swinkels *et al.* en el 2008, se asignó la región crítica en 9p22.3. En este estudio se analizaron a 2 grupos de pacientes. El primero con fenotipo clínicamente reconocible de delección 9p y el otro grupo de pacientes que a pesar de ser positivos para la delección no cumplían los criterios para el fenotipo característico, principalmente por la ausencia de trigonocefalia ^{Swinkels, 2008}.

Las alteraciones genitales y/o de gónadas se han observado principalmente en individuos masculinos con la delección de 9p24.3, que incluye de los genes *DMRT* y hacia el telómero ^{Barbaro, 2008}. Las alteraciones en el desarrollo sexual que afectan a la región 9p24.3 en los pacientes XY, tienen un espectro amplio de presentación fenotípica, en el cual los genitales externos pueden ser desde completamente femeninos hasta con fenotipo masculino e hipospadias, mientras que las

alteraciones en gónadas pueden ser del tipo de disgenesia gonadal completa, ovotestes, criptorquidia y/o testículos hipoplásicos^{Abreu, 2014}.

El agrupamiento de genes *DMRT* (*DMRT1*, *DMRT2* y *DMRT3*) se localiza en 9p24.3. El principal candidato para disgenesia gonadal completa XY es *DMRT1*^{Calvari, 2000; Kawara, 2006; Barbaro, 2009}. Este gen codifica para el factor de transcripción 1 relacionado con *doublesex* y MAB3, el cual es un regulador transcripcional masculino relacionado con la diferenciación y determinación sexual. *DMRT1* reprime la diferenciación a testículos en individuos femeninos e inhibe la meiosis en testículos. La haploinsuficiencia de *DMRT1* es una de las causas de disgenesia gonadal XY y ovotesticular XY^{Chen, 2013}.

2. Planteamiento del problema

El desarrollo normal del ser humano requiere que la información genética que hereda de sus padres esté íntegra en cuanto a cantidad y estructura. Entre las anormalidades cromosómicas que pueden alterar la dosis génica se encuentran las translocaciones no balanceadas, las cuales presentan un efecto variable en el fenotipo dependiendo de las regiones cromosómicas involucradas, del tamaño de material genético ganado o perdido y de los genes cuyos *loci* se encuentren en estas regiones. Las alteraciones cromosómicas estructurales no balanceadas producen malformaciones congénitas, los portadores balanceados pueden presentar infertilidad y abortos. En esta tesis se presentan dos casos de translocaciones cromosómicas. El primero corresponde a un caso familiar de una $t(2;9)(q31;p22)$ que originó una trisomía parcial 2q y monosomía parcial de 9p en un paciente femenino. El segundo caso corresponde a una paciente con monosomía 9p24 secundaria a una $t(2;9)(p10;p24)$ *de novo*. La pregunta de investigación que se planteó fue:

2.1 Pregunta de investigación

¿Cuál es la relación fenotipo-genotipo en una paciente con trisomía parcial 2q y monosomía parcial 9p derivadas de una $t(2;9)(q31;p22)$ familiar y en una paciente con monosomía 9p24 producto de una $t(2;9)(p10;p24)$ *de novo*?

3. Justificación

El abordaje genético de pacientes con múltiples malformaciones de origen no determinado o que no corresponden a síndromes reconocibles requiere de la realización del análisis citogenético para identificar alteraciones cromosómicas como posible causa. Al encontrarse una aberración estructural está indicado extender el estudio a la familia. En esta tesis se describe el análisis de dos casos de pacientes con alteraciones cromosómicas tipo translocación. El primero se trata de un caso familiar de $t(2;9)(q31;p22)$ en el que la propósita presentó malformaciones secundarias a trisomía parcial de 2q y monosomía parcial 9p. El segundo caso presentado corresponde a una paciente con monosomía 9p24 *de novo*. El análisis clínico, citogenético y molecular de estos casos permitió establecer la relación fenotipo-genotipo, su comparación con casos previos reportados en la literatura, el aporte de conocimiento nuevo y brindar a las familias asesoramiento genético.

4. Objetivos

4.1 Objetivo general

Caracterizar clínica, citogenética y molecularmente a dos pacientes con alteración cromosómica estructural de tipo translocación, una paciente con trisomía parcial 2q y monosomía parcial 9p derivada de un caso familiar de t(2;9)(q31;p22) y a una paciente con monosomía 9p24.

4.2 Objetivos específicos

- Determinar la frecuencia de alteraciones de los cromosomas 2 y 9 en los casos reportados en un periodo de 10 años (2005-2014) en el Laboratorio de citogenética del Departamento de Genética del Hospital Infantil de México Federico Gómez.
- Analizar el fenotipo de una paciente con trisomía parcial 2q y monosomía parcial 9p y de una paciente con monosomía 9p24.
- Determinar por técnicas de citogenética molecular las alteraciones presentes en ambas pacientes.
- Establecer la relación fenotipo – genotipo en las dos pacientes con alteración estructural y compararlas con la literatura.
- Analizar la segregación de la translocación balanceada en las familias para otorgar asesoramiento genético.

5. Hipótesis

No requiere hipótesis por ser descripción de dos casos.

6. Material y métodos

Este estudio está dividido en dos secciones, la primera corresponde al análisis de las frecuencias y tipos de alteraciones que involucran a los cromosomas 2 y 9 identificadas en el Laboratorio de Citogenética, del Depto. de Genética del HIMFG en un periodo de 10 años comprendidos entre enero de 2005 a diciembre de 2014. Para este análisis se revisaron las libretas de los reportes citogenéticos y se registraron todos los cariotipos con aberraciones de los cromosomas 2 y/o 9 encontrados. La información obtenida fue analizada por porcentajes en relación al número de cariotipos realizados en el periodo de estudio, así como de acuerdo al tipo de alteración reportada. Los datos obtenidos se compararon con los reportados en la literatura.

La segunda parte corresponde al análisis de dos pacientes, una con trisomía 2q y monosomía 9p derivadas de una $t(2;9)(q31;p22)$ y otra con monosomía 9p24 debido a una $t(2;9)(p10;p24)$ *de novo*.

Tipo de estudio: Reporte de dos casos

- Descriptivo
- Prospectivo
- Longitudinal

En ambos casos se realizó cariotipo con bandas GTG a varios miembros de la familia y FISH (Anexos I, II y III), se obtuvieron los datos clínicos de la revisión del expediente y exploración física de las pacientes, se tomaron fotografías clínicas con previa autorización y firma de consentimiento informado (Anexo IV), se analizó la relación fenotipo-genotipo y se compararon con la literatura.

7. Resultados del análisis estadístico

7.1 Análisis estadístico de las alteraciones de los cromosomas 2 y 9 en el HIMFG

El análisis de las libretas de reporte de resultados de cariotipo de 2005 a 2014 demostró que durante este periodo se realizaron un total de 7,345 cariotipos, de los cuales 5,762 tuvieron un resultado. De estos últimos se identificaron 4 casos que involucraron al cromosoma 2: el caso A correspondió a una duplicación del brazo largo del cromosoma 2, los casos B, C y D son de presentación familiar (Tabla 2).

Tabla 2. Pacientes con alteraciones del cromosoma 2

Caso	Diagnóstico clínico	Cariotipo
A	Talla baja, cuello corto, RDPM	46,XX,dup(2)(q31q33)
B	Epilepsia generalizada sintomática, RDPM, hipoacusia, cardiopatía	46,XX,der(5)t(2;5)(p21;p15)mat
C	Adelgazamiento del cuerpo calloso, coloboma de ojo derecho, dacriostenosis bilateral, hipoacusia, dismorfias menores	46,XX,der(2)t(2;11)(q37;p21)mat,inv(9)(p12q13)
D	RDPM, alteración en mecánica de deglución, hipoacusia bilateral, paladar hendido, cardiopatía, polidactilia	46,XX,der(2)t(2;3)(q37;q23)mat

Se identificaron 16 casos de pacientes con alteración del cromosoma 9, en su mayoría con otro cromosoma involucrado (9 de 16 casos) y se identificaron 7 casos en donde únicamente está alterado el cromosoma 9, encontrándose duplicaciones, un anillo, material adicional y deleciones (casos c, f, h, i, l, m y o) (Tabla 3).

Tabla 3. Pacientes con alteraciones del cromosoma 9

Caso	Diagnóstico	Cariotipo
a	RDPM, síndrome dismórfico, cardiopatía, displasia de cadera bilateral	46,XX,der(3)t(3;9)(p22;q13)mat
b	Síndrome dismórfico	46,XY,der(9)t(6;9)(p12;p21)
c	RDPM, dismorfias	46,XX,der(4)(p16)t(4;9)(p16;p13)mat
d	Hipomelanosis de Ito, crisis convulsivas de ausencia	46,X,t(X;9)(p11;q34)
e	Trisomía 21	46,XY,t(4;9)(q21.2;q34)
f	RDPM, síndrome de Brown	47,XY,der(9)t(9;?)(p10;?),+mar[14]/46,XY[11]
g	Microcefalia, estrabismo, malformaciones	46,XX,t(1;9)(q25;p22)
h	RDPM, quiste renal, braquidactilia 5° dedo manos	47,XX,del(9)(p21),+mar
i	Trigonocefalia, descartar del9p	46,XY,del(9)(q24)
j	Síndrome múltiples malformaciones congénitas	46,XY,del(9)(_q13)
k	RDPM, microtia, dismorfias, hipotonía	46,XY,del(9)(p22)
l	Trigonocefalia, RDPM, quiste cerebeloso	46,XX,del(9)(p23)
m	Trisomía 21	47,XY,der(9)(?q22),+21
n	RDPM, microcefalia, dismorfias	46,XY,r(9)(p24q34)
o	RDPM, microcefalia	46,XY,dup(9)(q13q22)
p	Dismorfias	46,XX,add(9)(q34)

Se identificaron 2 casos que involucran alteraciones de los cromosomas 2 y 9; corresponden a las pacientes presentadas en esta tesis (Tabla 4).

Tabla 4. Pacientes con alteraciones de los cromosomas 2 y 9

Caso	Diagnóstico clínico	Cariotipo
1	Catarata congénita bilateral, dismorfias, paladar hendido, coartación aorta	46,XX,der(9)t(2;9)(q31;p22)mat
2	Retraso en el desarrollo psicomotor, talla baja, atrofia cortical, endotropía bilateral	46,XX,t(2;9)(p10;p24),del(9)(p24)

8. Discusión del análisis estadístico

En el Departamento de Genética del HIMFG durante el periodo en estudio se identificaron 22 reportes (incluyendo los dos casos presentados en esta tesis) que involucraron a los cromosomas 2 y/o 9, correspondiendo al 0.38% de los reportes de cariotipo. Se observó una mayor frecuencia de alteraciones en el cromosoma 9, con respecto al cromosoma 2, mostrando una relación 4:1.

El caso A es un paciente con retraso del desarrollo psicomotor, talla baja y cuello corto., en quien se reportó una duplicación del brazo largo del cromosoma 2. No fue posible realizar estudio citogenético a los padres.

El caso B es una paciente con epilepsia generalizada sintomática, retraso del desarrollo psicomotor, desnutrición crónica agudizada, hipoacusia moderada derecha y superficial izquierda y cardiopatía congénita. Su cariotipo reportó material adicional del cromosoma 5 derivado de una $t(2;5)(p21;p15)$ presente en la madre y hermano, ambos portadores sanos.

En el caso C la paciente presentó dismorfias: cejas escasas, asimetría en ojos, ptosis, puente nasal ligeramente deprimido, puente y base nasal anchas, filtrum largo, retrognatia. Además de pabellones de baja implantación en retroposición, cuello corto, limitación a extensión del codo, dedos largos y delgados, adelgazamiento del cuerpo calloso, dacriostenosis bilateral, hipoacusia severa bilateral, displasia del desarrollo de cadera. El cariotipo reportó material adicional en el cromosoma 2 derivado de una $t(2;11)(q37;p21)$ en la madre portadora. Además en el cariotipo de la paciente se reportó $inv(9)(p12q13)$, la cual se considera un polimorfismo sin repercusión en el fenotipo.

En el caso D la propósita presentó múltiples malformaciones incluyendo paladar hendido, comunicación interventricular y polidactilia postaxial en la mano derecha, retraso del desarrollo psicomotor, alteración en mecánica de deglución, hipoacusia bilateral, neumonías de repetición e hipertensión arterial pulmonar. El cariotipo reportó material adicional en el brazo largo del cromosoma 2, la madre y 2 hermanos fueron portadores de una $t(2;3)(q37;q23)$. Con esta información se determinó que la paciente tiene un derivado del cromosoma 2, producto de una $t(2;3)(q37;q23)$ materna, resultando en monosomía parcial 2q y trisomía parcial 3q

En 3 de los 4 casos encontrados que involucran alteraciones en el cromosoma 2, se presentó retraso del desarrollo psicomotor e hipoacusia y en el 50% de los casos se reportó cardiopatía. Si bien estos casos comparten algunas manifestaciones clínicas, es difícil realizar una relación fenotipo-genotipo, debido a que en la mayoría de los casos hay otro cromosoma involucrado lo cual modifica el fenotipo y además las regiones implicadas son diferentes.

Se identificaron un total de 16 alteraciones del cromosoma 9, todas de tipo estructural, lo cual es una indicación para estudio citogenético familiar. Se realizó cariotipo con bandas GTG a los padres de cuatro casos (a, c, f y n), encontrándose alteraciones de presentación familiar en dos de ellos, los casos a y c, en ambos la madre portadora de una translocación balanceada. Las alteraciones estructurales más frecuentes fueron translocación en 44% de los 16 casos y deleción en 30%. De los 5 pacientes con deleciones del cromosoma 9, 4 casos (i, j, k, l) fueron deleciones puras, sin otra alteración cromosómica agregada. En los casos k y l, la deleción se produjo en regiones cercanas del brazo corto del cromosoma 9; clínicamente los pacientes únicamente comparten el retraso del desarrollo psicomotor. Sin embargo es importante tener en cuenta que hay un síndrome bien descrito de monosomía 9p, en el cual hay características como hipotonía (también presente en el caso k) y trigonocefalia (presente en caso l).

El resto de las alteraciones encontradas (anillo, duplicación, derivado y material adicional) sólo se presentaron en un caso cada una (6%). En la mayoría de los casos, las alteraciones en el cromosoma 9 también presentaban otro cromosoma involucrado y con diversos puntos de ruptura, lo que dificulta para establecer la relación fenotipo-genotipo; igual a lo observado en las alteraciones del cromosoma 2.

9. Presentación del caso clínico 1

La propósita es una recién nacida (individuo III.2, Figura 9), quién fue valorada por malformaciones múltiples y cuenta con los siguientes antecedentes de importancia:

Antecedentes heredofamiliares: Padres jóvenes, aparentemente sanos, no consanguíneos (individuos II.1 y II.2). Hermana mayor de 3 años de edad aparentemente sana (III.1) (Figura 9).

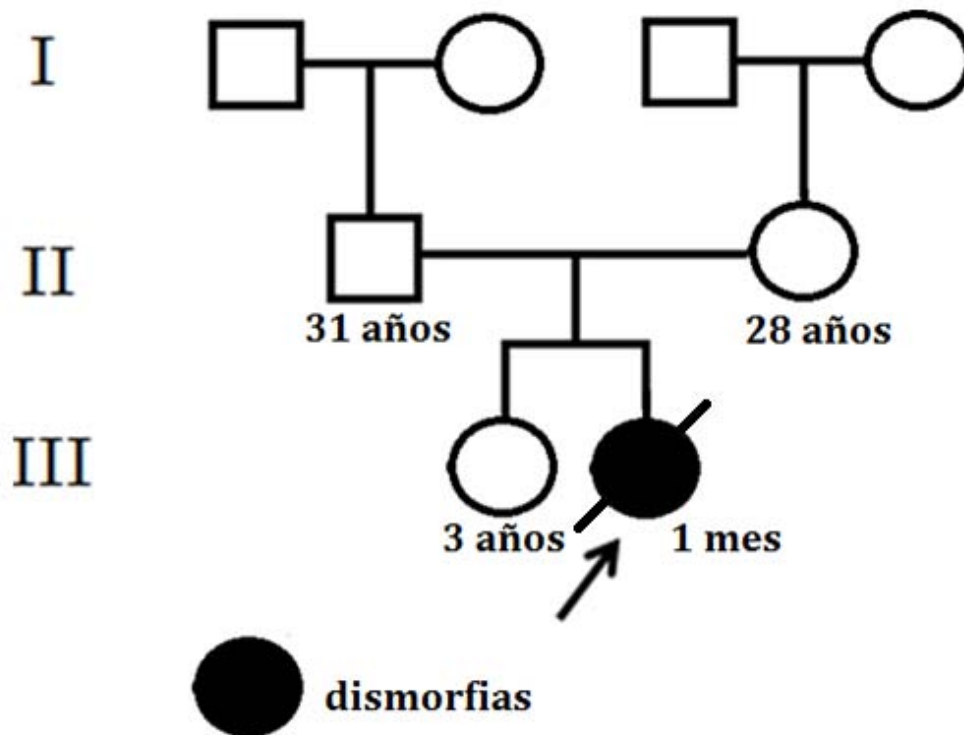


Figura 9. Árbol genealógico de la propósita caso 1.

Antecedentes perinatales: producto de la segunda gestación, control prenatal adecuado con ingesta de multivitamínicos y esquema de maduración pulmonar con corticoesteroides por amenaza de parto pretérmino. Fue obtenida por cesárea a las 38 semanas de gestación, peso 2550 g (P3), talla 45 cm (P3) y Apgar 6/8.

Exploración física: se encontró bajo sedación farmacológica, tendencia a la braquicefalia, frente prominente, adecuada implantación del cabello en línea anterior, con aparente microftalmia y enoftalmos bilaterales. Puente nasal muy deprimido, narinas antevertidas y cortas, con intubación orotraqueal, con reporte

previo de paladar hendido central. Soplo holosistólico, genitales externos femeninos, extremidades sin alteraciones (Figura 10).



Figura 10. Propósito caso 1. A. De frente: nótese la frente amplia, fisuras palpebrales cortas y narinas antevertidas. B. Perfil derecho. Se observa frente prominente y puente nasal deprimido.

El abordaje multidisciplinario de la paciente y los estudios complementarios integraron los diagnósticos de coartación de aorta y catarata congénita bilateral. La paciente falleció a los 36 días de edad por complicaciones cardíacas. El estudio postmórtem demostró agenesia cuerpo calloso, catarata congénita bilateral, cavidad oral con paladar hendido y pabellones auriculares dismórficos con hélix hipoplásico (Figura 11).

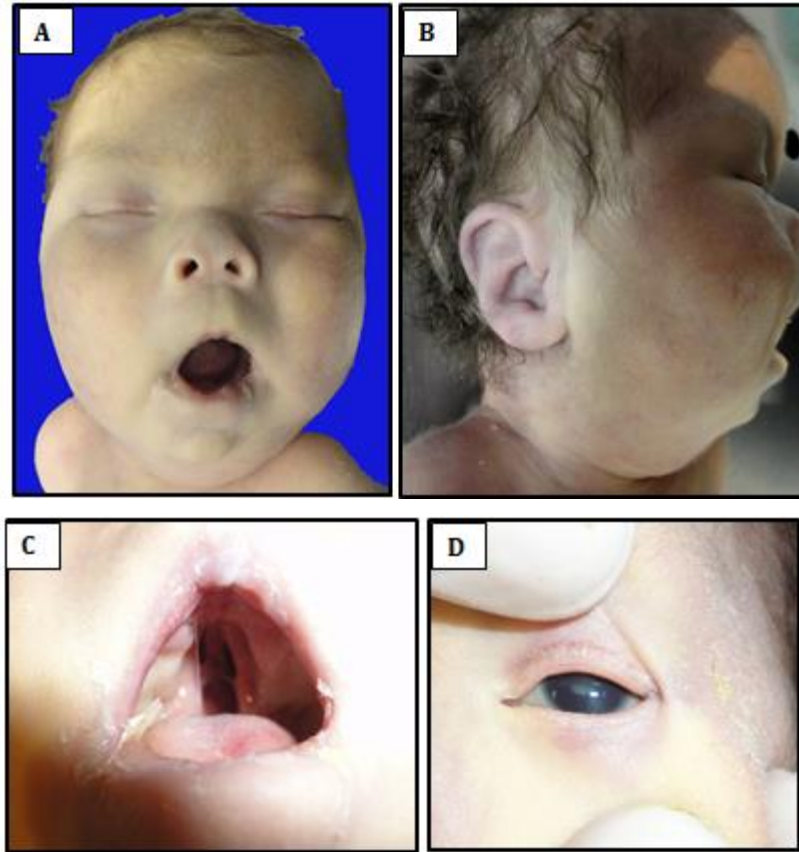


Figura 11. Fotografías del estudio postmórtem de la propósita caso 1. A. Frente prominente con depresión bitemporal, puente nasal deprimido, narinas antevertidas, comisuras descendentes. B. Pabellones auriculares dismórficos, micrognatia. C. Paladar hendido central. D. Catarata congénita. (Dr. Carlos Alberto Serrano Bello, Departamento de Patología, HIMFG)

A nivel interno se documentó timo cervical, coartación de aorta, comunicación interventricular perimembranosa de 0.2 cm. Así como anomalías en el patrón de ramificación bronquial por ausencia bilateral del bronquio superior, doble arteria renal bilateral y quistes renales corticales bilaterales (Figura 12).

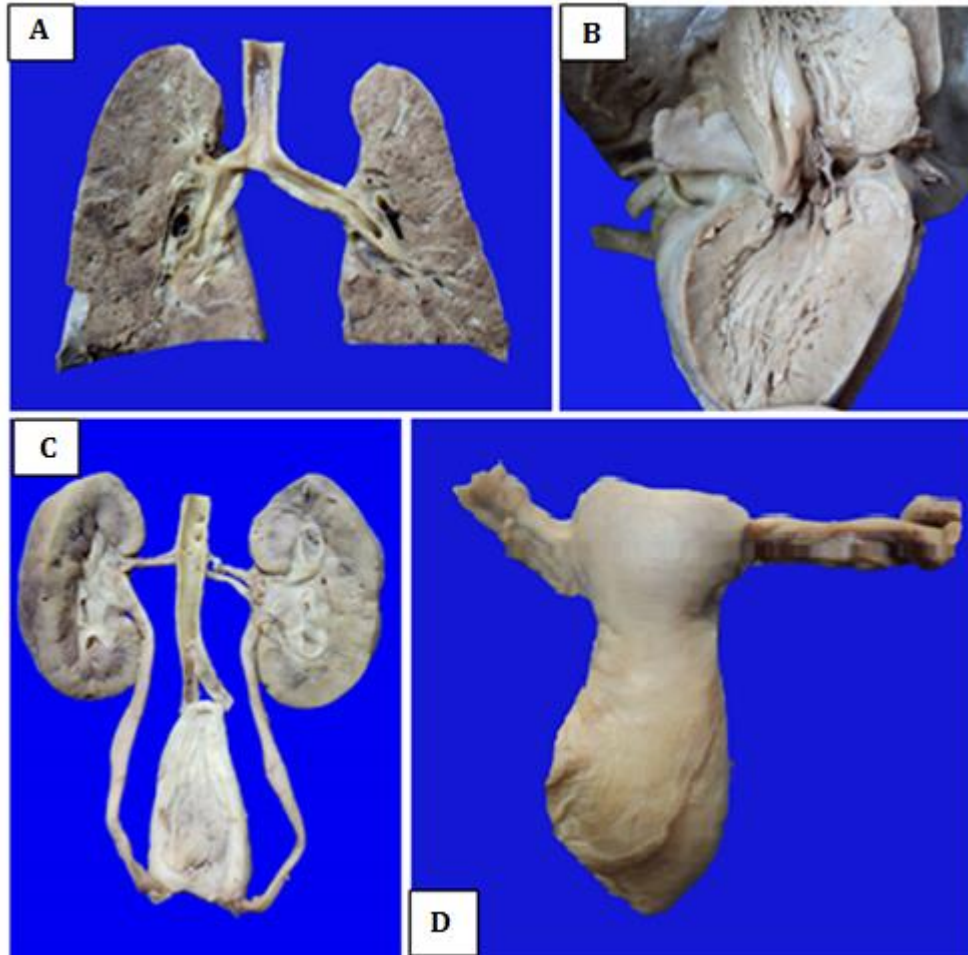


Figura 12. Alteraciones en órganos internos de la propósita caso 1. A. Agenesia bronquio superior izquierdo. B. Comunicación interventricular. C. Doble arteria renal bilateral. D. Útero bien conformado con presencia de ovarios y trompas uterinas. (Dr. Carlos Alberto Serrano Bello, Departamento de Patología, HIMFG)

10. Análisis citogenéticos del caso clínico 1

Por la presencia de malformaciones mayores y dismorfias menores se indicó estudio citogenético con técnica de bandas GTG a la propósita, el cual identificó el siguiente complemento cromosómico:

46,XX,add(9)(p22)

Con el resultado anterior, se determinó que el paciente es un individuo femenino con material adicional en el cromosoma 9 (Figuras 13 y 14).

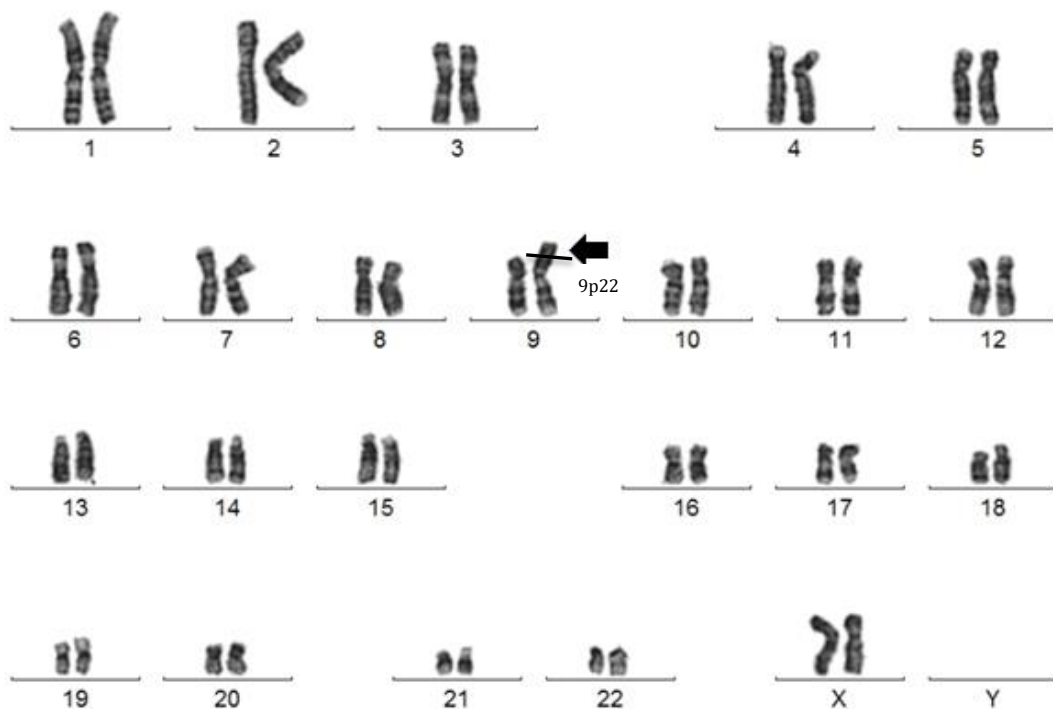


Figura 13. Cariotipo con técnica de bandas GTG de la propósita caso 1. Se señala el material adicional en 9p22 (flecha). (Biol. Ariadna Berenice Morales Jiménez, Lab. de Citogenética, Depto. de Genética, HIMFG)

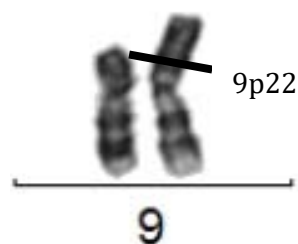


Figura 14. Cariotipo parcial con técnica de bandas GTG. La línea señala el *locus* del material adicional del cromosoma 9.

Ante el resultado del estudio citogenético en la propósita, se realizó análisis cromosómico a los padres. El análisis indicó que el padre tiene un cariotipo 46,XY. El estudio cromosómico de la madre tuvo el siguiente resultado: 46,XX,t(2;9)(q31;p22) (Figuras 15 y 16).

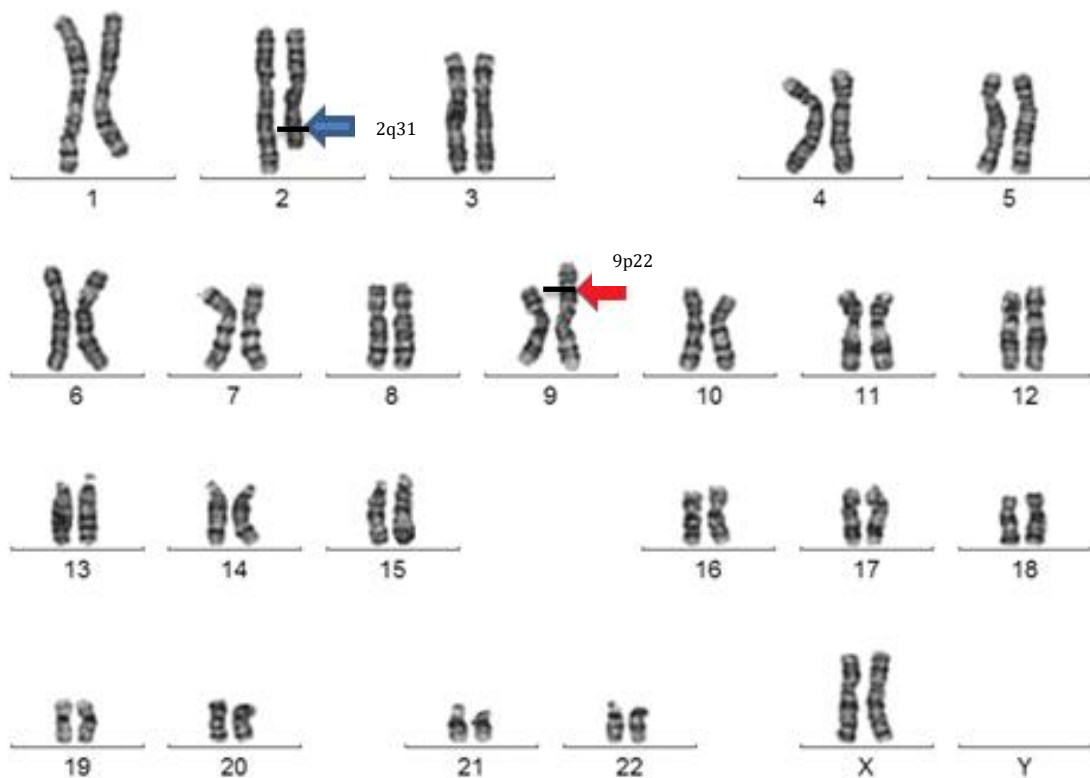


Figura 15. Cariotipo con técnica de bandas GTG de la madre de la propósita caso 1. La flecha de color azul indica el punto de ruptura en el cromosoma 2 y la flecha de color rojo indica el punto de ruptura del cromosoma 9. (Biol. Ariadna Berenice Morales Jiménez, Lab. de Citogenética, Depto. de Genética, HIMFG)

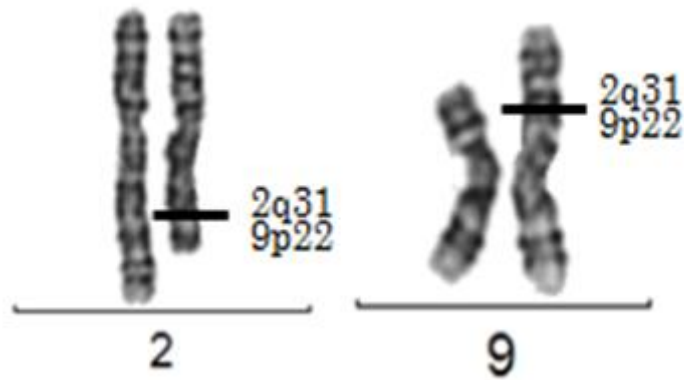


Figura 16. Cariotipo parcial con técnica de bandas GTG en la madre de la propósi. Se muestran los cromosomas participantes en la t(2;9) balanceada señalando los puntos de ruptura.

Con el resultado del estudio citogenético de la madre, se pudo concluir que el cariotipo de la propósi corresponde a: 46,XX,der(9)t(2;9)(q31;p22)mat

Se extendió el estudio cromosómico a otros miembros de la familia (hermana sana de la propósi, abuelos maternos y bisabuelos maternos), encontrándose la condición de portadores balanceados en los individuos I.1 y II.3 (Figura 17).

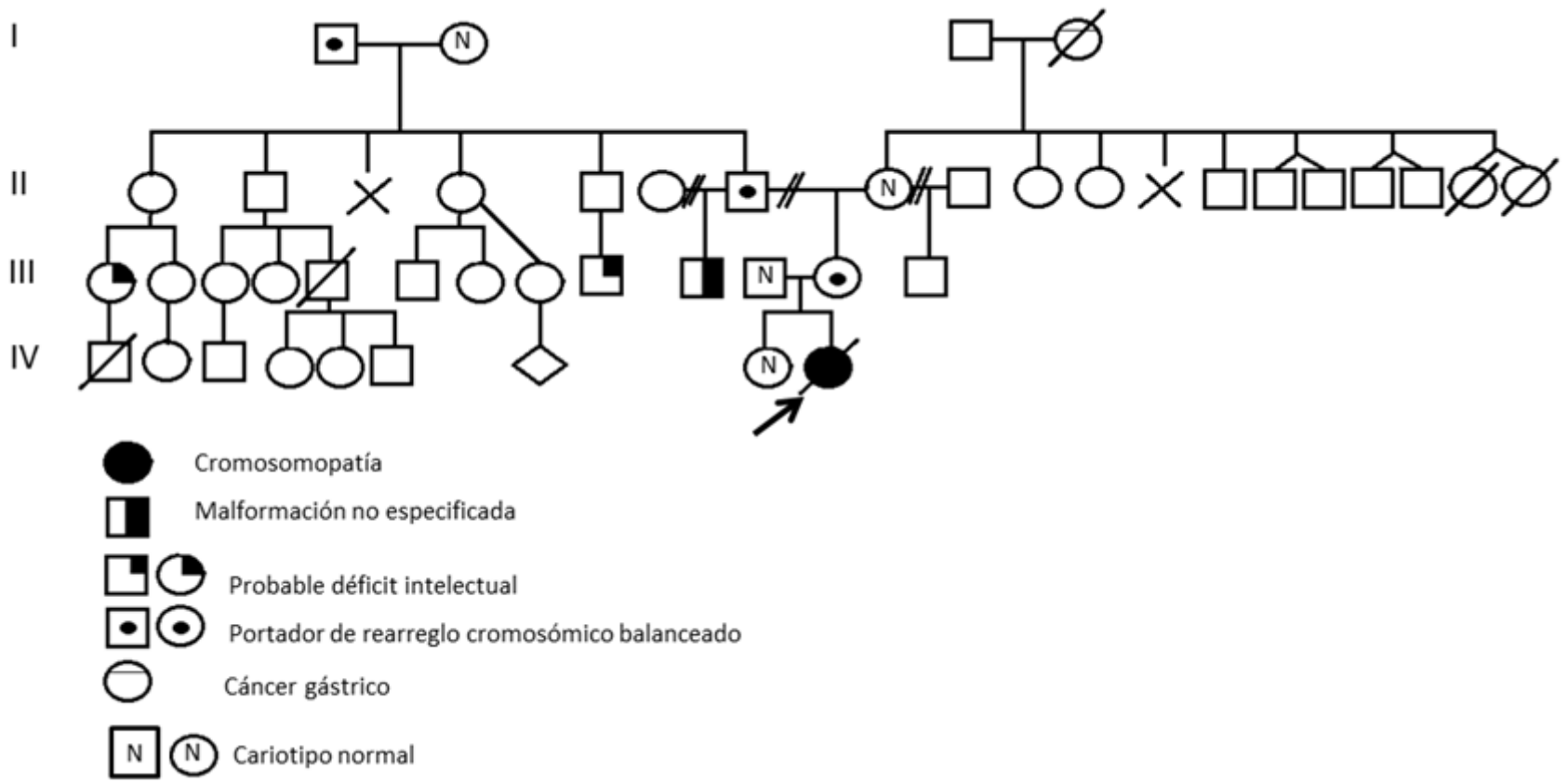


Figura 17. Árbol genealógico extendido del caso 1. Se indican los individuos a los que se les realizaron estudios citogenéticos, en particular se evidencia el estado de portadores balanceados de la t(2;9) en los individuos I.1 y II.3 y III.12, así como los individuos a quienes se les realizó el estudio y tienen cariotipo normal.

Para corroborar los cromosomas involucrados, los puntos de ruptura y el análisis familiar, se realizó técnica de FISH al abuelo materno de la propósa, portador de la translocación balanceada $t(2;9)(q31;p22)$, estableciéndose el siguiente complemento cromosómico (Figura 18):

46,XY,t(2;9)(q31;p22).ish t(2;9)(305J7-T7+,D2S447-,2QTEL47-;305J7-T7-,D2S447+,2QTEL47+).

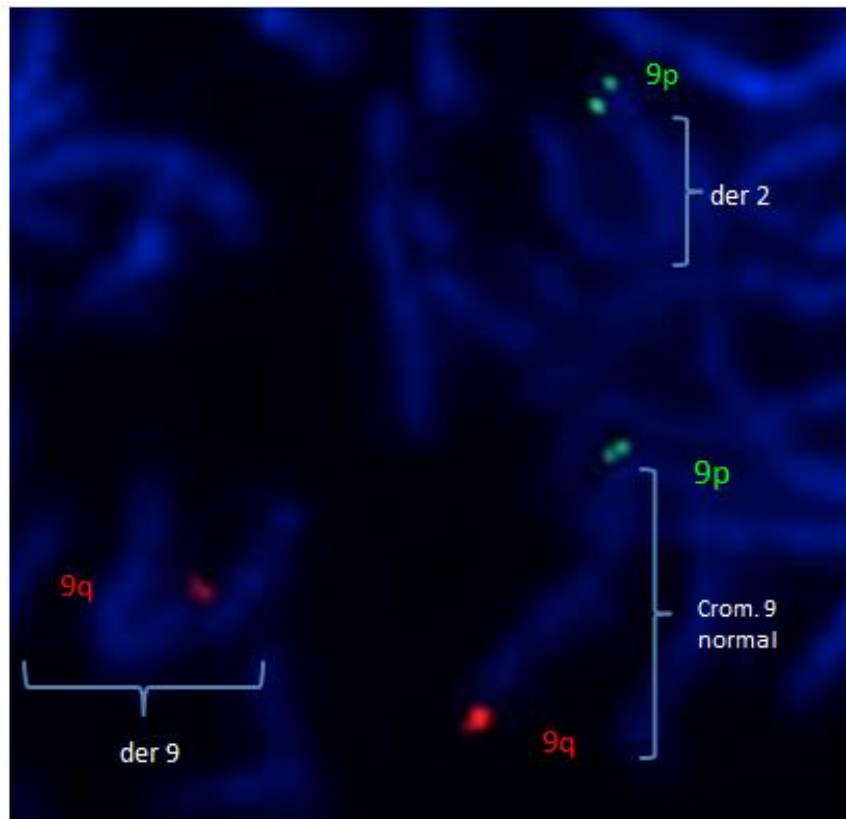


Figura 18. Análisis por FISH de metafase parcial del abuelo materno de la propósa caso 1. Se marcan los cromosomas derivados y el cromosoma 9 normal. Se utilizó sonda subteloamérica de 9p (verde) y sonda subteloamérica de 9q (roja). Se observa que el cromosoma 9 normal presenta ambas señales, lo que demuestra su integridad. Se observan dos señales en cromosomas distintos lo que sugiere que la señal de 9p está translocada al cromosoma 2 y que 9q permanece en el cromosoma 9. (Biol. Ariadna Berenice Morales Jiménez, Lab. de Citogenética, Depto. de Genética, HIMFG).

11. Discusión del caso clínico 1

Este caso correspondió a una recién nacida con diagnósticos iniciales de peso bajo para la edad gestacional y síndrome dismórfico. Debido a que presentaba más de 2 alteraciones mayores y más de 3 menores se indicó realizar estudio citogenético. El resultado del cariotipo reportó ganancia de material en el cromosoma 9, al extender el estudio a la familia se encontró que el origen era una translocación balanceada del cromosoma 2 y 9, cuyos portadores eran la madre, abuelo materno y bisabuelo. Con el estudio familiar se concluyó que la propósita tenía una trisomía parcial 2q31 y monosomía parcial 9p22.

Tanto la monosomía parcial de 9p como la trisomía parcial de 2q, son síndromes previamente reportados en la literatura que presentan manifestaciones características. La trisomía 2q pura es una condición rara, generalmente está asociada a alteraciones de otro cromosoma, lo que dificulta delinear el fenotipo. Sin embargo, se conoce que duplicaciones proximales a 2q33, como en el caso de la paciente presentada (cuyo punto de ruptura es 2q31), causan un fenotipo más severo con malformaciones mayores y retraso en el desarrollo importante, si se compara con las duplicaciones distales a 2q33.

El fenotipo facial de la trisomía 2q (T2q) pura se atribuye a la región 2q35-qter; nuestra paciente no presenta una T2q pura al estar también involucrada la monosomía 9p en su fenotipo. Es importante considerar que la propósita presenta duplicación de la región del cromosoma 2 relacionada con el fenotipo facial, y cuenta con la mayoría de las características descritas excepto el hipertelorismo y la nariz pequeña. Otras manifestaciones que presentan los pacientes con T2q es el retraso en el desarrollo psicomotor, la hipotonía y las alteraciones sistémicas, las cuales están presentes en el 40% de los casos e incluyen malformaciones cardíacas, urinarias y del tracto gastrointestinal. Nuestra paciente no presentó hipotonía; el retraso del desarrollo psicomotor no fue valorable debido a la edad y al estado grave en el que se encontraba la paciente.

Por otra parte, es importante mencionar que la propósita presentó alteraciones sistémicas a nivel de sistema nervioso central, lo que podría contribuir eventualmente a alteraciones en su desarrollo psicomotor, además de alteraciones a nivel cardíaco, pulmonar y del tracto urinario. Se ha descrito que el fenotipo de la T2q pura cambia con el tiempo, así en la infancia presentan proptosis, nariz

pequeña, narinas antevertidas y micrognatia, mientras que a edades posteriores se han reportado individuos con enoftalmos y nariz en pico. La paciente falleció al mes de vida y presentaba enoftalmos, narinas antevertidas y micrognatia, lo cual está de acuerdo con lo reportado en la literatura ^{Lynne, 2001}.

En el registro de *Online Mendelian inheritance in Men* (OMIM; www.omim.org) se han identificado 371 genes cuyos *loci* están en 2q31-2qter. Algunas de las patologías identificadas en esta región son el síndrome de microduplicación 2q31.1 (MIM #613681), el cual se debe a una duplicación de 1 a 3.8 Mb, que contienen 9 genes, entre ellos *HOXD* y *MTX2*. *HOXD* es uno de los cuatro grupos de genes homeobox que codifican para una familia altamente conservada de factores de transcripción, importantes en la morfogénesis de los organismos multicelulares. *HOXD* se ha asociado con el síndrome de Currarino y polisindactilia. *MTX2* codifica para la proteína metaxina 2, que está relacionada con el transporte protéico del aparato de Golgi y mitocondrial. Clínicamente los pacientes con este síndrome presentan talla baja, acortamiento mesomérico y alteraciones en extremidades como sindactilia y pie equino varo. Nuestra paciente no cuenta con estas manifestaciones por lo que probablemente esta región cromosómica no se vio afectada en la translocación. Por otra parte la paciente presentó paladar hendido y catarata bilateral, en relación a ésta última característica es interesante considerar que mutaciones en *SUMO1* en 2q33.1, ocasionan hendidura orofacial-10 (MIM #613705) y que en la región involucrada del cromosoma 2 se encuentran 4 genes que codifican para proteínas del cristalino y sus mutaciones ocasionan cataratas; *CRYGD*, *CRYGC*, *CRYGB* en 2q33.3, y *CRYBA2* cuyo *locus* es 2q35, todos con patrón de herencia autosómico dominante ^{www.omim.org}.

El análisis de la literatura identificó 19 casos de pacientes con T2q pura (Tabla 5). Entre las características más relevantes de estos casos se incluyó la edad en la que fallecieron, la cual es muy variable, de 1 mes a 22 años, que puede relacionarse con la gravedad de las manifestaciones asociadas. El mecanismo más frecuente de presentación de la alteración fue *de novo*, el segundo en frecuencia fueron los rearreglos maternos (como en el caso de nuestra paciente) y sólo dos casos fueron reportados como derivados de una inversión paterna.

Se identificó un reporte por Ponnala, *et al.* (2012) de un paciente con la misma región cromosómica involucrada (2q31-qter) que el caso aquí presentado, compartiendo entre ellos diversas manifestaciones como pabellones auriculares de

implantación baja, puente nasal deprimido, *filtrum* largo y paladar hendido/alto. Todas estas son características fenotípicas faciales, a las cuales como ya se había mencionado se les ha relacionado con la región 2q35-qter. Además, el caso reportado por Ponnala, *et al.* fue el paciente que falleció de forma más temprana, ocurriendo a los 2 meses, similar a la edad de fallecimiento del presente caso al mes de vida y que reflejan posiblemente la gravedad de las diferentes malformaciones presentes; en el caso de nuestra paciente por cardiopatía y en el caso descrito por Ponnala *et al.* no se especifica la causa de fallecimiento.

Al realizar el análisis de la serie de 19 pacientes, llama la atención entre otros datos algunas características presentes en varios casos en donde las regiones cromosómicas se superponen y podrían ser uno de los indicadores de estas manifestaciones, así la hipotonía podría relacionarse con la región 2q33 (lo anterior derivado de los casos reportados por Usui 2012, Sebold 2005, Lukusa 1999, Bird and Mascarello 2001 y Seidahmed 1999), la cardiopatía con la región 2q34-q35, las alteraciones del tracto urinario con 2q35-q37 y las anomalías esqueléticas con 2q35 (Tabla 5).

Dentro de las manifestaciones que tuvieron frecuencia alta en la serie de casos estudiados (Tabla 5), se consideraron muy frecuentes aquellos que estaban presentes en 10/19 a 18/19 pacientes, lo que corresponde de 52% a 95%. Dichas alteraciones fueron: anomalía de cráneo, frontal prominente, alteraciones oculares, anomalía de pabellones auriculares, puente nasal deprimido/ancho, anomalía de *filtrum*, microretrognatia, clinodactilia del 5° dedo y retraso del desarrollo psicomotor/déficit intelectual. Las manifestaciones clínicas con frecuencia media, delimitado como aquellas que estuvieran presentes en 5/19 a 9/19 pacientes, correspondiendo a 26-47%, son: nariz pequeña, narinas antevertidas, labio superior delgado, paladar hendido/alto, cuello corto, hipotonía, anomalías esqueléticas, defectos cardiacos y malformaciones de tracto urinario.

Continuación Tabla 5. Características fenotípicas trisomía 2q pura

Características clínicas	Dennis, <i>et al.</i> 1978	Slavotinek, <i>et al.</i> 2003	Bird and Mascarello, <i>et al.</i> 2001	Elbracht, <i>et al.</i> 2009 Caso 1	Seidahmed, <i>et al.</i> 1999	Ponnala, <i>et al.</i> 2012	Total	Caso 1 presente
Segmento trisomía	2q33-q37	2q33-q37.3	2q33.3-q37.1	2q33-qter	2q32-q37	2q31.1-q37.3		2q31-qter
Mecanismo	Ins	Inv/dup	<i>De novo</i>	Mat trans		<i>De novo</i>		Mat trans
Sexo	Masc	F	Masc	F	F	Masc		F
SDG	42	39	40		Term	36	36-42	38
Peso al nacimiento (g)	3030	2700	2920	3030	2400	2400	2400-4000	2500
Talla al nacimiento (cm)	48	48	49.7	51	54		45-56	45
Edad reporte/ muerte	18 meses	8 semanas	5 meses	2 años	4 meses	2 meses	1 mes-22 años	1 mes
Alteraciones cráneo	B,C		A	A	-	A	13/19	B
Frontal prominente	+	+		+	+		13/19	+
Alteraciones oculares	-	D,H	C,E,G		E,G	-	13/19	E,G
Fisuras palpebrales	J	K	-				4/19	L
Anomalía de pabellones	N	M	M,N		M,N	N	13/19	M,N
Puente nasal deprimido/ancho	+	+	+	+	+	+	18/19	+
Nariz pequeña	+	+	+				8/19	
Narinas antevertidas	+	+	+		+		7/19	+
Anomalía de <i>filtrum</i>	O	O,P	O	O	O	O	14/19	Q,O
Labio superior delgado			+		+	+	9/19	
Tamaño anormal comisuras	+	+					4/19	
Comisuras descendentes	+	+					3/19	+
Microretrognatia	-	+	+		+		10/19	+
Paladar hendido/alto	+	+	+		+	+	9/19	+
Cuello corto	-	+				+	6/19	
Teletelia			+				3/19	
Manos pequeñas							1/19	
Pliegues anormales	-		+		+		4/19	
Clinodactilia 5° dedo		+		+		+	10/19	
Camptodactilia	+		+				2/19	
Hipoplasia ungueal	+				-		2/19	
RDPM déficit intelectual	+		+	+		?	16/19	
Malformación SNC				+	+	-	3/19	+
Hipotonía			+		+		6/19	
Timo cervical							0/19	+
Hipotiroidismo congénito							0/19	+
Defectos cardíacos	+	-	+			-	5/19	+
Ausencia bronquio superior							0/19	+
Malformación tracto urinario		+	+			-	5/19	+
Anomalías esqueléticas		-	+	+		+	8/19	
Hernia inguinal	+						1/19	
Criptorquidia			+			-	2/9	
Hipospadias	+		-			-	2/9	
Foseta sacra	+						2/19	

Los casos son presentados en orden de acuerdo a la región cromosómica involucrada, de la más distal a la más proximal.

A: microcefalia, B: braquicefalia, C: trigonocefalia, D: hipertelorismo, E: enoftalmos, F: proptosis, F: femenino, G: catarata, H: epicanto, I: estrabismo, Inv: inversión, J: ascendentes, K: descendentes, L: cortas, M: pabellones dismórficos, Masc: masculino, mat: materna, N: pabellones de baja implantación, O: *filtrum* largo, P: *filtrum* borrado, pat: paterna, Q: *filtrum* profundo, RDPM: retraso en el desarrollo psicomotor, SDG: semanas de gestación, SNC: sistema nervioso central, term: término.

Además de la T2q, nuestra paciente también presentaba monosomía 9p, este es un síndrome cromosómico (MIM #158170) cuya región crítica es 9p22.3 y presenta características cardinales que incluyen retraso en el desarrollo psicomotor, trigonocefalia, puente nasal deprimido, *filtrum* largo, cuello corto y alado y anomalías genitales. Otras manifestaciones frecuentes son hipertelorismo, epicanto, fisuras palpebrales cortas, narinas antevertidas, pabellones auriculares dismórficos y de baja implantación, micrognatia e hipotonía ^{Durmaz, 2016}. La propósa cuenta con manifestaciones y región cromosómica involucrada, compatibles con el síndrome de monosomía 9p, sin embargo no presentó trigonocefalia, hipertelorismo, epicanto, cuello corto y alado, hipotonía ni alteraciones genitales. El desarrollo psicomotor no fue valorado por la edad y el estado crítico de la paciente.

El síndrome por deleción 9p24.3 (MIM #154230) se debe a haploinsuficiencia de genes sensibles a dosis que se encuentran en esta región cromosómica y que al perderse son responsables de la formación testicular anormal en individuos XY y alteración en la función ovárica en individuos femeninos. En los pacientes XY, las alteraciones en el desarrollo sexual tienen un espectro amplio de presentación. Las alteraciones genitales y/o de gónadas no estuvieron presentes en nuestro caso, lo cual puede deberse a que estas alteraciones se han observado principalmente en individuos masculinos con la deleción de 9p24.3, que involucra a los genes *DMRT*. Los cuales son importantes debido a que codifican para factores de transcripción relacionados con la diferenciación testicular ^{Chen, 2013}.

Al realizar la búsqueda en OMIM se identificó que actualmente se han descrito 72 genes en la región 9p22-9pter, no pudo establecerse una correlación específica entre su función y malformaciones asociadas con las manifestaciones clínicas que presentó la paciente. Se efectuó revisión de la literatura encontrando 22 casos reportados con monosomía parcial pura del brazo corto del cromosoma 9 (Tabla 6). La mayoría de estos reportes se enfocaron en las alteraciones genitales, sin detallar el fenotipo y malformaciones sistémicas, por lo que fue difícil establecer la relación fenotipo-genotipo. De los 22 casos con monosomía parcial 9p pura, 18 fueron individuos XY y sólo 4 fueron XX. Se identificó una diferencia significativa en la presencia de alteraciones del desarrollo sexual, teniendo una frecuencia de 83% en individuos XY vs 25% en pacientes XX. Se encontraron 4 casos con la misma región involucrada que el presente caso (9p22-9pter), de los cuales 3 fueron XY y uno XX (Shashi *et al* 1998, Vialard *et al* 2002, Swinkels *et al* 2008). En el reporte realizado por Vialard *et al.*, el paciente era XX y presentaba puente nasal deprimido,

pabellones auriculares dismórficos de implantación baja, cuello corto, anomalías cardíacas, alteración de la estructura broncopulmonar, atresia de coanas y arteria umbilical única. Llama la atención la presencia de la alteración de la estructura broncopulmonar, debido a que en ningún otro paciente con monosomía 9p ni con trisomía 2q se había reportado. Hay que tener en cuenta que no se realizó en todos los pacientes estudios de imagen ni postmórtem para detectar estas anomalías, sin embargo sigue siendo un dato interesante en relación a las características que presentaba nuestra paciente.

Dentro de las manifestaciones más frecuentes de la monosomía 9p, presentes en 36-45% de los pacientes están: retraso del desarrollo psicomotor, anomalía de pabellones auriculares, genitales externos ambiguos y disgenesia gonadal. De las alteraciones que están presentes con una frecuencia del 18-27% son: frente prominente, hipoplasia medio facial, fisuras palpebrales cortas/epicanto, narinas antevertidas, punta nasal bulbosa, *filtrum* largo, microretrognatia, paladar alto/hendido, cuello corto, trastorno de la conducta e hipotonía. Algunas de las alteraciones mencionadas estaban presentes en nuestra paciente lo cual puede indicar un efecto sinérgico de ambas regiones alteradas en este caso.

Las características de la paciente que están descritas tanto en el síndrome de trisomía 2q como en el síndrome de monosomía 9p son: frente prominente, anomalía de pabellones auriculares, narinas antevertidas, *filtrum* largo, microretrognatia y paladar alto/ hendido.

Tabla 6. Características fenotípicas monosomía 9p pura

Características clínicas	Bennett, <i>et al.</i> 1993	Ogata, <i>et al.</i> 1997	Guioli, <i>et al.</i> 1998			Shashi, <i>et al.</i> 1998	Veitia, <i>et al.</i> 1998	Muroya, <i>et al.</i> 2000	Vialard, <i>et al.</i> 2002		Livadas, <i>et al.</i> 2003
			Caso 1	Caso 2	Caso 3				Caso 1	Caso 2	
Segmento monosómico	9p23.05-pter	9p23-pter	9p23	9p23;p24.3	9p23.05	9p22-pter	9p24.2-pter	9p23	9p22-pter	9p22-pter	9p22
Extensión deleción		8-10.5 Mb	17-23 cM	18.6-21 cM	11-21 cM		2.6-4.1Mb	3.9-10.5 Mb			
Sexo cromosómico	XY	XY	XY	XY	XY	XY	XY	XY	XY	XX	XY
Trigonocefalia		-					-				
Braquicefalia											
Frente prominente		+					-	+			
Depresión bitemporal		-					-				
Hipoplasia medifacial		-					-				
Cejas arqueadas		-					-				
Fisuras palpebrales cortas/ epicanto		-					-				
Enoftalmos											
Catarata											
Ambliopia/miopía/estrabismo		-					-				
Narinas antevertidas		+					-	+			
Puente nasal deprimido										+	+
Punta nasal bulbosa		-					-				
Anomalía de pabellones		B					-	B		B,C	B,C
<i>Filtrum</i> largo		-					-				
Labio superior delgado		-					-				
Comisuras descendentes											
Microretrognatia		+					-	+			
Paladar alto/hendido		+					-	+			
Cuello corto		?					-			+	
Tórax ancho		+					-				
Clinobraquidactilia		+					-				
Trastorno de conducta							+				
Malformación SNC											
RDPM		?					-	+			+
Hipotonía							-	+			+
Convulsiones	+						-				
Timo cervical											
Hipotiroidismo congénito											
ERGE/hernia hiatal	+	+					-				
Anomalía cardiaca		?					-			+	
Alteración estructura broncopulmonar										+	
Alteraciones renales								+			
Hernia inguinal		-					-				
Genitales externos ambiguos		+	+	+			+	+	+	-	
Disgenesia gonadal		+					+		+	-	+
Otros datos	Gen ext fem				Gen ext fem	micropene				Atresia coanas, a. umbilical única	Gonadoblastoma, gen ext fem

Continuación Tabla 6. Características fenotípicas monosomía 9p pura

Características clínicas	Vinci, <i>et al.</i> 2007	Hauge, <i>et al.</i> 2008	Swinkels, <i>et al.</i> 2008	Barbaro, <i>et al.</i> 2009		Shimajima and Yamamoto, <i>et al.</i> 2009	Ledig, <i>et al.</i> 2010			Lee, <i>et al.</i> 2011	Onesimo, <i>et al.</i> 2012	Total	Caso 1 Presente
				Caso 1	Caso 2		Caso 1	Caso 2	Caso 3				
Segmento monosómico	9p24.1-pter	9pter	9p22.3-pter	9p24.3	9p23-pter	9p23-pter	9p23-24.3	9p24.3	9p24.3	9p23-24.3	9p24.1-pter		9p22-pter
Extensión deleción	6.7-7.1Mb	1Mb	15.2 Mb	700 Kb	11.5-12.6 Mb	11.1 Mb	10.6 Mb	821.6 Kb	103.2 Kb	12.8 Mb	6.5		
Sexo cromosómico	XY	XY	XY	XY	XY	XY	XX	XX	XX	XY	XY		XX
Trigonocefalia	-	-	+		-	+				+	-	3/22	-
Braquicefalia												0/22	+
Frente prominente	-	+	-		+	+					+	6/22	+
Depresión bitemporal	-	-	+		-	-					+	2/22	+
Hipoplasia mediofacial	-	+	+		-	-				+	+	4/22	
Cejas arqueadas	-	+	+		-	-					+	3/22	
Fisuras palpebrales cortas/epicanto	-	+	-		+	+				+	+	5/22	+
Enoftalmos												0/22	+
Catarata												0/22	+
Ambliopia/miopia/estrabismo	-	-	+		-	-					-	1/22	
Narinas antevertidas	-	+	-		-	+					-	4/22	+
Puente nasal deprimido										+		3/22	+
Punta nasal bulbosa	-	+	+		+	+					+	5/22	
Anomalia de pabellones	-	A	B		A	A					A,B	9/22	B,C
<i>Filtrum</i> largo	-	+	+		+						+	4/22	+
Labio superior delgado	-	+	-		-	?					+	2/22	
Comisuras descendentes												0/22	+
Microretrognatia	-	+	-		-						+	4/22	
Paladar alto/hendido	-	-	+		+						-	4/22	+
Cuello corto	-	?	+		+	?					+	4/22	
Tórax ancho	-	?	?		+	?					-	2/22	
Clinobraquidactilia	-	+	-		-	?					-	2/22	
Trastorno de conducta	+	+	-		-	-					+	4/22	
Malformación SNC												0/22	+
RDPM	+	+	+		+	+	+			+	+	10/22	
Hipotonía	-	+	-		+	-					-	4/22	
Convulsiones	-	-	-		-	-					+	2/22	
Timo cervical												0/22	+
Hipotiroidismo congénito												0/22	+
ERGE/hernia hiatal	-	-	-		-						-	2/22	
Anomalia cardiaca	-	-	-		-	?					+	2/22	+
Alt estructura broncopulmonar												1/22	+
Alteraciones renales												1/22	+
Hernia inguinal	-	-	+		-	?				+	-	2/22	-
Genitales externos ambiguos	+	?	-		-	?		-	-	+	+	9/22	-
Disgenesia gonadal	+		-	+	+		+				+	8/22	-
Otros datos				Gen ext fem			Hipertrofia clítoris, disgerminoma						

Los casos son presentados en orden de acuerdo al año de reporte. A: pabellones en retroposición, B: pabellones de implantación baja, C: pabellones dismórficos, ERGE: enfermedad de reflujo gastroesofágico, gen ext fem: genitales externos femeninos, RDPM: retraso en el desarrollo psicomotor, SNC: sistema nervioso central.

Se realizó una búsqueda de casos previos reportados en la literatura que presentaran ambos cromosomas y regiones involucradas semejantes a los de nuestra paciente. Se identificaron 4 casos con translocación del cromosoma 2 y 9, con regiones similares al caso presentado en esta tesis (Tabla 7). Las características más frecuentes en estos pacientes, presentes en al menos 2 de los 4 casos son: frontal prominente, hipertelorismo, fisuras palpebrales cortas, pabellones auriculares dismórficos y de baja implantación, puente nasal ancho/deprimido, nariz pequeña, narinas antevertidas, pliegues anormales, clinodactilia del quinto dedo, hipotonía y malformación del tracto urinario. El retraso en el desarrollo psicomotor y la criptorquidia (en el caso de pacientes masculinos) estuvieron presentes en todos los casos. De estas características únicamente la paciente no presentó el hipertelorismo, nariz pequeña, pliegues anormales y clinodactilia. El desarrollo psicomotor de nuestra paciente no fue valorable debido a que falleció al mes de vida.

En la integración del análisis de nuestro caso se identificó que algunas características clínicas se sobrelapan en la trisomía 2q y monosomía 9p como son hipertelorismo, puente nasal ancho y deprimido, narinas antevertidas, filtrum largo, micrognatia, pabellones auriculares de implantación baja, retraso en el desarrollo psicomotor e hipotonía; por lo cual resulta difícil delinear características específicas del fenotipo de la paciente en relación a una sola región cromosómica. Sin embargo resulta importante mencionar que la propósita presentó datos cardinales de la trisomía 2q como la braquicefalia, frontal abombado, comisuras labiales descendentes y alteraciones sistémicas (cardiacas y urinarias). Por otro lado están ausentes las características principales de la monosomía 9p como la trigonocefalia y las alteraciones genitales. Hay que tener en cuenta que la principal alteración genital en individuos XX es la anomalía en la función ovárica, la cual no fue valorada en nuestra paciente debido a la edad.

Tabla 7. Características fenotípicas de trisomía 2q y monosomía 9p

Características clínicas	Rosenthal, et al. 1976 Caso 2	Cotlier, et al. 1977	Howard-Peebles, et al. 1980	Katsushima, et al. 1987	Total	Caso 1 presente
Segmento trisomía	2q31-2qter	2q33-2qter	2q31-2qter	2q33-2qter		2q31-2qter
Segmento monosomía	9pter	9p24-9pter	9p24-9pter	9p24-9pter		9p22-9pter
Origen	Pat	Mat	Mat	Mat		Mat
Sexo	F	M	M	M		F
SDG			Term	42		38
Peso al nacimiento (Kg)			3.2	3.5		2.5
Talla al nacimiento (cm)			52			45
Edad muerte	3 meses	6 años	1 año	7 años	3meses-7años	1 mes
Braquicefalia	+				1/4	+
Frontal prominente	+			+	2/4	+
Fontanela amplia			+		1/4	
Hipertelorismo	+	+		+	3/4	
Enoftalmos		+			1/4	+
Glaucoma				+	1/4	
Catarata					0/4	+
Fisuras palpebrales		Descendentes	Cortas		2/4	Cortas
Epicanto			+		1/4	
Estrabismo			+		1/4	
Nistagmus			+		1/4	
Pabellones dismórficos			+	+	2/4	+
Pabellones de implantación baja		+	+	+	3/4	+
Puente nasal deprimido/ancho			+	+	2/4	+
Nariz pequeña			+	+	2/4	
Narinas antevertidas			+	+	2/4	+
Filtrum largo				+	1/4	+
Filtrum				borrado	1/4	profundo
Labio superior delgado				+	1/4	
Comisuras descendentes					0/4	+
Microretrognatia			+		1/4	
Paladar hendido		+			1/4	+
Paladar alto			+		1/4	
Cuello corto			+		1/4	
Teletelia			+		1/4	
Manos pequeñas				+	1/4	
Pliegues anormales			+	+	2/4	
Clinodactilia 5° dedo			+	+	2/4	
Camptodactilia		+			1/4	
Retraso desarrollo psicomotor/ déficit intelectual	+	+	+	+	4/4	
Malformación SNC					0/4	+ Agenesia cuerpo caloso
Problemas alimentación			+		1/4	
Hipotonía			+	+	2/4	
Timo cervical					0/4	+
Hipotiroidismo congénito					0/4	+
Defectos cardíacos			+		1/4	+ CoAo, CIV
Ausencia bronquio superior					0/4	+
Malformación tracto urinario	+		+	Meato ureteral pequeño	2/4	+ Doble arteria renal, quistes renales
Hernia inguinal				+	1/4	
Criptorquidia		+	+	+	3/3	
Hipospadias				+	1/3	
Foseta sacra				+	1/4	

Los casos son presentados en orden de acuerdo al año de reporte. CIV: comunicación interventricular, CoAo: coartación de aorta, F: femenino, M: masculino, Mat: materno, Pat: paterno, SDG: semanas de gestación, SNC: sistema nervioso central, term: término.

La pérdida y ganancia de información genética en la propósita fue secundario a la segregación adyacente 1 de la translocación (2;9) materna (Figura 19). Ésta es un tipo de segregación 2:2, en donde los cromosomas adyacentes en la cruz de paquiteno con centrómeros no homólogos se dirigen hacia el mismo polo, resultando en un componente cromosómico no balanceado con un cigoto con trisomía parcial de un cromosoma y monosomía parcial del otro, cuando es fertilizado por un gameto haploide normal. Generalmente ambos gametos producen cigotos compatibles con la vida, pero el individuo muestra una variedad amplia de malformaciones.

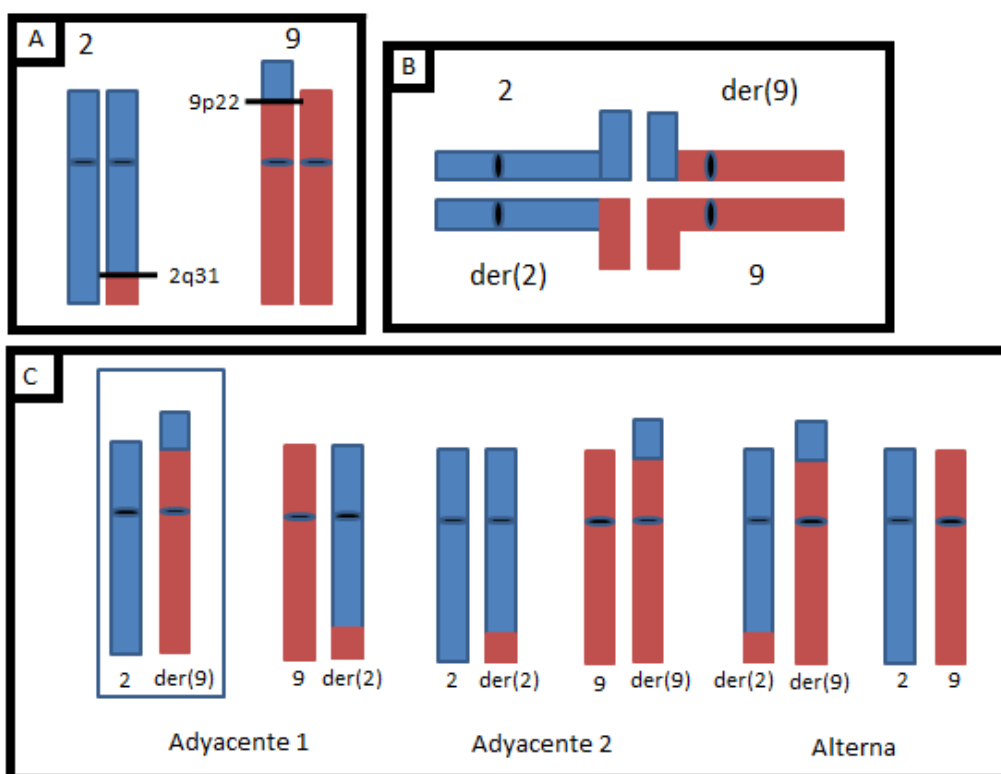


Figura 19. Análisis de la segregación de t(2;9) A. Translocación (2;9) balanceada presente en madre de propósita. B. Cruz de paquiteno. C. Posible segregación de la t(2;9)(q31;p22), el cuadro azul indica el tipo de segregación de la paciente estudiada.

De acuerdo a lo anterior se brindó asesoramiento genético, con riesgo en los portadores balanceados (madre, abuelo y bisabuelo maternos) de tener en cada embarazo independientemente del sexo del producto: 33% de abortos, 33% de hijos con malformaciones y 33% de tener hijos sanos. Los abortos al ser causados por trisomías o monosomías casi completas, como producto de la segregación adyacente 2, se pierden de forma temprana durante el embarazo e incluso pueden ser imperceptibles. Tomando en cuenta a los nacidos vivos el riesgo de tener malformaciones es de 50%, 25% de ser portadores balanceados de la

t(2;9)(q31;p22) y el 25% restante de ser sanos. Otras opciones de segregación son la 3:1 y la 4:0, estas producirían abortos que al ser en etapas muy tempranas del embarazo suelen ser indetectables.

12. Presentación del caso clínico 2

La propósita es una paciente de 5 años de edad (individuo III.3, Figura 20), quién fue valorada por retraso global del desarrollo y por antecedente de ser prematura. Con los siguientes antecedentes de importancia:

Antecedentes heredofamiliares: padres jóvenes, aparentemente sanos, no consanguíneos (individuos II.1 y II.2), una hermana mayor de 11 años de edad con parálisis cerebral infantil (III.1) (Figura 20).

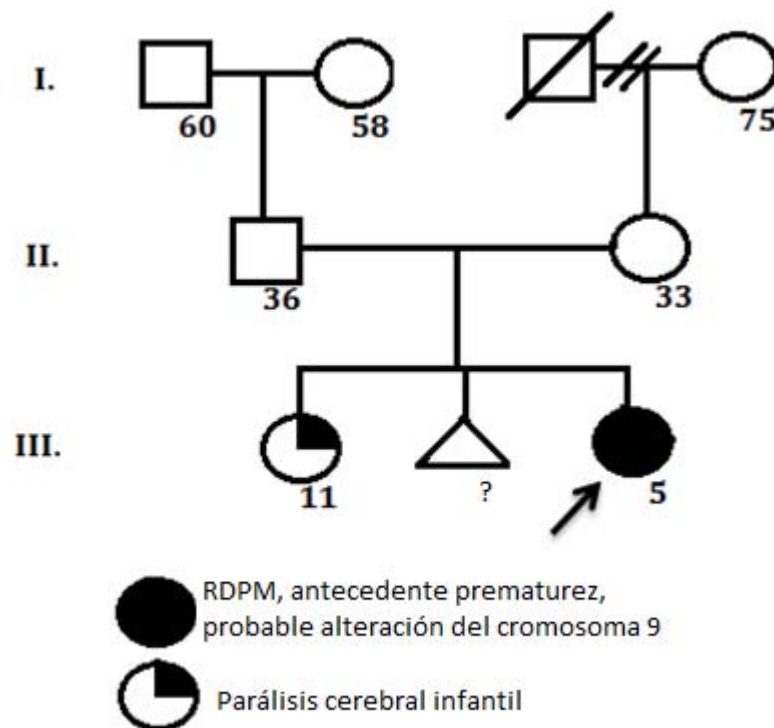


Figura 20. Árbol genealógico de la propósita caso 2.

Antecedentes perinatales: producto de la tercera gestación, percepción del embarazo a los 2 meses, control prenatal regular con ingesta de ácido fólico. Se realizaron ultrasonidos obstétricos reportados con circular de cordón a cuello. Presentó amenaza de aborto a los 3 meses; infección de vías urinarias en el 5° mes tratada con medicamento no especificado. Fue obtenida por vía abdominal a las 35 semanas de gestación, peso 2780 g (P10), talla 46 cm (P10) y Apgar 8/9.

Antecedentes personales patológicos: hospitalizada al año de edad por bronquitis durante 3 días. Cariotipo realizado en laboratorio fuera del HIMFG, con reporte: 46,XX,del(9)(p21).

Desarrollo psicomotor: sonrisa social al mes, sostén cefálico 7 meses, sedestación 18 meses, bipedestación 2 años 3 meses, marcha 2 años 10 meses, balbuceo 2 meses, primera palabra 14 meses.

Exploración física: paciente de 5 años 11 meses de edad, peso 18.5 Kg (p10), talla 107 cm (p3). Edad aparente menor a la cronológica, activa, reactiva, en buen estado general. Cráneo tendiente a la plagiocefalia, cejas pobladas y arqueadas, ojos grandes, fisuras palpebrales ascendentes, punta nasal bulbosa, narinas antevertidas, adecuada implantación de pabellones auriculares, pits retroauriculares izquierdos, filtrum largo, labios delgados, paladar aparentemente íntegro, cuello cilíndrico y simétrico. Tórax simétrico con teletelia, cardiopulmonar sin compromiso. Mancha mongólica en tórax posterior. Abdomen blando, depresible, no doloroso, no megalias, peristalsis normoactiva, timpánico a percusión. Genitales externos femeninos. Extremidades íntegras, eutróficas, dedos largos terminados en punta (Figura 21).



Figura 21. Fenotipo de la propósita caso 2. Fotografía de cara: nótese ojos grandes, fisuras palpebrales ascendentes, punta nasal bulbosa, narinas antevertidas, *filtrum* largo y labios delgados.

El abordaje multidisciplinario de la paciente y los estudios complementarios integraron los diagnósticos de retraso de lenguaje afásico, retraso moderado del desarrollo, atrofia cortical por resonancia magnética de encéfalo, talla baja y endotropía bilateral.

Se continuó en vigilancia y valoración por oftalmología, audiología, neurología, pediatría general, rehabilitación y foniatría. Se solicitó estudio citogenético confirmatorio por retraso global del desarrollo, dismorfias menores y antecedente de cariotipo extra HIM con probable alteración en el cromosoma 9.

13. Resultados citogenéticos del caso clínico 2

Se realizó estudio de cariotipo con técnica de bandas GTG a la propósita, el cual reportó el siguiente resultado:

46,XX,t(2;9)(p10;p24)

Con el resultado anterior, se determinó que la paciente es un individuo femenino con una translocación entre los brazos cortos del cromosoma 2 y del cromosoma 9 (Figuras 22 y 23).

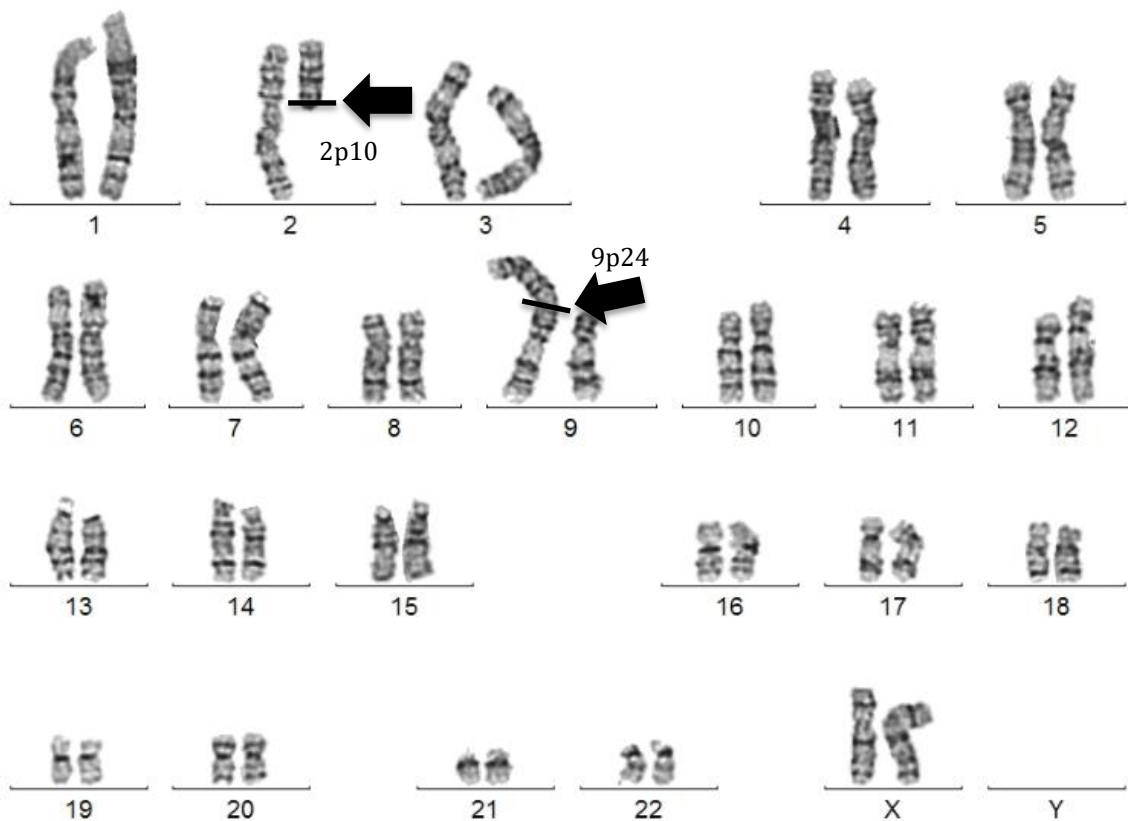


Figura 22. Cariotipo con técnica de bandas GTG de la propósita caso 2. La flecha señala la translocación entre los cromosomas 2 y 9. (M. en C. Judith Villa Morales, Lab. de Citogenética, Depto de Genética, HIMFG).

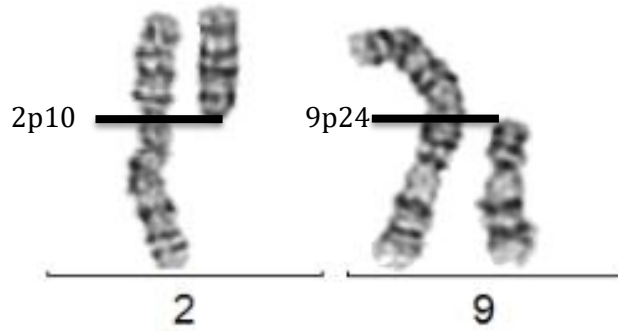


Figura 23. Cariotipo parcial con técnica de bandas GTG de la propósita caso 2. Se muestran los cromosomas participantes en la translocación t(2;9) evidenciando los puntos de ruptura.

Al tratarse de una anomalía cromosómica estructural, se realizó cariotipo con técnica de bandas GTG a los padres de la propósita, reportándose ambos como normales. Con estos resultados se llegó a la conclusión de que la alteración cromosómica de la paciente es *de novo* (Figura 24).

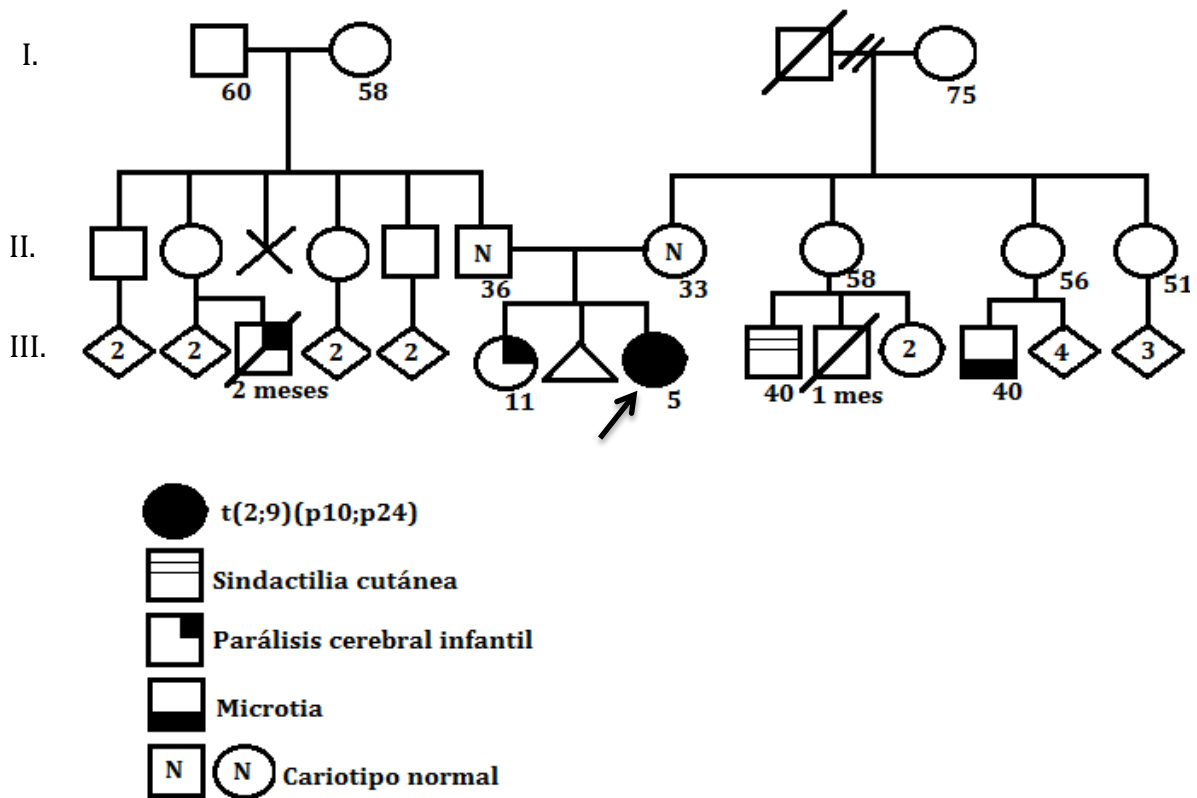


Figura 24. Árbol genealógico en extenso de la propósita caso 2. Se indican los resultados de los estudios citogenéticos. Los individuos II.3 y II.6, padres de la propósita, tienen cariotipo normal.

Para corroborar los cromosomas involucrados y los puntos de ruptura, se realizó análisis con técnica de FISH en la propósite (Figura 25) obteniéndose el siguiente complemento cromosómico:

ish t(2;9)(2pter+,9pter-;2qter+,9qter+)(yRM2052+,305J7-T7-;yRM2112(D2S447)+, yRM2241(D9S325)+)

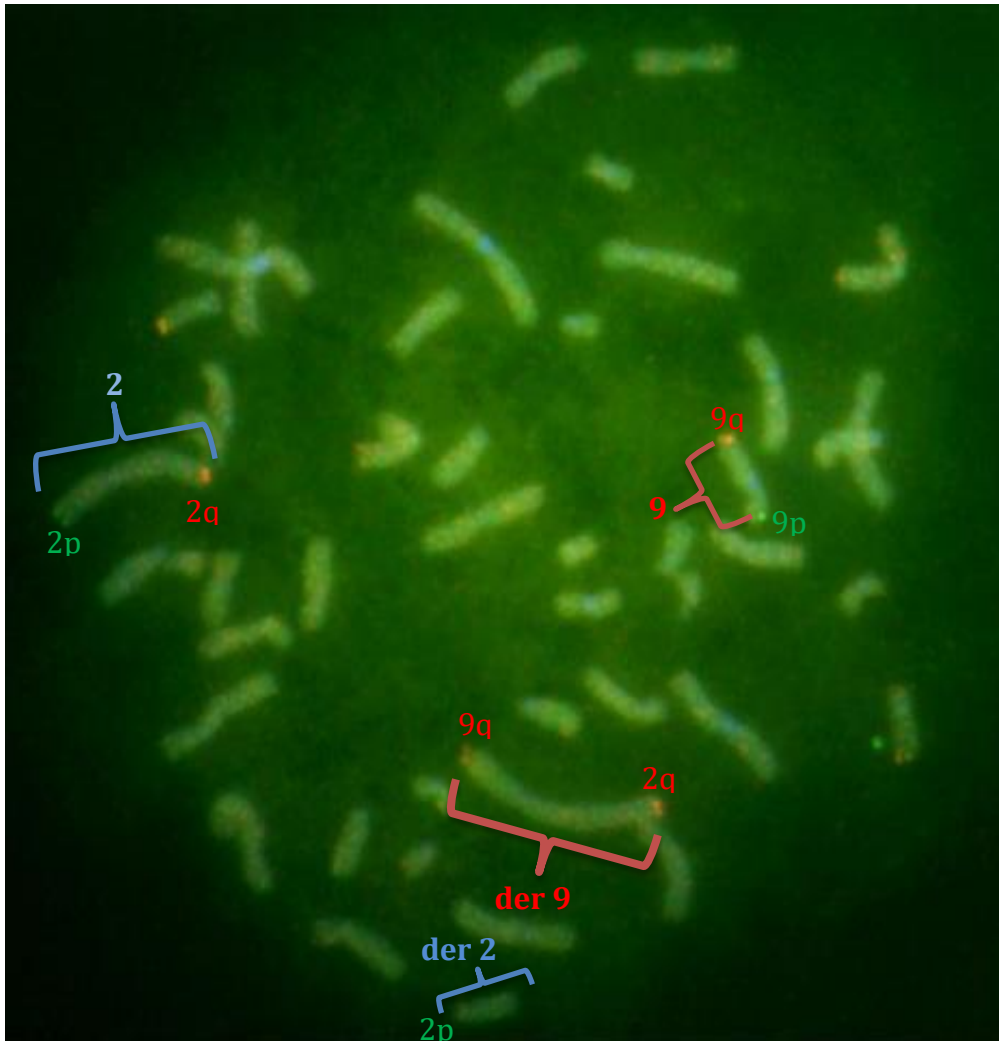


Figura 25. Análisis por FISH con sondas subteloméricas (Vysis®) de los cromosomas 2 y 9 de la propósite caso 2. Las señales de las regiones subteloméricas 2p y 9p se observan en verde y las de 2q y 9q en color rojo. Como parte de la mezcla se observan también los centrómeros de los cromosomas X y 17 (aqua), 17q y Xq (fusión). (Biol. Ariadna Berenice Morales Jiménez, Lab. de Citogenética, Depto. de Genética, HIMFG)

Con el resultado del estudio de FISH, se pudo determinar la siguiente fórmula cromosómica:

46,XX,t(2;9)(p10;p24).ish t(2;9)(2pter+,9pter-;2qter+,9qter+)(yRM2052+,305J7-T7-;yRM2112(D2S447)+, yRM2241(D9S325)+)

Por lo que se concluye que nuestra paciente es un individuo femenino con monosomía de 9p24.

14. Discusión del caso clínico 2

El segundo caso presentado en esta tesis es de un paciente femenino de 5 años de edad con diagnósticos de retraso de lenguaje afásico, retraso moderado del desarrollo, atrofia cortical por resonancia magnética de encéfalo, talla baja y endotropía bilateral con antecedente de análisis de cariotipo anormal. Es importante resaltar que al repetir el estudio citogenético se reportó una translocación aparentemente balanceada, sin embargo por las manifestaciones clínicas y antecedente de cariotipo previo alterado se amplió el estudio por medio de FISH, demostrándose monosomía 9p24.

Al realizar revisión de la literatura se encontraron 7 casos con monosomía 9p24 pura (Tabla 8). Las características presentes en este grupo de pacientes con una frecuencia de 57 a 42% fueron: trastorno de la conducta, retraso del desarrollo psicomotor, genitales ambiguos y disgenesia gonadal. Las manifestaciones con frecuencia del 28% incluyeron frente prominente, hipoplasia medio facial, cejas arqueadas, fisuras palpebrales cortas/epicanto, punta nasal bulbosa, anomalía de pabellones auriculares, *filtrum* largo, labio superior delgado y microretrognatia.

Las características que sólo estuvieron presentes en la propósita y no presentes en los casos reportados en la literatura son: talla baja, plagiocefalia, fisuras palpebrales ascendentes, estrabismo, teletelia, dedos largos y malformación del sistema nervioso central. La afectación en esta paciente es mayor a los casos reportados en la literatura, presentando manifestaciones clínicas no observadas previamente en la monosomía 9p24. Esto podría explicarse debido a que la paciente además de la delección tiene una translocación entre los cromosomas 2 y 9. Esta alteración estructural, puede ocasionar cambio en la expresión de genes por efecto de posición y/o pérdida de material genético en otras regiones por ejemplo en el punto de ruptura del cromosoma 2. Para tener información más detallada acerca de la pérdida o ganancia génica, lo óptimo sería realizar un cariotipo molecular.

En el *locus* de interés de este caso, 9p24, se han localizado 42 genes ^{www.omim.org}, no se encontró una relación entre su función y el fenotipo y manifestaciones de la paciente. La delección de 9p24 se relaciona con alteraciones en el desarrollo sexual, principalmente en individuos XY. En 3 de los casos previamente reportados no se hizo énfasis en el fenotipo ni alteraciones sistémicas, debido a que los artículos estaban enfocados únicamente en determinar si existían alteraciones en el

desarrollo sexual, por lo que no pudieron incluirse para realizar comparaciones con nuestro caso.

El caso número 2 es una paciente con complemento cromosómico sexual XX, con genitales externos femeninos sin alteraciones, lo cual podría explicarse debido al género de la paciente, en donde los individuos XX en caso de tener alguna alteración esta es en la función ovárica, la cual aún no es valorable en la paciente; sin embargo estos casos son poco comunes. Las alteraciones genitales y/o de gónadas se han observado principalmente en individuos masculinos con la delección de 9p24.3, que involucra a los genes *DMRT*. La afectación se da principalmente en individuos masculinos debido a que estos genes juegan un papel importante en el desarrollo testicular y proliferación de células germinales masculinas, ya que tienen una participación central en la espermatogonia ^{Chen, 2013; Abreu, 2014}. Funcionan tanto como factores activadores como represores; reprimen la expresión de *STRA8* y promueven el desarrollo de genes de diferenciación de espermatogonias como *SOHLH1*. Postnatalmente mantienen la determinación testicular y previenen la feminización reprimiendo factores como *FOXL2*. Algunas pacientes femeninas se han reportado con alteración a nivel genital, esto se explicaría ya que también se ha visto que estos genes tienen un papel menor en la ovogénesis.

Tabla 8. Características de monosomía 9p24 pura

Características clínicas	Veitia, <i>et al.</i> 1998	Vinci, <i>et al.</i> 2007	Hauge, <i>et al.</i> 2008	Barbaro, <i>et al.</i> 2009	Ledig, <i>et al.</i> 2010		Onesimo, <i>et al.</i> 2012	TOTAL	Presente caso 2
					Caso 2	Caso 3			
Segmento monosomía	9p24.2-pter	9p24.1-pter	9pter	9p24.3	9p24.3	9p24.3	9p24.1-pter		9p24
Extensión deleción	2.6-4.1Mb	6.7-7.1Mb	1Mb	700 Kb	821.6 Kb	103.2 Kb	6.5		
Sexo cromosómico	XY	XY	XY	XY	XX	XX	XY		XX
Plagiocefalia								0/7	+
Frente prominente	-	-	+				+	2/7	-
Depresión bitemporal	-	-	-				+	1/7	-
Hipoplasia mediofacial	-	-	+				+	2/7	-
Cejas arqueadas	-	-	+				+	2/7	+
Fisuras palpebrales cortas/ epicanto	-	-	+				+	2/7	-
Fisuras palpebrales ascendentes								0/7	+
Estrabismo	-	-	-				-	0/7	+
Narinas antevertidas	-	-	+				-	1/7	+
Punta nasal bulbosa	-	-	+				+	2/7	+
Anomalía de pabellones	-	-	A				A,B	2/7	C
<i>Filtrum</i> largo	-	-	+				+	2/7	+
Labio superior delgado	-	-	+				+	2/7	+
Microretrognatia	-	-	+				+	2/7	-
Cuello corto	-	-	?				+	1/7	-
Teletelia								0/7	+
Clinobraquidactilia	-	-	+				-	1/7	-
Dedos largos								0/7	+
Trastorno de conducta	+	+	+				+	4/7	-
Malformación SNC								0/7	+
RDPM	-	+	+				+	3/7	+
Hipotonía	-	-	+				-	1/7	-
Convulsiones	-	-	-				+	1/7	-
Anomalía cardíaca	-	-	-				+	1/7	-
Genitales externos ambiguos	+	+	?		-	-	+	3/7	-
Disgenesia gonadal	+	+		+			+	4/7	-
Otros datos				Gen ext fem					Talla baja

Los

casos

son presentados en orden de acuerdo al año de reporte. A: pabellones en retroposición, B: pabellones de implantación baja, C: pits retroauriculares, gen ext fem: genitales externos femeninos, RDPM: retraso en el desarrollo psicomotor, SNC: sistema nervioso central.

Posterior a realizar el abordaje del caso, se procedió a realizar el análisis de segregación cromosómica y se brindó asesoramiento genético a la familia (Figura 26).

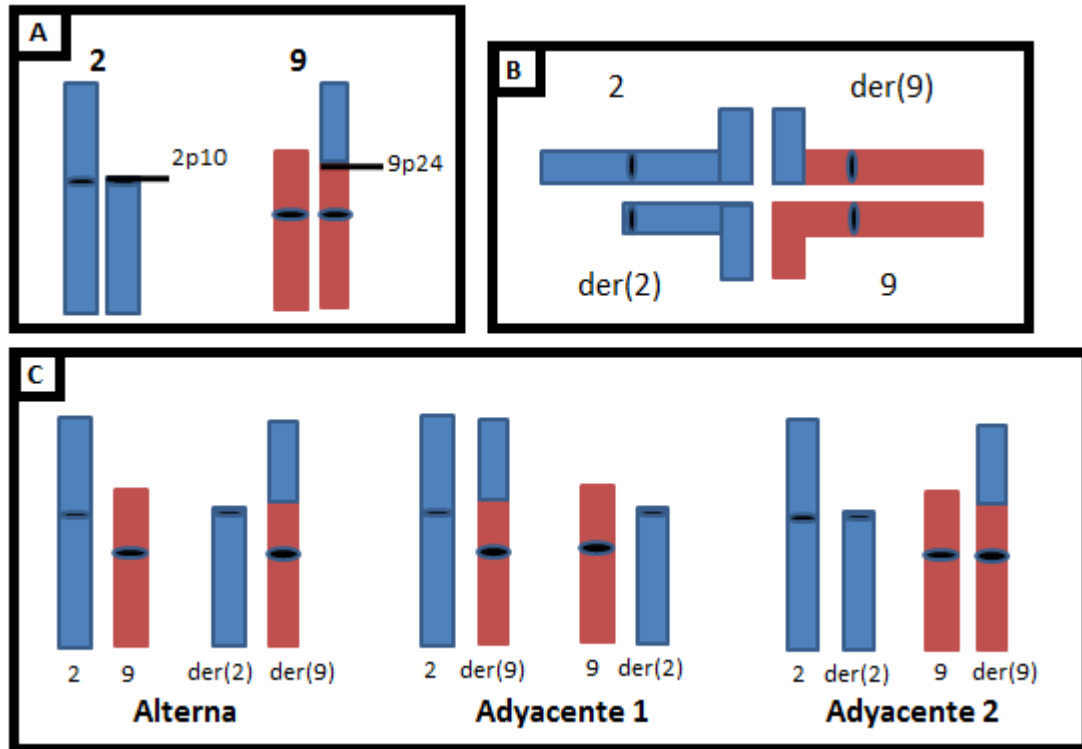


Figura 26. Análisis de la segregación de t(2;9) A. Translocación (2;9). B. Cruz de paquiteno. C. Posible segregación de la t(2;9)(p10;p24).

En el asesoramiento genético se consideró que entre las posibilidades de segregación en la paciente, en caso de tener función ovárica normal, es la 2:2, con sus respectivos resultados dependiendo si era alterna, adyacente 1 o adyacente 2 (Figura 26). Otras opciones de segregación son la 3:1 y la 4:0, produciendo abortos que suelen ser imperceptibles al presentarse en etapas muy tempranas del embarazo. El riesgo para la paciente en cada embarazo independientemente del sexo del producto es de: 33% de abortos que corresponde al producto de la segregación adyacente 2, presentándose como pérdidas tempranas que suelen ser indetectables; 33% de hijos con malformaciones por trisomías y monosomías parciales como resultado de la segregación adyacente 1; 16% de tener hijos con del 9p24 y 16% de hijos sanos. En cuanto a los nacidos vivos el riesgo sería: 50% con malformaciones, 25% con delección 9p24 y el 25% restante hijos sanos.

15. Conclusiones

En el Departamento de Genética del HIMFG durante el periodo en estudio de 2005 a 2014, se identificaron 22 reportes, incluyendo los dos casos presentados en esta tesis, que involucraron a los cromosomas 2 y/o 9, correspondiendo al 0.38% de los reportes de cariotipo. Se observó una mayor frecuencia de alteraciones en el cromosoma 9 con respecto al cromosoma 2, mostrando una relación 4:1. La alteración estructural más frecuente en estos cromosomas fue la translocación recíproca con un 43%.

Las manifestaciones clínicas de la paciente del caso 1 se originaron por efecto del material genético ganado en 2q31 (trisomía) y al perdido en 9p22 (monosomía), secundario a la segregación adyacente 1 de una $t(2;9)$ en la madre portadora. Ya que tienen manifestaciones en común la trisomía 2q y monosomía 9p, resulta difícil delinear el fenotipo de la paciente en relación a que región determina *per se* una característica específica. Sin embargo la propósita presentó datos cardinales de la trisomía 2q como la braquicefalia, frontal abombado, comisuras labiales descendentes y alteraciones sistémicas (cardíacas y urinarias). Por otro lado están ausentes las características principales de la monosomía 9p como la trigonocefalia y las alteraciones genitales, estas últimas principalmente presentes en individuos XY. En la paciente hubiera sido importante valorar función ovárica, que no se realizó debido a la edad. Por lo comentado previamente se puede concluir que el fenotipo de la paciente está determinado de manera principal por la trisomía parcial del brazo largo del cromosoma 2. Así mismo el fenotipo fue grave debido a que la trisomía es proximal a 2q33, correspondiendo a lo reportado en la literatura.

En el segundo caso la paciente presentó delección de 9p24, algunas de las características clínicas, como el retraso del desarrollo psicomotor y las características fenotípicas faciales como las cejas arqueadas, punta nasal bulbosa, *filtrum* largo y labio superior delgado, pueden ser explicadas por esta pérdida de material genético; pues han sido reportadas en otros pacientes con monosomía de 9p24 a pter. La identificación en este caso de monosomía 9p24 por FISH, es un ejemplo de que entre más herramientas y técnicas se utilicen mejor caracterización obtendremos del individuo en estudio.

En los dos casos presentados hubo pérdida de 9p24 que está relacionada con alteraciones en el desarrollo sexual, estas anomalías no estuvieron presentes en ninguno de los casos. Una explicación es que ambos pacientes son femeninos y las alteraciones gonadales y/o genitales se presentan principalmente en individuos XY. Las dos pacientes comparten las siguientes alteraciones: malformación del sistema nervioso central, narinas antevertidas, anomalías en pabellones auriculares y *filtrum* largo; sin embargo resulta complicado hacer una comparación de ambas pacientes debido a que en el primer caso la región perdida de 9p es más extensa, además de que el fenotipo de esta paciente se debe también a trisomía de 2q31.

En ambos casos estuvo indicado realizar, como abordaje de las malformaciones mayores y menores, análisis con cariotipo con bandas GTG. Al encontrar alteraciones citogenéticas se extendió el estudio familiar y se realizaron estudios citogenéticos moleculares con FISH para detallar y confirmar la alteración cromosómica. El realizar este análisis, permitió efectuar la relación fenotipo-genotipo y brindar a las familias asesoramiento genético con bases citogenéticas moleculares.

16. Bibliografía

- Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Wal. DNA and Chromosomes. Capítulo 5. En: Essential Cell Biology. 3° edición. Garland Science, EUA; 2002. pp 171-202.
- Askree SH, Hegde MR. Array comparative genomic hybridization in cytogenetics and molecular genetics. En: Molecular genetics and personalized medicine. Best DH, Swensen JJ. eds Springer Science Business Media; 2012. pp 21-35.
- Barbaro M, Balsamo A, Anderlid BM, Myhre AG, Gennari M, Nicoletti A, *et al.* Characterization of deletions at 9p affecting candidate regions for sex reversal and deletion 9p syndrome by MLPA. Eur J Med Genet. 2009;17:1439–1447.
- Baudat F, Imai Y, Massy B. Meiotic recombination in mammals: localization and regulation. Nat Rev Genet. 2013;11:794-806.
- Bennett CP, Docherty Z, Robb SA, Ramani P, Hawkins JR, Grant D. Deletion 9p and sex reversal. J Med Genet. 1993;30:518–520.
- Besson A, Dowdy SF, Roberts JM. CDK Inhibitors: Cell cycle regulators and beyond. Cell. 2008;14:149-169.
- Bird LM, Mascarello JT. Chromosome 2q duplications: Case report of a de novo interstitial duplication and review of the literature. Am J Med Genet. 2001;100:13–24.
- Bloom J, Cross F. Multiple levels of cyclins specificity in cell-cycle control. Nat Rev Mol Cell Biol. 2007;8:149-160.
- Chen CP, Su YN, Chen CY, Chern SR, Wu PS, Su JW, *et al.* Prenatal diagnosis and molecular cytogenetic characterization of a *de novo* pure distal 9p deletion and literature review. Genomics. 2013; 102:265–269.
- Chih-Lin H. Cytogenetic Techniques. En: Encyclopedia of Life Sciences (eLS). John Wiley & Sons Ltd, Chichester. 2011. doi: 10.1038/npg.els.0002650.

- Cotlier E, Reinglass H, Rosenthal I. The eye in the partial trisomy 2q syndrome. *Am J Ophthalmol.* 1977;84:251-258.
- Dahoun-Hadorn S, Bretton-Chappuis B. De novo inversion duplication of 2q35-2qter without growth retardation. *Ann Genet.* 1995;35:55-57.
- Delgado AR, Galán EG. Citogenética. Capítulo 7. En: Asesoramiento genético en la práctica médica. Médica Panamericana. España. 2005. pp 173-212.
- Dennis R, Neu RL, Bannerman RM. Duplication 2q33 leads to 2q37 due to paternal ins (12;2) translocation. *Am J Med Genet.* 1978;1:271–277.
- Durmaz CD, Yararbaş K, Kutlay NY, Türedi O, Akın I, Gürbüz C, et al. Unusual Chromosomal Rearrangement Resulted in Interstitial Monosomy 9p: Case Report. *Cytogenet Genome Res.* 2016;148:19–24.
- Duro E, Marston LA. From equator to pole: splitting chromosomes in mitosis and meiosis. *Gene Dev.* 2015;29:109–122.
- Eissenberg CJ, Elgin CRS. Heterochromatin and Euchromatin. En: *Encyclopedia of Life Sciences (eLS)*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester. 2005. doi: 10.1038/npg.els.0003844
- Ekong R, Povey S. Gene Localization by in situ Hybridization: FISH. En: *Encyclopedia of Life Sciences (eLS)*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester. 2002. doi: 10.1038/npg.els.0003810.
- Elbracht M, Roos A, Schonherr N, Busse S, Damen R, Zerres K, et al. Pure distal trisomy 2q: A rare chromosomal abnormality with recognizable phenotype. *Am J Med Genet Part A.* 2009;149A:2547–2550.
- Ensembl project. Cromosoma 9. (Fecha de acceso 24-07-2015). Disponible en: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Location/Chromosome?r=9%3A1-1000
- Ensembl project. Cromosoma 2. (Fecha de acceso 24-07-2015). Disponible en: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Location/Chromosome?r=2%3A1-1000

- Frías Vázquez S, Molina Álvarez B, Rodríguez Gómez AJ, Ramos Ángeles SE, Sánchez Sandoval SR, Villarroel C. Patología cromosómica. Capítulo 4. En: Genética Clínica. Del Castillo V, Uranga RD, Zafra G. eds Manual Moderno, México; 2012. pp 101-123.
- Fritz B, Mueller-Navia J, Hillig U, Koehler M, Aslan M, Rehder H. Trisomy 2q35-q37 due to insertion of 2q material into 17q25: clinical, cytogenetic and molecular cytogenetic characterization. *Am J Med Genet.* 1999;87:297-301.
- Fukugawa T, Earnshaw CW. The Centromere: Chromatin foundation for the kinetochore machinery. *Dev Cell.* 2014;30:496-508.
- Galati A, Micheli E, Cacchione S. Chromatin structure in telomere dynamics. *Front Oncol.* 2013;3:1-14.
- Gersen S, Keagle M. DNA, Chromosomes and Cell Division. Capítulo 2. En: *The Principles of Clinical Cytogenetics.* Springer, EUA; 2013. pp 9-23.
- González LA, Cervantes AB, García C, Morán VF. Análisis clínico, citogenético y molecular de un caso de una familia con t(2;3)(q37;q23) resultando en un caso con monosomía parcial 2q y trisomía parcial 3q. Tesis de especialidad. UNAM. 2016. Ciudad de México.
- Guioli S, Schmitt K, Critcher R, Bouzyk M, Spurr NK, Ogata T, et al. Molecular analysis of 9p deletions associated with XY sex reversal: Refining the localization of a sex-determining gene to the tip of the chromosome. *Am J Hum Genet.* 1998;63:905–908.
- Hansen NJ, Poole JC, Andrews LG, Tollefsbol TO. Telomerase: Structures and function En: *Encyclopedia of Life Sciences (eLS).* John Wiley & Sons Ltd, Chichester. 2005:1-6. doi: 10.1038/npg.els.0006167.
- Hauge X, Raca G, Cooper S, May K, Spiro R, Adam M, et al. Detailed characterization and clinical correlations in 10 patients with distal deletions of chromosome 9p. *Genet Med.* 2008;10:599–611.

- Hermsen MA, Tijssen M, Acero IH, Meijer GA, Ylstra B, Toral JF. High resolution microarray CGH and MLPA analysis for improved genotype/phenotype evaluation of two childhood genetic disorder cases: ring chromosome 19 and partial duplication 2q. *Eur J Med Genet.* 2005;48:310–318.
- Howard-Peebles PN, Goldsmith JP. Duplication of region 2q31→2qter in a family with 2/9 translocation. *Hum Hered.* 1980;30:84-88.
- Jacobs P. An Opportune Life: 50 Years in Human Cytogenetics. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2014;15:29–46.
- Kang SH, Shaw C, Ou Z. Insertional translocation detected using FISH confirmation of array-comparative genomic hybridization (aCGH) results. *Am J Med Genet A.* 2010;152A:111.
- Karp G. El núcleo celular y el control de la expresión génica. Capítulo 12. En: *Biología Celular y Molecular.* 6° edición. Mc Graw Hill, China; 2009. pp 485-508.
- Katsushima H, Kii T, Soma K, Ohyanagi K, Niikawa N. Primary congenital glaucoma in a patient with trisomy 2q(q33→qter) and monosomy 9p(p24→pter). *Arch Ophthalmol.* 1987;105:323-324.
- Kitonazo A, Fitzgerald J, Kron S. Cell Cycle: Regulation by Cyclins En: *Encyclopedia of Life Sciences (eLS).* John Wiley & Sons Ltd, Chichester. 2005:1-8. doi: 10.1038/npg.els.0004024.
- Kyllerman M, Wahlstrom J, Westerberg B, Gustavson KH. Delineation of a characteristic phenotype in distal trisomy 2q. *Helv Paediat Acta.* 1984;39:499-508.
- Ledig S, Hiort O, Scherer G, Hoffmann M, Wolff G, Morlot S, et al. Array-CGH analysis in patients with syndromic and non-syndromic XY gonadal dysgenesis: Evaluation of array CGH as diagnostic tool and search for new candidate loci. *Hum Reprod.* 2010;25:2637–2646.

- Lee IW, Chou YY, Hsu KF, Chou PY, Chen M, Kuo PL, et al. Complex chromosome rearrangement 46,XY, der(9)t(Y;9)(q12;p23) in a girl with sex reversal and mental retardation. *J Urol.* 2011;77:1213–1216.
- Lewin B. Los genes son DNA. Capítulo 1. En: *Genes IX*. 9° edición. Mc Graw Hill, México; 2008. pp 1-20.
- Lisker R, Zentella AD, Grether PG. Conceptos básicos de genética. Capítulo 2. En: *Introducción a la Genética Humana*. 3° edición. Manual Moderno, México; 2013. pp 11-44.
- Li Y, Barbash O, Diehl JA. Regulation of the Cell Cycle. Capítulo 11. En: *The Molecular Basis of Cancer*. 4° edición. Elsevier/Saunders, China; 2015. 165-178.
- Livadas S, Mavrou A, Sofocleous C, Vliet-Constantinidou C, Dracopoulou M, Dacou-Voutetakis C. Gonadoblastoma in a patient with del(9)(p22) and sex reversal: Report of a case and review of the literature. *Cancer Genet Cytogenet.* 2003;143:174–177.
- Loane M, Morris JK, Addor MC. Twenty-year trends in the prevalence of Down syndrome and other trisomies in Europe: impact of maternal age and prenatal screening. *Eur J Hum Genet.* 2013;21:27.
- Lodish H, Berk A, Kaiser C, Krieger M, Bretscher, Ploegh. Regulation of the Eukaryotic Cell Cycle. Capítulo 11. En: *Molecular cell biology*. 4° edición. Media connected; 2012.
- Lu W, Zhang Y, Liu D, Songyang Z, Wan M. Telomeres-structure, function and regulation. *Exp Cell Res.* 2013;319:133-141.
- Lukusa T, Devriendt K, Jaeken J, Fryns JP. Mild dysmorphic signs in two male sibs with partial trisomy 2q32.1→q35 due to maternal ins(14;2) translocation. *Clin Dysmorphol.* 1999;8:47–51.
- Moore CM, Best RG. Chromosomal Genetic Disease: Structural Aberrations. En: *Encyclopedia of Life Sciences (eLS)*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester. 2001. doi: 10.1038/npg.els.0001452.

- Moore CM, Best RG. Chromosome Preparation and Banding. En: Encyclopedia of Life Sciences (eLS). John Wiley & Sons Ltd, Chichester. 2001. doi: 10.1038/npg.els.0001444.
- Moore CM & Best RG Chromosome Mechanics. En: Encyclopedia of Life Sciences (eLS).John Wiley & Sons Ltd, Chichester. 2007. doi: 10.1002/9780470015902.a0001441.pub2
- Muroya K, Okuyama T, Goishi K, Ogiso Y, Fukuda S, Kameyama J, et al. Sex-determining gene(s) on distal 9p: Clinical and molecular studies in six cases. J Clin Endocrinol Metab. 2000;85:3094–3100.
- Novák B, Sible J, Tyson J. Checkpoints in the cell cycle. En: Encyclopedia of Life Sciences (eLS).John Wiley & Sons Ltd, Chichester. 2002. doi: 10.1038/npg.els.0001355.
- Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Thompson and Thompson. El genoma humano y las bases cromosómicas de la herencia. Capítulo 2. En: Genética en Medicina. 7° edición. Elsevier Masson, España; 2008. pp 5-22.
- Nye AC, Rajendran RR, Belmont AS. Chromosomes and chromatin. En: Encyclopedia of Life Sciences (eLS).John Wiley & Sons Ltd, Chichester. 2005. doi: 10.1002/9780470015902.a0005766.pub2.
- Ogata T, Muroya K, Matsuo N, Hata J, Fukushima Y, Suzuki Y. Impaired male sex development in an infant with molecularly defined partial 9p monosomy: Implication for a testis forming gene(s) on 9p. J Med Genet. 1997;34:331–334.
- Ogiyama Y, Ishii K. The smooth and stable operation of centromeres. Genes Genet Syst. 2012;87:63-73.
- Oliva R, Ballesta F, Oriola J, Claria J. Alteraciones cromosómicas. Consecuencias clínicas. Capítulo 11. En: Genética Médica. 3° edición. Publicacions i Edicions, España; 2008. pp 131-150.

- Onesimo R, Orteschi D, Scalzone M, Rossodivita A, Nanni L, Zannoni GF, et al. Chromosome 9p deletion syndrome and sex reversal: Novel findings and redefinition of the critically deleted regions. *Am J Med Genet Part A*. 2012;158A:2266–2271.
- Online Mendelian Inheritance in Man. An Online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders. Disponible en: <http://www.omim.org>.
- Pajalunga D, Mazzola A, Franchitto A, Puggioni E, Crescenzi M. The logic and regulation of cell cycle exit and reentry. *Cell Mol Life Sci*. 2008;65:8-15.
- Pettenati MJ, Rao PN, Phelan MC. Paracentric inversions in humans: a review of 446 paracentric inversions with presentation of 120 new cases. *Am J Med Genet*. 1995;55:171.
- Pinsker, JE. Turner syndrome: updating the paradigm of clinical care. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012; 97(6).
- Ponnala R, Ranganath P, Dutta UR, Pidugu VK, Dalal AB. Phenotypic and molecular characterization of partial trisomy 2q resulting from insertion duplication in chromosome 18q: a case report and review of literature. *Cytogenet Genome Res*. 2012;136:229–234.
- Przewłoka MR, Glover DM. The kinetochore and the centromere: A working long distance relationship. *Annu Rev Genet*. 2009;43:439-465.
- Ramer JC, Mowrey PN, Robins DB, Ligato S, Towfighi J, Ladda RL. Five children with del (2)(q31q33) and one individual with dup (2)(q31q33) from a single family: Review of brain, cardiac, and limb malformations. *Am J Med Genet*. 1990;37:392–400.
- Reddy UM, Page GP, Saade GR. The role of DNA microarrays in the evaluation of fetal death. *Prenat Diagn*. 2012;32:371.
- Riegel M. Human molecular cytogenetics: From cells to nucleotides. *Genet Mol Biol*. 2014;37:194-209.

- Romain DR, Mackenzie NG, Moss D, Columbano-Green LM, Smythe RH, Parfitt RG, et al. Partial trisomy for 2q in a patient with dir dup (2)(q33.1q35). *J Med Genet.* 1994;31:652–653.
- Rosenberg L, Rosenberg D. Growth, Development, and Reproduction. En *Human Genes and Genomes*. Capítulo 4. Elsevier; 2012. pp 27-50.
- Rosenthal IM, Kaye CI, Beligere N, Pruzansky S. Trisomy of distal portion of chromosome 2, an abnormality found in two unrelated families associated with mental retardation. *Exc Med Congr Ser.* 1976;397:391.
- Russo A, Paccheriotti F, Cimini D, Ganem NJ, Genesca A, Natarajan AT, et al. Genomic Instability: Crossing Pathways at the Origin of Structural and Numerical Chromosome Changes. *Environ Mol Mutagen.* 2015;56:563-580.
- Sebold CD, Romie S, Szymanska J, Torres-Martinez W, Thurston V, Muesing C, et al. Partial trisomy 2q: Report of a patient with dup (2)(q33.1q35). *Am J Med Genet Part A.* 2005;134A:80–83.
- Seidahmed MZ, Rooney DE, Salih MA, Basit OB, Shaheed MM, Abdullah MA, et al. Case of partial trisomy 2q3 with clinical manifestations of Marshall–Smith syndrome. *Am J Med Genet.* 1999;85:185–188.
- Shaffer L. American College of Medical Genetics Guideline on the cytogenetic evaluation of the individual with development delay or mental retardation. *Genet Med.* 2005;7:650-654.
- Shaffer GL. Karyotype interpretation. En: *Encyclopedia of Life Sciences (eLS)*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester. 2005:1-7. doi: 10.1038/npg.els.0005778.
- Shashi V, Berry D, Stamper TH, Pettenati M. A further case of choanal atresia in the deletion (9p) syndrome. *Am J Med Genet.* 1998;80:440.
- Shimojima K, Yamamoto T. Investigation of the candidate region for trigonocephaly in a patient with monosomy 9p syndrome using arrayCGH. *Am J Med Genet.* 2009;149:1076–1080.

- Slaugenhaupt S, Ozelius L. Chromosome 9. En: Encyclopedia of Life Sciences (eLS).John Wiley & Sons Ltd, Chichester. 2006. doi: 10.1038/npg.els.0005818.
- Slavotinek AM, Boles D, Lacbawan F. A female infant with duplication of chromosome 2q33 to 2q37.3. Clin Dysmorphol. 2003;12:251–256.
- Solari AJ. Cariotipo humano y cromosomopatías. Capítulo 17. En: Genética humana, Fundamentos y aplicaciones en Medicina. Médica Panamericana; 2011. pp 423-456.
- Speicher M. Chromosome. En: Encyclopedia of Life Sciences (eLS).John Wiley & Sons Ltd, Chichester. 2006:1-8. doi: 10.1038/npg.els.0005783.
- Speicher M. Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) Techniques. En: Encyclopedia of Life Sciences (eLS).John Wiley & Sons Ltd, Chichester. 2005. doi: 10.1038/npg.els.0001468.
- Stein GS, van Wijnen AJ, Stein JL, Lian JB, Owen TA. Cell cycle. En: Encyclopedia of Life Sciences (eLS).John Wiley & Sons Ltd, Chichester. 2002:1-9. doi: 10.1002/9780470015902.a0001354.pub2.
- Storchova Z. Numerical Chromosomal Aberrations in Human Diseases. En: Encyclopedia of Life Sciences (eLS).John Wiley & Sons Ltd, Chichester. 2011. doi: 10.1002/9780470015902.a0001451.pub2.
- Swinkels ME, Simons A, Smeets DF, Vissers LE, Veltman JA, Pfundt R, et al. Clinical and cytogenetic characterization of 13 Dutch patients with deletion 9p syndrome: Delineation of the critical region for a consensus phenotype. Am J Med Genet Part A. 2008;146A:1430–1438.
- Taylor H, 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
- Truman AW, Kitazono A, Fitz Gerald JN, Kron SJ. Cell cycle: regulation by cyclins. En: Encyclopedia of Life Sciences. John Wiley & Sons Ltd, Chichester. 2012. doi: 10.1002/9780470015902.a0001364.pub3.

- Usui D, Shimada S, Shimojima K, Sugawara M, Kawasaki H, Shigematu H, et al. Interstitial duplication of 2q32.1–q33.3 in a patient with epilepsy, developmental delay, and autistic behavior. *Am J Med Genet Part A*. 2013;161A:1078–1084.
- Veitia RA, Nunes M, Quintana-Murci L, Rappaport R, Thibaud E, Jaubert F, et al. Swyer syndrome and 46,XY partial gonadal dysgenesis associated with 9p deletions in the absence of monosomy-9p syndrome. *Am J Hum Genet*. 1998;63:901–905.
- Vialard F, Ottolenghi C, Gonzales M, Choiset A, Girard S, Siffroi JP, et al. Deletion of 9p associated with gonadal dysfunction in 46,XY but not in 46,XX human fetuses. *J Med Genet*. 2002;39:514–518.
- Vinci G, Chantot-Bastaraud S, El Houate B, Lortat-Jacob S, Brauner R, McElreavey K. Association of deletion 9p, 46, XY gonadal dysgenesis and autistic spectrum disorder. *Mol Hum Reprod*. 2007;13:685–689.
- Vlangos C, Hildebrandt F. Chromosome 2. En: *Encyclopedia of Life Sciences (eLS)*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester. 2007. doi: 10.1002/9780470015902.a0005811.pub2.
- Warren JE, Turok DK, Maxwell TM. Array comparative genomic hybridization for genetic evaluation of fetal loss between 10 and 20 weeks of gestation. *Obstet Gynecol*. 2009;114:1093.
- Westhorpe F, Straight A. Functions of centromere and kinetocore in segregation. *Curr Opin Cell Biol*. 2013;25:1-7.
- Yu CW, Chen H. De novo inverted tandem duplication of the long arm of chromosome 2(q34→q37). *Birth Defects Orig Art Ser*. 1982;18:311-320.

Anexos

Anexo I: Técnica de cariotipo con bandas GTG

Material:

- Solución amortiguadora de fosfatos pH 7.4
- Solución amortiguadora 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
- Resina Entellán
- Linfocitos T

Equipo:

- Cronómetro
- Microscopio
- Pinzas punta roma

Procedimiento:

- 1) Se obtienen 1.5ml de sangre periférica por punción directa, en jeringa previamente heparinizada con 0.1ml de heparina sódica de 1,000 UI.
- 2) Se agregan 700µl de muestra en 2 tubos de ensayo Falcon desechables de polipropileno esterilizados.

- 3) Se agregan 5ml de medio de cultivo PB-MAX (contiene RPMI 1640, fitohemaglutinina, suero bovino fetal, antibióticos estreptomycin y penicilina, L-glutamina).
- 4) Se incuba por 72 horas a 37-37.5°C.
- 5) A las 72 hrs se agregan 20µl de colchicina 2% 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 (cloruro de potasio) 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 (metanol/ácido acético, relación 3:1), gota a gota para completar un volumen de 80ml.
- 11) Se refrigera por 20 minutos.
- 12) Se centrifuga y se retira el sobrenadante, se lleva a un volumen de 8ml para el primer lavado.
- 13) Se centrifuga nuevamente, se retira el sobrenadante y se lleva a un volumen de 6ml para el segundo lavado.
- 14) Se gotea el cultivo en laminillas de vidrio y se revisa el material determinando la calidad y cantidad de metafases presentes.
- 15) Las laminillas obtenidas se incuban en una estufa a 60°C por espacio de 24 horas.
- 16) Sumergir de 10-30 segundos una laminilla en el primer Coplin, (digestión)
- 17) Sacar la laminilla al termino del tiempo y enjuagarla en el segundo Coplin (parar actividad)
- 18) Sumergir la laminilla en el siguiente Coplin 2 minutos (tinción con Wright)
- 19) Sumergir la laminilla en el siguiente Coplin 2 minutos (tinción con Giemsa)
- 20) Sumergir y enjuagar la laminilla en el vaso de precipitados
- 21) Secar
- 22) Montar inmediatamente con 3 gotas de entellán y cubreobjetos
- 23) Revisar la calidad de las bandas
- 24) Dejar secar a temperatura ambiente


Modificada de Freshney RI. Specialized Techniques. In: Culture of Animal Cells. A manual of basic technique and specialized applications. Wiley-Blackwell; 2010. pp 517-529.

Anexo II: Técnica de FISH

Técnica de FISH (Hibridación *in situ* con fluorescencia) para sondas teloméricas, subteloméricas, centroméricas y *locus* específicas. 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 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 2X SSC 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 amortiguador 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 2X SSC /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 FRENTE A LA MEDICINA Y LA BIOTECNOLOGÍA	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 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: Carta de consentimiento informado para fotografías



HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO
FEDERICO GÓMEZ
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 MEXICO

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