



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ITZTACALA

ESTUDIO CITOGENÉTICO MEDIANTE *FISH* EN  
PACIENTES CON PROBABLE SÍNDROME DE  
DELECCIÓN 22q11.2. UTILIZANDO DOS SONDAS:  
TUPLE Y N25

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G O  
P R E S E N T A :

ESTEFANÍA GONZÁLEZ DÍAZ

DIRECTOR DE TESIS

M. EN C. MÓNICA DÍAZ GARCÍA



Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México, 2018



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

## DEDICATORIAS

A mis padres: *Ernestina* y *Ernesto* por su amor, cariño, comprensión, enseñanzas, consejos, apoyo, confianza y sobre todo por creer en mí incondicionalmente en cada uno de los proyectos que he desarrollado a lo largo de mi vida; esta investigación es un claro ejemplo, me han enseñado que lo que comienza como un sueño debo convertirlo en objetivo y llevarlo a cabo hasta llegar a la meta para sentir la satisfacción de sentirme realizada. GRACIAS papás por que siempre están apoyándome.

A mis hermanas *Alejandra Jareni* e *Itzel*, aunque a veces tenemos diferencias siempre han estado a mi lado apoyándome incondicionalmente.

A mi tía *Tuntun*, que ha estado en todo momento junto a mí, desde mi llegada a este mundo hasta este logro, gracias por tu confianza, amor, apoyo y sobre todo por ser un ejemplo, tanto personal como en lo profesional, tu quien fuiste una inspiración para elegir la profesión que forma parte de mi proyecto de vida.

A mis dos grandes amigos *Gil* y *Memo* que mutuamente hemos visto el crecimiento de cada uno, logros, fracasos, alegrías, tristezas entre miles de situaciones que solo fortalecieron nuestra amistad.

A *Pepe* que ha sido un amigo que siempre estuvo cuando necesitaba ser escuchada, sin que me criticaran o juzgaran.

A mis amigos de la *FESI*, que fueron una parte muy importante en mi desarrollo académico, desde el simple hecho de realizar equipo de laboratorio hasta las convivencias personales, de ustedes aprendí tolerancia, a considerar diferentes opiniones, agradezco su confianza y los momentos de alegría en estos años de conocerlos.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la *M. en C. Mónica Díaz García* quien apoyó y dirigió mi proyecto de tesis. Gracias por dedicarme el tiempo necesario para las revisiones y transmitirme conocimiento.

Al *Dr. Norberto Leyva García* Jefe del Laboratorio de Medicina Genómica. Gracias por aceptarme en el laboratorio de Citogenética Molecular para realizar este proyecto de investigación.

A la *Biol. Ma. Teresa Bautista Tirado*, quien me apoyó en el servicio social. Gracias por su tiempo y despejar mis dudas en la lectura de los cariotipos.

A la *Biol. Silvia Ma. Del Carmen Arenas Díaz*. Gracias por su apoyo.

A la *Lic. Blanca Lidia Sánchez Pérez y María de la Luz Méndez Martínez*. Gracias por apoyarme proporcionándome la información y realización de los trámites para mi ingreso al Instituto, desde mi servicio social hasta el registro de tesis.

A mi comité revisor: *Dra. Martha Salcedo Álvarez, M. en C Ma. Eugenia Heres Pulido, Dr. Saúl Flores Maya y M en C. Alejandro Cruz Monsalvo Reyes*. Gracias por darme el tiempo necesario en la revisión y corrección de mi tesis.

A todos los profesores que formaron parte de mi desarrollo académico, a quienes les aprendí a ser responsable, limpio, tolerante y respetuosa.

A la UNAM, más que una casa de estudio por un tiempo, fue mi segundo hogar, le agradezco todo lo que me ha proporcionado para poder ser una profesionista.

## ÍNDICE

RESUMEN .....	7
INTRODUCCIÓN .....	8
MARCO TEÓRICO.....	9
Antecedentes Históricos-Clínicos .....	9
EPIDEMIOLOGÍA.....	13
ASPECTOS CLÍNICOS.....	14
Cardiopatías.....	16
Alteraciones Palatinas.....	16
Alteraciones en el Neurodesarrollo .....	16
Alteraciones del Aprendizaje y Educación .....	17
Habilidades Cognitivas.....	18
Problemas de Lenguaje .....	18
Hipoacusia .....	19
Hipocalcemia .....	19
Inmunodeficiencia .....	19
TIPO DE HERENCIA .....	25
BASES CITOGÉNÉTICAS Y MOLECULARES.....	28
Pruebas Citogenéticas y Moleculares para el Diagnóstico de sd22q11.2. ....	32
Hibridación <i>in situ</i> con Fluorescencia (FISH) .....	33
Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR).....	35
Aplicación de Sondas Dependiente de Múltiples Ligandos (MLPA).....	36
Microarreglos de Hibridación Genómica Comparativa (aCGH).....	37
GENES.....	38
JUSTIFICACIÓN .....	45

OBJETIVOS .....	46
Objetivo General .....	46
Objetivos Específicos.....	46
METODOLOGÍA.....	47
RESULTADOS .....	49
DISCUSIÓN .....	66
CONCLUSIONES.....	69
ANEXO.....	70
Diseño de la Investigación .....	70
Universo de Trabajo.....	70
Criterios de Inclusión.....	70
Criterios de Exclusión .....	70
Tamaño de Muestra .....	71
Variables de Estudio .....	71
Reactivos .....	72
Técnica de Cultivo y Cosecha de Linfocitos en Sangre Periférica .....	73
Bandas GTG .....	74
Técnica de Hibridación <i>in situ</i> por Fluorescencia (FISH). .....	75
Preparación de Reactivos para Análisis Citogenéticos. ....	77
Preparación de Reactivos para Hibridación <i>in situ</i> Confluorescencia .....	78
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	80

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Cromosoma 22, en el locus q11.2, el primer 1 después de la q corresponde a la región, el segundo 1 a la banda y el 2 después del punto a la sub-banda.....	9
Figura 2 Las características comunes son fisuras palpebrales ascendentes, puente nasal alto y filtrum liso.....	15
Figura 3. Esquema del cromosoma 22 iindicando la posición de los LCRs en el locus q11.2 .....	29
Figura 4. Reordenamientos genómicos resultantes de la recombinación entre LCRs ...	30
Figura 5. Representación esquemática del mapa físico de 22q11.2, que muestra las ubicaciones de los LCR22. La barra verde representa la delección de 1.5MB y sus puntos de ruptura de LCRA-LCRB y la barra roja representa la delección de 3MB y sus puntos de ruptura LCRA-LCRD .....	31
Figura 6. Región <b>TUPLE1</b> espectro rojo .....	34
Figura 7. Región <b>N25</b> espectro naranja.....	34
Figura 8. Región <b>TBX1</b> espectro rojo.....	35
Figura 9. la región crítica de la microdelección de 3 Mb .....	39
Figura 10.Registro fotográfico: frontales y de perfil de pacientes con diagnóstico positivo del <b>SD22q11.2</b> . .....	49
Figura 11Frecuencia de pacientes de las alteraciones palatinas en pacientes con SD22q11.2 .....	55
Figura 12 Cariotipo femenino: 46,XX. ....	56
Figura 13 Cariotipo masculino: 46,XY. ....	57
Figura 14 Análisis de la técnica de FISH utilizando la sonda TUPLE1 en los pacientes con probable <b>SD22q11.2</b> . ....	58
Figura 15Comparación de los resultados de la técnica de FISH con la sonda TUPLE1 y N25.....	59
Figura 16 FISH con sonda TUPLE1, positivo para <b>SD22q11.2</b> ,.....	61
Figura 17 FISH con sonda TUPLE1 y N25, negativo para <b>SD22q11.2</b> .....	62

## Indice de Tablas

Tabla 1. Datos clínicos asociados con delección del cromosoma 22q11.2.....	21
Tabla 2 Características clínicas de los pacientes con SD22q11.2. ....	50
Tabla 3 Resultados de la técnica de FISH con la sonda TUPLE1, nomenclatura de ISCN (2016) en pacientes positivos para el SD22q11.2. ....	63
Tabla 4 Resultados de la técnica de FISH con la sonda TUPLE1 y N25, nomenclatura de ISCN (2016) en pacientes negativos para el SD22q11.2. ....	64



## **Lista de Abreviaturas**

**2XSSC:** Solución salina doble de citratos

**aCGH:** Hibridación genómica comparada con microarreglos

**ADN:** Acido Desoxirribonucleico

**CAFS:** Síndrome de anomalías conotruncales y faciales

**CATCH22:** Defectos cardiacos, anomalías facial, hipoplasia del timo, paladar hendido e hipocalcemia

**CENIAQ:** Centro Nacional de Investigación y Atención de Quemados

**CI:** Coeficiente intelectual

**DAPI:** 4,6 diamidino-2, fenilindol

**FISH:** Hibridación *in situ* por fluorescencia

**g:** gramo

**GTG:** Bandas G usando tripsina tiñiendo con Giemsa

**INR:** Instituto Nacional de Rehabilitación

**InV:** Incompetencia velofaríngea

**ISCN:** Sistema Internacional de Nomenclatura de Citogenética Humana

**IVF:** Insuficiencia velo faríngea

**Kb:** Kilobases

**KCL:** Cloruro de potasio

**LCR:** Low Copy Repeat

**LPH:** Labio paladar hendido

**Mb:** Mega bases

**miRNA:** Micro ácido ribonucleico

**mL:** Mililitro

**MLPA:** Amplificación múltiple mediante sondas dependientes de ligamento

**NARH:** Recombinación homóloga no alélica

**PCR:** Reacción en Cadena Polimerasa

**PCR-STR:** Reacción en Cadena Polimerasa- Short Tandem Repeats

**PH:** Paladar hendido

**PHS:** Paladar hendido submucoso

**rmp:** Revoluciones por minuto

**RNA:** Ácido ribonucleico

**SD22q11.2:** Síndrome de Delección 22q11.2

**SNC:** Sistema nervioso central

**SNPs:** Polimorfismo de un solo nucleótido

**SVCF:** Síndrome de velocardiofacial

**TDAH:** Trastorno de déficit de atención e hiperactividad

**TDR:** Región típica de delección

**UB:** Úvula bífida

## RESUMEN

El síndrome de delección 22q11.2 (**SD22q11.2**) presenta un espectro fenotípico con más de 180 datos clínicos reportados, una prevalencia de 1:4000 nacidos vivos en Europa y Norteamérica, 1:6000 en blancos, negros y asiáticos y 1:3800 en hispanos recién nacidos. El **SD22q11.2** se origina *de novo* en el 85% de los casos o se hereda de forma autosómica dominante. Es considerado el síndrome por microdelección más frecuente en los seres humanos, en el 90% de los pacientes el tamaño de la delección es de 3Mb, en un 7% presenta una delección de 1.5 MB y en el 3% una delección atípica.

Se realizó el estudio en el Laboratorio de Citogenética Molecular en el departamento de Medicina Genómica CENIAQ del Instituto Nacional de Rehabilitación (INR) de enero de 2016 a diciembre de 2017. Se estudiaron 34 pacientes con facies sugestiva, anomalías palatinas y probable SD22q11.2. Se tomó una muestra de sangre periférica, se realizó cultivo y cosecha de linfocitos. Se hizo el cariotipo con un patrón de 400-550 bandas GTG el cariotipo resultó normal en todos los pacientes y con la técnica de FISH utilizando primero la sonda TUPLE1 y si resultado negativo se utilizó la sonda N25. En el análisis citogenético molecular con la sonda TUPLE1 se identificaron 13 pacientes con SD22q11.2 y con la sonda N25 ninguno. Se elaboró el reporte de los resultados utilizando la nomenclatura ISCN 2016.

Resultó muy útil emplear la técnica de FISH con sondas comerciales para determinar presencia o ausencia de la microdelección, es importante realizar otras técnicas, como MLPA, CGH-Microarreglos, para determinar la longitud real de la microdelección.

## INTRODUCCIÓN

El síndrome de delección 22q11.2 (SD22q11.2) es un desorden genético que se produce de manera espontánea en el 85% de los casos o se hereda de forma autosómica dominante. Es considerado el síndrome por microdelección más frecuente en los seres humanos con una prevalencia aproximada de 1:4000 nacidos vivos en Europa y Norteamérica, 1:6000 en blancos, negros y asiáticos y 1:3800 en hispanos recién nacidos.

El SD22q11.2 engloba una serie de síndromes descritos previamente, que tienen en común la misma etiología: el síndrome de DiGeorge en un 88% (OMIM#188400), síndrome Velocardiofacial (SVCF) o de Shprintzen en un 81%(OMIM #192430), el síndrome de Takao o Síndrome de Anomalías Conotruncales Faciales (CAFS) en el 84% (OMIM # 217095), y en otros síndromes como el de Cayler (OMIM # 125520) y Sedlackova (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>).

En México solo existe un reporte en la literatura mundial asociándolo a cardiopatía congénita (Marquez-Avila *et al.*, 2015), sin embargo, existen publicaciones de otras partes del mundo que señalan que se puede llegar al diagnóstico del SD22q11.2 por la presencia de características fenotípicas del síndrome y alteraciones de paladar hendido, paladar hendido submucoso y/o insuficiencia velofaríngea que se presentan con un rango de incidencia que va del 30 al 80% (McDonald-McGinn 2016). El Instituto Nacional de Rehabilitación cuenta con los servicios de Foniatría y Genética que en conjunto pueden realizar un diagnóstico clínico tentativo del SD22q11.2 el cual puede ser corroborado en el Laboratorio de Citogenética Molecular con la técnica de FISH utilizando las sondas comerciales de secuencia única TUPLE1 y N25 específicas para el loci 22q11.2 y si el diagnóstico citogenético-molecular es positivo para el SD22q11.2, se proporcione el asesoramiento genético adecuado, además de que permitirá realizar protocolos específicos para el abordaje multidisciplinario de pacientes con el síndrome.

## MARCO TEÓRICO

### ANTECEDENTES HISTÓRICOS-CLÍNICOS

El síndrome de deleción es causado por una microdeleción en el brazo largo (q) del cromosoma 22, en la región 1, banda 1 y sub-banda 2 (McGowan-Jordan, 2016.), Figura 1. Es considerado el síndrome por microdeleción más frecuente en los seres humanos con una prevalencia aproximada de 1:4000 nacidos vivos en Europa y Norteamérica (Coelho, Pavia y Sgardioli 2013; Shprintzen, 2013.) 1:6000 en blancos, negros y asiáticos y 1:3800 en hispanos recién nacidos (Botto, May y Fernhoff 2003.).

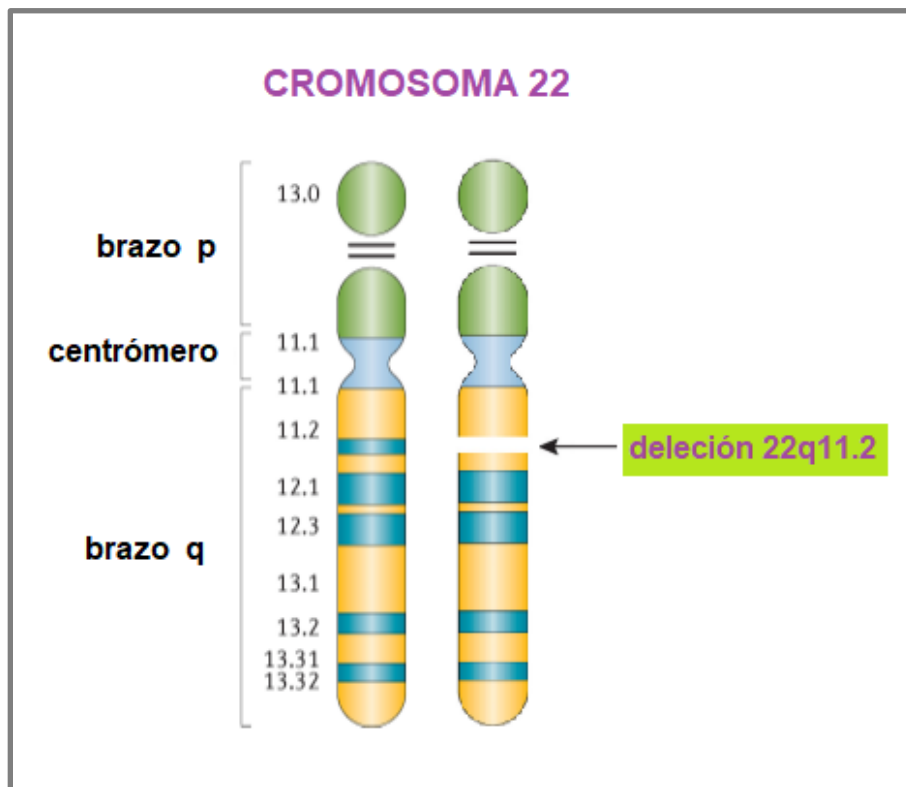


Figura 1 Cromosoma 22, microdeleción q11.2, el primer 1 después de la q corresponde a la región, el segundo 1 a la banda y el 2 después del punto a la sub-banda (McDonald, et al., 2016.)

El SD22q11.2 engloba una serie de síndromes clínicos descritos previamente. En la literatura médica los primeros casos reportados del SD22q11.2 fueron publicados por la doctora Eva Sedlackova, en 1955, donde describe 26 niños de origen checo con voz hipernasal y disminución de los movimientos faciales por un acortamiento del paladar blando y una alteración de la inervación que también afectaba la musculatura facial (Fokstuen, Vrticka y Riegel, 2001). Un segundo artículo publicado en 1967 por la misma doctora Sedlackova describe 22 niños que sumados a los 26 reportados en 1955 hace una serie de 48 casos en los cuales, la principal alteración es la voz y la hiperrifonía, causada por el paladar blando corto y la insuficiencia velofaríngea; estos pacientes también presentaban un dismorfismo facial característico que incluía: fisuras palpebrales estrechas, hipertelorismo, raíz nasal ancha, labio superior corto con filtrum hipoplásico, orejas dismórficas con conductos externos estrechó y alteraciones cardíacas por lo que decidió nombrarlo síndrome de hipoplasia-velo-facial y algunos de sus colegas optaron por denominarlo síndrome de Sedlackova (Shprintzen, 2013).

En el año 1968, el doctor DiGeorge publicó la descripción de la asociación de hipoplasia del timo, hipocalcemia, inmunodeficiencia, hipoparatiroidismo y cardiopatías congénitas en niños, los cuales no sobrevivieron a la edad adulta, por lo cual, la amplia gama de características clínicas no pudo tener un seguimiento y ser observadas, sobre todo, las manifestaciones conductuales y cognitivas. Además, al no vivir lo suficiente las personas afectadas para reproducirse, limitó la capacidad de establecer el tipo de herencia (Gothelf, Frisch y Michaelovsky, 2009; Shprintzen, 2013). El mismo año 1968, el doctor William Strong reportó una familia con varios miembros afectados con cardiopatía, anormalidades cognitivas y dimorfismo facial y logró establecer que el trastorno genético que ahora llamamos SD22q11.2 se trataba de un síndrome de herencia autosómica dominante (Shprintzen, 2013).

En 1969, Cayler describió una serie de casos con facies de llanto asimétrico y anomalías cardíacas conotruncuales, presentó las fotografías de los pacientes, pero al parecer, no eran del todo consistentes con el fenotipo facial del SD22q11.2, pero en un reporte posterior, mostró fotografías de casos con las características faciales clásicas del

SD22q11.2 comparándolas con otras en las que se observaba claramente que los pacientes no tenían el síndrome (Shprintzen, 2005.).

El SD22q11.2 también fue descrito en la literatura japonesa en 1976, Kinouchi y col. (Gothelf, Frisch y Michaelovsky, 2009.) quien observó la asociación de facies asimétrica con anomalías cardíacas conotruncales, hipertelorismo y fisuras palpebrales estrechas (Wilson, Burn y Goodship, 1993) y lo diagnosticó como Síndrome de Anomalías Conotruncales y Faciales (CAFS) o Síndrome de Takao (Robín y Shprintzen 2005; Shprintzen, 2008).

En 1978, Shprintzen y colaboradores, reportaron 12 casos que se caracterizaron por presentar paladar hendido, insuficiencia velar, defectos cardíacos, facies característica y otras anomalías físicas como hernias, hipospadias, malformaciones vasculares y cerebrales además de presentar problemas en el comportamiento como: alteraciones psicológicas, del habla, problemas cognitivos y de aprendizaje. Según él, antes no se habían reportado estos componentes en conjunto como parte de un mismo padecimiento por lo que lo denominó síndrome velocardiofacial (SVCF) también conocido como síndrome de Shprintzen (Robin y Shprintzen, 2005).

Shprintzen y colaboradores, en 1985, reconoce que el síndrome DiGeorge descrito en 1968 por el Dr. Ángel DiGeorge que se asocia a un perfil de aplasia tímica, hipoparatiroidismo, alteraciones inmunitarias, hipocalcemia, defectos cardíacos conotruncales, labio y/o paladar hendido, tiene características clínicas en común con el SVCF descrito por él en 1978. Por esta razón los nombres SVCF/DiGeorge aparecen juntos. Además, ambos síndromes presentan la misma anomalía cromosómica (Shprintzen *et al.*, 1985).

Todavía en el año 2013, Shprintzen trató de explicar que la falta de uniformidad en el nombre del síndrome se debía a que el diagnóstico y publicaciones del síndrome de Cayler, síndrome de Sedlackova y CAFS, dirigían su atención a los componentes del síndrome y no describían las manifestaciones globales del SVCF (Shprintzen, 2013).

Actualmente se conoce que los trastornos descritos por Shprintzen, DiGeorge, Strong, Cayler, Takao y Sedlackova representan el mismo desorden y las diferencias nosológicas no implican diferentes padecimientos. Se sabe que estas patologías son simplemente diferentes nombres para un mismo síndrome que presenta penetrancia y expresión variable (Robin y Shprintzen, 2005) y que la causa genética es una microdelección en la banda q11.2 del cromosoma 22 reportada (Shprintzen *et al.*, 1985) en pacientes con síndrome VCF, DiGeorge, CAFS y Sedlackova.

La historia del hallazgo citogenético de la delección 22q11.2 fue reportada por Scambler en 1992; él relata que en ese año, en Boston nace un bebé con tetralogía de Fallot se extrae sangre para realizar un examen genético y determinar si hay una delección en el cromosoma 22q11.2 y la prueba resulta positiva y se le diagnostica SVCF; en Filadelfia nace un bebé con tetralogía de Fallot, se le realiza la misma prueba genética y se observa la delección del cromosoma 22q11.2 pero, se diagnostica como síndrome de DiGeorge; en Praga, República Checa, otro bebé nace con tetralogía de Fallot, se le realiza el examen genético se observa la delección 22q11.2 y se diagnostica síndrome de Sedlackova, y en Japón nace un bebe con la misma anomalía, se observa la delección 22q11.2 y resulta ser el síndrome de anomalías como truncales faciales (CTAFS) (Shprintzen, 2013).

Los bebés tienen exactamente la misma alteración citogenética, delección del cromosoma 22q11.2, pero al momento de concluir el diagnóstico el nombre del síndrome genético dependió del lugar donde el bebé nació y del médico tratante.

En 1993, Wilson tratando de unificar los criterios clínicos y citogenéticos de la delección 22q11.2 propuso el acrónimo **CATCH-22** por sus siglas en inglés (**C**: defectos cardiacos, **A**: anomalías en cara, **T**: hipoplasia tímica, **C**: paladar hendido, **H**: hipocalcemia y **22** por su ubicación cromosómica). Sin embargo, este término fue rechazado por los genetistas clínicos porque "CATCH-22" es el título de una novela de humor negro de Joseph Heller y es una connotación utilizada para una situación "sin salida", o una circunstancia imposible de solucionar (Robin y Shprintzen, 2005) y les pareció un nombre inadecuado porque generalmente el síndrome puede ser tratado de manera eficaz con un abordaje multidisciplinario, por lo tanto, decidieron seguir nombrándolo SD22q11.2.



## EPIDEMIOLOGÍA

Existen diversos estudios en diferentes poblaciones en los cuales se ha tratado de calcular la incidencia del SD22q11.2. Botto, May y Fernhoff, en el 2003, en un estudio poblacional realizado en Atlanta, buscó la microdelección 22q11.2 en 255 849 niños recién nacidos, identificándola en solo 43 y estableció que la prevalencia general es de 1 en 5950 nacimientos (intervalo de confianza del 95%: 1 en 4417 a 1 en 8224 nacimientos) y concluyó que la prevalencia en blancos, negros y asiáticos era de 1 en 6000 y en hispanos de 1 en 3800 recién nacidos.

Óskarsdóttir, Vujic y Fasth, en 2004, reportó un estudio realizado durante 10 años (1991-2000) en la región Occidental de Suecia en una población de 295 495 niños menores de 16 años, en sus resultados muestra que SD22q11.2 se encontró en 39 niños de la región, lo que corresponde a una prevalencia de 13.2 por 100 000 menores de 16 años de edad y refiere que para la ciudad de Gotemburgo la prevalencia fue mayor, identifico 19 niños con SD22q11.2 con una prevalencia de 23.3 por 100,000 menores de 16 años de edad.

Shprintzen, en 2008, menciona que existen una serie de informes que citan la prevalencia o incidencia de SD22q11.2 con un rango de estimación que va de 1:2000 a 1:7000 pero que estos datos son relativos a la estadística de la población y que dependen en gran medida del método y edad de determinación del síndrome. Debido a que el SD22q11.2 es un trastorno del desarrollo y los hallazgos clínicos no son evidentes o detectables en el nacimiento o en las primeras etapas de la infancia y es probable que al menos una tercera parte de los casos son diagnosticados en etapas del desarrollo más tardías y otros tantos, no se detectan. También menciona que en el caso de Nueva York la frecuencia de SD22q11.2 es de 1 en 2000 recién nacidos y esto lo afirma con base en que aproximadamente por cada 10 000 nacimientos por año un promedio de 5 recién nacidos es diagnosticado con SD22q11.2 y que a partir de esta muestra la incidencia sería de 1 en 2000. Sin embargo, si se tomara en cuenta a los bebés sin manifestaciones del síndrome que representan una cuarta parte de los casos, la verdadera estimación daría la verdadera prevalencia de la población en aproximadamente 1 en 1600 recién nacidos vivos. Grati, en 2015, en colaboración con diferentes instituciones, realizó un

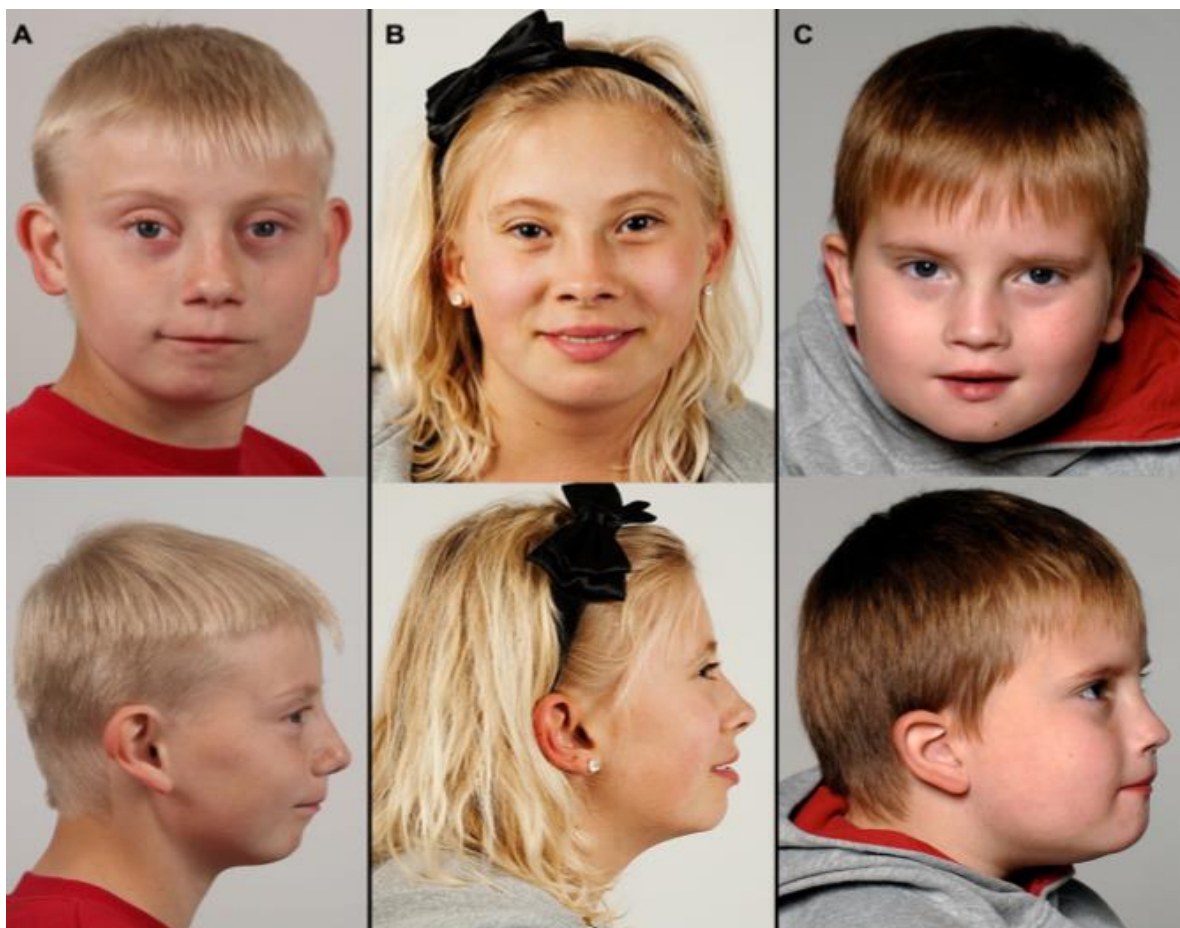
estudio para conocer la prevalencia de microdeleciones y microduplicaciones recurrentes en más de 9 500 embarazos, utilizando la *Prenatal BAC on beads* considerada una tecnología de alto rendimiento y rentable para la rápida detección de microdeleciones y aneuploidias fetales y reportó que en el caso del SD22q11.2 obtuvo una incidencia de 1 en 992 fetos.

En la actualidad el 95% de los pacientes identificados con el SD22q11.2 son *de novo* y del 5% es heredado de forma autosómica dominante. Sin embargo, se espera que la prevalencia de individuos con SD22q11.2 aumente al paso del tiempo especialmente los de tipo hereditario, porque actualmente, el tiempo de sobrevivencia en los humanos ha aumentado y, por lo tanto, las personas con SD22q11.2 sobreviven más allá de su etapa reproductiva. (McDonald-McGinnel *al.*, 2016).

## **ASPECTOS CLÍNICOS**

El SD22q11.2 tiene un aspecto fenotípico muy amplio, hasta la fecha más de 180 características clínicas han sido reportadas (Tabla 1) (Shprintzen, 2005). Sin embargo, ninguno de estos hallazgos ocurre en una frecuencia del 100%, debido a la penetrancia y expresión variable, la interacción de genes, factores ambientales y epigenéticos, que pueden modificar el efecto de un gen específico sobre la expresión fenotípica (Robin y Shprintzen, 2005; Shprintzen, 2005; Hay, 2007). Por lo tanto, no existen signos patognomónicos, pero si hay características cardinales que se han observado con mayor frecuencia en pacientes con SD22q11.2, evaluados en diferentes series de casos que conducen a la sospecha del síndrome, siendo las más comunes: las dismorfias faciales presentes en el 60% de los pacientes, incluyen: facies alargada, desplazamiento lateral del canto interno, fisuras palpebrales estrechas, hipertelorismo, párpados gruesos, nariz bulbosa o prominente, con raíz nasal cuadrada e hipoplasia de alas nasales. Boca pequeña, filtrum corto, retrognatía, micrognatía, hipoplasia malar, pabellones auriculares de baja implantación, dismórficos con fusión de hélix-antihélix. Se observa con menor frecuencia asimetría facial. Estas anomalías faciales no suelen ser muy evidentes en el momento del nacimiento, se manifiestan en la primera etapa de la niñez.

Facies típicas en el SD22q11.2 que se muestra en la Figura 2, los pacientes A y B se observan hélices prominentes, mientras que el paciente C presenta una hélice hipoplásica y la otra hélice prominente. Las fotos de los pacientes fueron publicadas con el consentimiento de sus familias (Christina *et al.*, 2013).



*Figura 2 Las características comunes son fisuras palpebrales ascendentes, puente nasal alto y filtrum liso (Christina et al., 2013)*

Las cardiopatías, presentes en 85-95% de los pacientes con SD22q11.2, causadas por una disfunción en las células de la cresta neural y la capa anterior del corazón, provoca anomalías conotruncales, las más comunes son: la comunicación intraventricular (62%), el arco aórtico derecho (52%), el arco aórtico interrumpido tipo B (30-50%), anomalías de la arteria carótida interna (25%), el tronco arterioso persistente (24%) y la tetralogía de Fallot (21%) (Shprintzen *et al.*, 1978; Campo, García y Quero 1996; Shprintzen, 2000; Digilio *et al.*, 2005; Shprintzen, 2008; Butts, 2009; Márquez *et al.*, 2012; Márquez, Vizcaino y García, 2015).

Las alteraciones palatinas se presentan en un rango de 58-60%. En 1999, Swillen y colaboradores, reportaron en pacientes con SD22q11.2 una incidencia baja de 8% y Thomas, en 1998, reportó una incidencia tan alta como 85-98% pero esto dependía del tipo de estudio realizado para la comprobación. Actualmente, se reporta que el paladar hendido es poco frecuente (18%) y la insuficiencia velofaríngea (IVF) es más común, (rango de incidencia 30 al 80%) esta se produce por problemas estructurales y se caracteriza por el cierre incompleto del velo faríngeo, paladar corto o fisura submucosa (44%), la cual puede presentarse como úvula bífida o fisura submucosa oculta. Además de las anomalías velares, la alteración palatina también puede estar asociada a problemas funcionales como la hipotonía del músculo faríngeo y las anomalías del nervio craneal, lo cual produce dificultades en la alimentación con reflujo nasal, con y sin vómito. Además, las dificultades del habla son características e incluyen problemas de articulación, lenguaje, resonancia y voz. Para el diagnóstico de las alteraciones palatinas se requiere de una evaluación especializada en la que se incluye la realización de una nasoendoscopia (Jiramongkolchai, Kumar y Chinnadurai, 2016).

Las alteraciones en el neurodesarrollo de los pacientes con SD22q11.2 tienen un compromiso global que implica habilidades motoras, cognición y lenguaje; por lo cual, la intervención terapéutica debe ser individualizada tanto en áreas escolares, habilidades sociales y en la vida diaria. El coeficiente intelectual (CI), se reporta como más bajo que lo esperado para su edad cronológica en comparación con hermanos no afectados (en el rango limítrofe o por debajo de lo normal) y hay evidencia de una “caída del CI” desde la edad pre-escolar a la edad escolar hasta de 10 puntos. Estos niños tienen mayor

compromiso en las habilidades no verbales, por lo que generalmente desarrollan un lenguaje receptivo superior, existen algunas diferencias en la función cognitiva entre niños y niñas, los niños tienden a estar más afectados (Thorndike, Hagen y Sattler, 1986; Donna, Tony y Wendy 2007).

En las alteraciones del aprendizaje y educación, hay un amplio rango de capacidades en la población de pacientes con SD22q11.2 y es fundamental que se evalúe individualmente a cada niño. Y aunque algunos niños se benefician de acudir a un colegio convencional, la mayoría necesita apoyo educativo especial. La mayor parte de los niños con SD22q11.2 tienden a tener dificultades en áreas similares, pero existe una variabilidad significativa en la presentación y gravedad de los síntomas. Las dificultades que un niño con SD22q11.2 presenta deben evaluarse formalmente a través de pruebas selectivas diseñadas para tratar áreas específicas del conocimiento, que son importantes para identificar fortalezas, debilidades y comprender la complejidad de su perfil de aprendizaje. (Donna, Tony y Wendy 2007). Cita

La intervención temprana en su educación, es esencial para garantizar que los niños alcancen su potencial - académico (Allgrove *et al.*, 2014). Kok y Solman (1995) descubrieron que niños con SD22q11.2 tienden a tener un estilo de aprendizaje ordenado y analítico, prefieren explicaciones lógicas e instrucciones específicas en lugar de un método imaginativo. Los niños también prefieren centrarse en una cosa a la vez y parecen responder bien a los programas informáticos interactivos. Al comenzar su educación escolar, los niños con SD22q11.2 tienden a ser no asertivos pero obedientes, pueden tener dificultad para pedir ayuda y tienden a esperar instrucciones. Es habitual que estos niños no se identifiquen así mismos hasta la educación secundaria, lo que sugiere que tuvieron que luchar para lograr resultados académicos satisfactorios. La frustración y el fracaso en el aprendizaje pueden provocar una falta de confianza y autoestima baja que puede afectar a su motivación. En estos niños suelen observarse problemas de comunicación social. Es habitual que se describa a estos niños pequeños como tímidos o demasiado amigables y algunos muestran síntomas de autismo (Kates, 2006). Durante su adolescencia, los problemas con sus compañeros pueden hacerse más evidentes y

frecuentes porque estos jóvenes tienen dificultades para interpretar el humor, el lenguaje abstracto y la comunicación no verbal (Swillen, 1999).

En las habilidades cognitivas, en las matemáticas es donde los niños con SD22q11.2 tienen más problemas para aprender, debido a la dificultad que presentan para resolver tareas visuales y espaciales, déficit en la memoria de trabajo y deterioro de funciones de procesamiento numérico que son fundamentales en la mayor parte de las tareas matemáticas (Donna, 2007). En los niños con SD22q11.2 la memoria puede ser una fortaleza o una debilidad. La memoria mecánica verbal, que es la capacidad para repetir después de un espacio de tiempo una lista de componentes presentados de forma verbal es una fortaleza, pero las tareas de memoria compleja son una dificultad, les cuesta recordar información verbal larga contenida en secuencias largas como direcciones, frases o historia. También presentan dificultad para recordar formas espaciales visuales completas, como la localización de puntos en una cuadrícula. Pero tienen la capacidad de aprender y retener información verbal que han aprendido a través de la experiencia como definiciones de palabras (Woodin y Moss, 2000).

Los problemas de lenguaje se presentan en el 90% de los casos: la hiperrifonía que es el aumento de la resonancia nasal durante el habla y puede presentarse de manera leve, moderada o severa; ocurre aproximadamente en 75% de los individuos con el SD22q11.2, esta pronunciación hipernasal se debe a la turbulencia del aire a través de la nariz durante la articulación de fonemas que requieren un aumento en la presión del aire, este tipo de alteraciones propician un retraso en el desarrollo del lenguaje, sobre todo en el lenguaje expresivo (Ysunza y Pamplona 2008; Widdershoven, Beemer y Kon, 2008). También se ha observado que, si el lenguaje verbal se retrasa, la comprensión del mismo puede ser normal a través del lenguaje receptivo, cuando se compara con los niveles relacionados a la edad y la disfunción velofaríngea con o sin paladar hendido. Los niños con **SD22q11.2** pueden desarrollar lenguaje y gramática compleja con lentitud, en algunos casos utilizan una serie de palabras limitadas y siguen hablando de forma básica. Pueden tener una mejor capacidad verbal que la no verbal con un lenguaje muy expresivo, por lo que se puede concluir que tienen mayor capacidad para el lenguaje

expresivo que para el receptivo, que suele requerir un pensamiento más complejo y abstracto (Glaser, 2002; Donna, 2007).

La hipoacusia también puede presentarse en niños con SD22q11.2, la más frecuente es de tipo conductivo y está relacionada con episodios crónicos de otitis media que se presenta en un 75% de los pacientes, aproximadamente el 15% de los pacientes tienen algún grado de hipoacusia neurosensorial, la mayoría unilateral y leve (Digilio *et al.*, 2005).

La hipocalcemia aparece en el 30-60% de los casos con SD22q11.2, es común en los neonatos o generalmente se presenta durante la edad escolar. Se relaciona con hipoparatiroidismo debido a la ausencia o falta de desarrollo de las glándulas paratiroideas, lo que conduce a la disminución de calcio en la sangre. La hipocalcemia puede causar temblores, convulsiones y arritmia. El tratamiento con suplementos de calcio y vitamina D conduce a la normalización de los niveles de calcio en sangre (Digilio *et al.*, 2005; Bassett, McDonald-McGinn y Devriendt, 2011).

La inmunodeficiencia que afecta a los pacientes con SD22q11.2 es relativamente leve, solo el 1% de los casos puede presentar inmunodeficiencia grave que requiera un trasplante de timo. La inmunodeficiencia en el SD22q11.2 es causada por la mala formación de tejido tímico y la producción alterada de células T, la anormalidad inmunológica más común en los pacientes con SD22q11.2 es la linfopenia y en una minoría la deficiencia funcional de los linfocitos T y aunque el espectro de inmunocompromiso es amplio y los niños tienen un riesgo significativo de infección por los efectos de enfermedades del corazón y el paladar hendido, el riesgo adicional asociado con inmunodeficiencia no es un factor crítico en el manejo de los pacientes. Además, generalmente el número de linfocitos T aumenta con el tiempo y la función de las células no se ve alterada (Digilio *et al.*, 2005).

Los individuos con el SD22q11.2 tienen un mayor riesgo (25%) de desarrollar alteraciones psiquiátricas (Shprintzen *et al.*, 1992; Murphy, Jones y Owen, 1999; Vorstman *et al.*, 2006; Bassett, McDonald-McGinn y Devriendt, 2011; Schneider *et al.*,

2014), que representan el 0.5-1% de los pacientes con esquizofrenia en la población general (Karayiorgou, Simon y Gogos, 2010; McDonald-McGinn *et al.*, 2016). En niños y adolescentes con **SD22q11.2**, tienen una serie de trastornos neurológicos y psiquiátricos incluidos, déficit de atención con hiperactividad (TDAH), trastornos de ansiedad y trastornos del espectro autista (Schneider *et al.*, 2014). Diversos autores han propuesto que el comportamiento comunicativo-social y déficit de atención, observados en niños con SD22q11.2 pueden ser los primeros síntomas prodrómicos de la esquizofrenia (Vorstman *et al.*, 2006; Eliez, 2007; Crespi y Badcock 2008; Karayiorgou, Simon y Gogos, 2010; Fiksinski, 2017).



**Tabla 1. Datos clínicos asociados con delección del cromosoma 22q11.2 (Nathaniel and Shprintzen, 2005).**

Hallazgos Craneofaciales/orales	30. Distopia orbital vertical leve
1. Paladar hendido submucoso u oculto	31. Inflamación del párpado superior
2. Retrognatia	Hallazgos óticos
3. Platibasia	32. Hélix antevertido
4. Facies de llanto asimétrico en la infancia	33. Lóbulo adherido
5. Estructura facial asimétrica	34. Oídos en forma de copa
6. Función facial asimétrica	35. Microtia
7. Exceso maxilar vertical (cara larga)	36. Asimetría ótica leve
8. Perfil facial estrecho	37. Otitis media frecuente
9. Diente ausente congénito (uno o más)	38. Hipoacusia conductiva leve
10. Dientes pequeños	39. Hipoacusia neurosensorial (unilateral frecuentemente)
11. Hipoplasia del esmalte	40. Hoyuelos óticos (poco común)
12. Facies hipotónica	41. Conducto auditivo externo estrecho
13. Comisuras orales deprimidas	Hallazgos nasales
14. Labio hendido (poco común)	42. Puente nasal Prominente
15. Microcefalia	43. Punta nasal Bulbosa
16. Fosas craneal posterior pequeña	44. Domos nasales separados levemente
Hallazgos Oculares	45. Alas nasales estrechas / fosas nasales estrechas
17. Vasos retinianos tortuosos	46. Pasajes nasales estrechos
18. Congestión suborbital	Hallazgos cardiovasculares
19. Estrabismo	47. Defectos septales ventriculares
20. Fisuras palpebrales cercanas	48. Defectos septales auriculares
21. Embriotoxón posterior	49. Atresia o estenosis pulmonar
22. Disco óptico pequeño	50. Teratología de Fallot
23. Nervios corneales prominentes	51. Aorta derecha
24. Cataratas	52. Tronco arterioso
25. Nódulos en iris	53. Conducto arterioso persistente
26. Coloboma en iris (poco común)	54. Interrupción de aorta, tipo B
27. Coloboma en retina (poco común)	55. Coartación de aorta
28. Microftalmos	
29. Hipertelorismo orbitario leve	

56. Anomalías de la válvula aórtica
57. Arteria subclavia aberrante
58. Anillo vascular
59. Origen anómalo de la arteria carótida
60. Trasposición de los grandes vasos
61. Atresia tricuspídea
Hallazgos de anomalías vasculares
62. Desplazamiento medial de la arteria carótida interna
63. Carótida interna tortuosa
64. Anomalía de la vena yugular
65. Ausencia de la arteria carótida interna (unilateral)
66. Ausencia de arteria vertebral (unilateral)
67. Bifurcación baja de la carótida común
68. Arterias vertebrales tortuosas
69. Fenómeno de Reynaud
70. Venas pequeñas
71. Anomalías del polígono de Willis
Hallazgos neurológicos, cerebrales o de RMC
72. Quistes periventriculares
73. Vermis cerebeloso pequeño
74. Hipoplasia / disgenesia cerebelosa
75. Hiperdensidades de la sustancia blanca
76. Hipotonía generalizada
77. Ataxia cerebelosa
78. Convulsiones
79. Eventos isquémicos cerebrales
80. Espina bífida / meningocele
81. Retraso del desarrollo leve
82. Cisura de Silvio alargada
Hallazgo de vía aérea

83. Obstrucción de la vía aérea superior en la infancia
84. Ausencia o Hipoplasia de adenoides
85. Red laríngea
86. Vía aérea faríngea larga
87. Laringomalacia
88. Hiperplasia aritenoides
89. Hipotonía faríngea
90. Movimiento faríngeo asimétrico
91. Músculo faríngeo delgado
92. Parálisis unilateral de las cuerdas vocales
93. Enfermedad reactiva de la vía aérea
94. Asma
Hallazgos abdominales (renal, intestinal)
95. Hipoplasia / aplasia renal
96. Riñón quístico
97. Hernias inguinales
98. Hernia umbilical
99. Malrotación intestinal
100. Diátesis de rectos
101. Hernia diafragmática (poco común)
102. Enfermedad de Hirschsprung
Hallazgos en extremidades
103. Manos y pies pequeños
104. Dedos en forma cónica
105. Uñas cortas
106. Hiperqueratosis de manos y pies
107. Morfea
108. Contracturas
109. Pulgares trifalángicos
110. Polidactilia (poco común)
111. Sindáctila de tejidos blandos
Hallazgos de problemas en la infancia

112.	Falla de medro, dificultad para alimentación
113.	Emesis nasal
114.	Reflujo gastroesofágico
115.	Irritabilidad
116.	Constipación crónica
Genitourinario	
117.	Hipospadias
118.	Criptorquidia
119.	Reflujo vésicoureteral
Lenguaje / Habla	
120.	Habla nasal severa
121.	Impedimento articular severo
122.	Discapacidad del lenguaje (retraso leve)
123.	Insuficiencia velofaríngea (usualmente severa)
124.	Voz aguda
125.	Ronquera
Cognitivo / Aprendizaje	
126.	Discapacidad de aprendizaje (conceptualización matemática, comprensión de lectura)
127.	Pensamiento concreto, dificultad de abstracción
128.	Caída del coeficiente intelectual durante años escolares
129.	Inteligencia normal limítrofe
130.	Discapacidad mental leve
131.	Síndrome de déficit de atención e hiperactividad
Miscelánea	
132.	Desaturación de oxígeno espontánea sin apnea

133.	Trombocitopenia, enfermedad de Bernard-Soulier
134.	Artritis reumatoide juvenil
135.	Poca regulación de la temperatura corporal
Psiquiátricos / Psicológicos	
136.	Alteración afectiva bipolar
137.	Psicosis y enfermedad maníaco-depresiva
138.	Alteración de humor cíclico rápido o ultrarápido
139.	Alteración del estado de ánimo
140.	Depresión
141.	Hipomanía
142.	Alteración esquizoafectiva
143.	Esquizofrenia
144.	Impulsividad
145.	Afecto plano
146.	Distimia
147.	Ciclotimia
148.	Inmadurez social
149.	Alteración obsesivo-compulsivo
150.	Alteración de ansiedad generalizada
151.	Fobias
152.	Respuesta de sobresalto severa
Inmunológico	
153.	Infección de vías respiratorias superiores frecuentes
154.	Infecciones de vías respiratorias inferiores frecuentes

155.	Población de células T reducida
156.	Hormona tiroidea reducida
Endocrinológicos	
Hipocalcemia	
157.	Hipoparatiroidismo
158.	Hipotiroidismo
159.	Talla baja relativa, deficiencia de crecimiento leve
160.	Hipoplasia / Aplasia de timo
161.	Hipófisis pequeña (raro)
Musculo-esquelético	
162.	Escoliosis
163.	Espina bífida oculta
164.	Hemivertebra
165.	Vertebras en mariposa
166.	Fusión vertebral (usualmente cervical)
167.	Osteopenia
168.	Anomalía de Sprengel
169.	Pie equinovaro
170.	Músculos esqueléticos pequeños

171.	Dislocaciones articulares
172.	Dolor de extremidades inferiores crónico
173.	Pie plano
174.	Hiperlaxitud de articulaciones
175.	Fusión costal
176.	Costilla accesoria
177.	Cordón umbilical con nudos verdaderos o falsos
178.	Siringomielia
Dermatológico	
179.	Abundante cuero cabelludo
180.	Piel de apariencia delgada
Asociaciones o secuencias secundarias	
181.	Secuencia Robin
182.	Secuencia DiGeorge
183.	Secuencia Potter
184.	Asociación CHARGE
185.	Holoprosencefalia (casi único)

Todas estas alteraciones multisistémicas se producen por la microdelección 22q11.2 que ocurre durante la meiosis cuando los cromosomas se alinean y unen con fuerza al ADN con alta homología pero durante la recombinación se produce un desequilibrio al momento del entrecruzamiento de la información genética del padre y de la madre provocan un error en el alineamiento de los cromosomas y la región cromosómica afectada no queda copiada en el cromosoma 22 del óvulo o del espermatozoide y cuando hay fecundación, el óvulo fecundado tendrá un cromosoma 22 normal y un cromosoma 22 con una microdelección en la región q11.2 (Nogueira, Hacker y Bellucco, 2007).

## TIPO DE HERENCIA

El SD22q11.2 tiene un patrón de herencia autosómico dominante con expresividad variable, la deleción en uno de los cromosomas 22 del par que tiene cada célula es suficiente para causar la afección, esto sucede en aproximadamente el 10% de los casos, cuando un portador de la deleción del cromosoma 22 la hereda de un progenitor afectado, se denomina herencia autosómica dominante porque la mutación del gen está localizada en un cromosoma autosómico, en este caso en el cromosoma 22 que puede ser heterocigoto u homocigoto para la enfermedad y se expresa de la misma manera que un gen dominante. Por lo tanto, el sujeto tiene una probabilidad del 50% de transmitir la anomalía cromosómica a cada uno de sus hijos (Olivia *et al.*, 2004; Mellano, 2004). El 90% de los casos restantes de SD22q11.2 no son heredados, son ocasionado por una deleción *de novo* que ocurre por un evento al azar durante la formación de células reproductivas o en el desarrollo fetal temprano. La frecuencia de la deleción 22q11.2 *de novo* nos indica que esta región es altamente mutable con una tasa de mutación de  $2.5 \times 10^{-4}$  aproximadamente (Delgado, Gala y Camposina, 2012).

Diversas investigaciones han tratado de determinar el origen parental de la deleción 22q11.2 *de novo* indicando como factores de riesgo genético: la alteración en la frecuencia de de recombinación homóloga no alélica (NARH), la edad materna promedio al momento de la concepción y el porcentaje de recombinación meiótico en la región 22q11.2 de los progenitores.

En los estudios realizados para comprender el mecanismo funcional de las NAHR se observó que existía diferencia en su frecuencia durante la gametogénesis masculina y femenina. (Palau *et al.*, 1993; Lopes *et al.*, 1997; Lupski, 1998). Las diferencias en los reordenamientos originados vía materna y paterna podrían ser intrínsecas en las NAHR o el reflejo de una inclinación de los alelos reordenados en las líneas germinales o una combinación de ambos, aunque, las modificaciones epigenéticas durante el desarrollo de las células germinales podrían contribuir a ambos procesos. Sin embargo, las diferencias observadas entre reordenamientos masculinos y femeninos, no afectan todos los loci de las NAHR en la misma proporción (Potocki *et al.*, 2007).

El hecho de que en el SD22q11.2 la transmisión materna parece ser preferencial ha sido reportado desde 1996 cuando Leana-Cox realizó una revisión bibliográfica, (Shprintzen, 1981; Rohn *et al.*, 1984; Keppen *et al.*, 1988; Wilson *et al.*, 1992 y 1993; Desmaze *et al.*, 1993; Kelly *et al.*, 1993; McLean *et al.*, 1993; Holder *et al.*, 1993; Hajianpour, Lamb y Coyle, 1994; Puder *et al.*, 1994; Piussan *et al.*, 1994; Raynan *et al.*, 1994; Matsuoka *et al.*, 1994; Lindsay *et al.*, 1995a y b; Demczuk *et al.*, 1995a y b) encontrando que en 42 familias con la delección de 22q11.2 *de novo* era heredada vía materna, por lo que presentaron dos hipótesis para explicar este hallazgo: 1) disminución del éxito reproductivo o fertilidad de portadores de delección masculina, o 2) expresión diferencial de genes dependientes del origen parental, (impronta genómica), los hijos de portadores masculinos de la delección se ven menos afectados que los de descendencia de portadoras femeninas, pero esto no fue comprobado. Los datos completos disponibles de 21 familias que se presentaron en la revisión de Leana-Cox, indicaron que los portadores masculinos de la delección 22q11.2 no tenían una fertilidad reducida en comparación con las portadoras femeninas, ya que los 5 padres tenían 17 hijos (3.4 hijos/as), mientras que las 16 madres tenían 34 niños (2.1 hijos/as) con una proporción de sexo de los descendientes de 25 varones y 24 féminas, y una proporción de muertes neonatales o infantiles de 5 varones y 7 mujeres lo que los llevó a concluir que la gravedad en la expresión fenotípica es comparable para ambos sexos. Además, los padres con delección 22q11.2 tenían la misma probabilidad de tener un hijo con un fenotipo característico que las madres, ya que 4 de 17 descendientes con la delección transmitida por vía paterna (24%) murieron al igual que 8 de 33 descendientes que heredaron la delección por vía materna (24%). Por lo que con estos datos ellos propusieron que la impronta genómica no interviene en la variabilidad fenotípica observada en personas con SD22q11.2. Además, ya existían informes de individuos normales con disomía uniparental para el cromosoma 22 que mostraban la ausencia de genes en el cromosoma 22 (Palmer, Schwartz y Hodes, 1980; Piussan *et al.*, 1994).

Lyttle (1993) también reportó la hipótesis de que una portadora de la delección 22q11.2 tiene mayor probabilidad de transmitir la microdelección a sus hijos "impulso meiótico" (específico del sexo). El impulso meiótico se refiere a que un cromosoma tiene la ventaja para orientarse en el huso meiótico sobre su cromosoma homólogo y esto ocurre preferentemente en las mujeres. Pero Matsuoka y colaboradores (1994) señalaron que es probable que no se genere una mayor frecuencia de delecciones 22q11.2 transmitidas por la madre, ya que generalmente las madres

son las que acompañan a sus hijos a las visitas médicas y, por lo tanto, los genetistas pueden observar si en ellas existen rasgos fenotípicos sutiles para el SD22q11.2, para que se les realice la prueba citogenética; ellos realizaron el estudio citogenético a 12 madres de pacientes con la SD22q11.2 y observaron que solo cuatro tenían la microdelección 22q11.2 lo cual no era significativo para asegurar que la microdelección era transmitida con mayor frecuencia por vía materna. Por lo que concluyeron que se necesitaba una evaluación completa de las familias para determinar las bases de la verdadera vía de transmisión de la delección 22q11.2. Corregido

Delio, en el 2013, también sugirió que existe un mayor riesgo de adquirir la delección 22q11.2 de novo vía materna. Ella realizó un análisis de haplotipos mediante el uso de marcadores micro satelitales y SNPs, genotipo un total de 389 muestras de ADN de familias afectadas con SD22q11.2. Un total de 219 (56%) individuos con delección 22q11 de novo fueron de origen materno y 170 (44%) de origen paterno, utilizando la prueba binominal de proporciones iguales observaron una diferencia estadísticamente significativa para el origen materno ( $p = 0,0151$ ), además al comparar sus resultados con estudios previos, uno reportaba que en 810 pacientes con SD22q11.2, 465 (57%) eran de origen materno y 345 (43%) de origen paterno, lo que suponía una relación de 1.35 o 35% de aumento en el origen materno comparado con el paterno ( $p = 0.000028$ ). Otro estudio de 1892 probándoos con la delección de novo 22q11.2, donde la edad materna promedio en el momento de la concepción fue de 29.5 años, datos similares a los observados en un estudio realizado en la población general de 11 países de interés, se observó que la tasa de recombinación femenina en la región 22q11.2 fue aproximadamente de 1.6 a 1.7 veces mayor en el sexo femenino que en el masculino (Delio Guo y McDonald-McGinn, 2013).

## **BASES CITOGENÉTICAS Y MOLECULARES**

En citogenética una deleción es la pérdida de regiones, bandas o sub-bandas en un cromosoma; generalmente el cromosoma homólogo es normal, por lo que la deleción es “heterocigota” y es equivalente a una monosomía parcial de ese cromosoma. El estudio de alteraciones cromosómicas de tipo estructural entre ellas las deleciones, tuvo un gran avance con la implementación de técnicas como el bandeado de alta resolución y en particular con la hibridación *in situ* por fluorescencia (FISH) que ha permitido observar microdeleciones denominadas así, por su tamaño que es menor de 4MB, y no pueden ser observadas con un estudio de bandas GTG convencional. Una microdeleción puede ser causada por la pérdida de un par de nucleótidos hasta por un grupo de decenas de genes lo que ocasiona alteraciones fenotípicas y/o multisistémicas. El origen de las microdeleciones es diverso, pero se considera que la mayoría se origina durante la meiosis de un progenitor, por un entrecruzamiento de información genética anormal (Moore Cm & Best RG, 2001).

La secuenciación del cromosoma 22 concluyó en 1999 (Bueno, Pérez y Bueno, 2000) y se observó en el brazo largo (q) un total de ocho bloques compuestos por una secuencia específica de ADN, con una longitud de 240Kb y que comparten una identidad de secuencia del 99,7% denominados segmentos de duplicación, (Kaplan *et al.*, 1987; Nogueira, Hacker y Bellucco, 2007) o copias de baja repetición del cromosoma “LCR” (low copy repeat, por sus siglas en inglés). Los LCRs pueden contener genes, fragmentos de genes, pseudogenes, secuencias retrovirales endógenas u otros fragmentos parálogos. La presencia de LCRs confiere inestabilidad a la molécula de ADN y predispone a las regiones que los contienen a eventos de recombinación no alélica entre cromosomas homólogos (NARH). Para que un evento de recombinación se produzca es necesario que exista un segmento compartido de homología provisto por un sustrato. En los cromosomas, los LCRs actúan como sustratos de eventos NAHR y los que presentan la misma orientación, dan como resultado deleciones y/o duplicaciones.

A lo largo del cromosoma 22 se observaron 8 LCRs denominados LCR22-1 hasta LCR22-8 o referidos alternativamente por designación alfabética de la A a la H. En el locus 22q11.2 que es el de nuestro interés se encuentran cuatro de estos LCRs, estos segmentos que son



etiquetados como LCR22A, LCR22B, LCR22C y LCR22D, (Figura 3.) predisponen a rearrreglos cromosómicos por la alta similitud entre sus secuencias de ADN, conduciendo a un entrecruzamiento desigual entre los dos segmentos flanqueados por los LCR provocando una alineación incorrecta en la meiosis y/o mitosis generando una duplicación o una deleción cromosómica (Shay *et al.*, 2008).

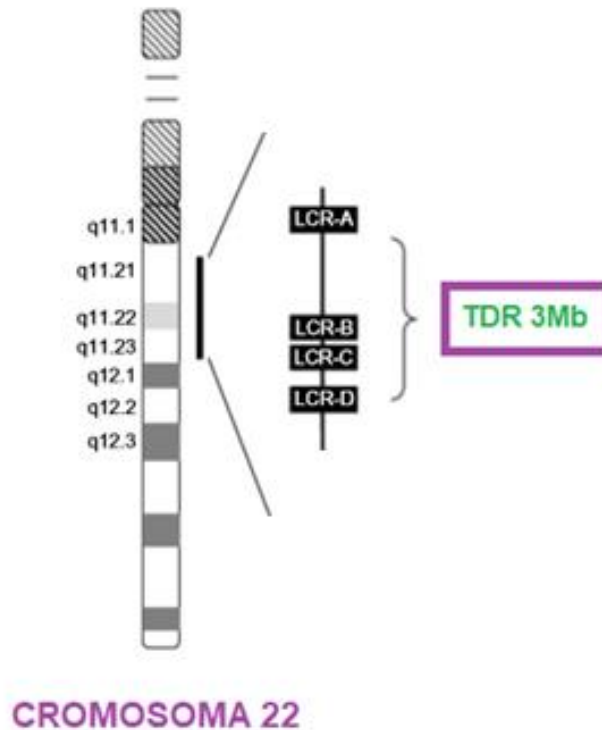


Figura 3. Esquema del cromosoma 22 indicando la posición de los LCRs en el locus q11.2 (Hacıhamdioğlu, 2015).

La mala alineación entre secuencias homólogas puede llevarse a cabo mediante diferentes mecanismos de recombinación como:

- A) Recombinación intracromátida:** ocurre entre genes que se encuentra en la misma cromátida, en este procedimiento se establece una estructura intermedia en forma de *loop* al enfrentarse LCRs A-C y B-D, seguido de la escisión o deleción del *loop*. El resultado es una cromátida normal y una cromátida que ha perdido un fragmento que queda en forma de anillo, este material será reabsorbido (Carrozzo *et al.*, 1997; Robinson, Dutly y Nicholls, 1998) Figura 4.

**B) Recombinación intercromátida**, ocurre entre genes que se encuentran en la misma dirección y en el mismo cromosoma, se origina a partir del entrecruzamiento e intercambio de material genético durante la profase I de la meiosis. El desplazamiento de una de las cromátida enfrenta LCRs homólogos de la otra crátida, que al intercambiar la información generan una deleción y una duplicación la cual es incompatible embriológicamente, por lo tanto, la deleción y la duplicación no ocurren con la misma frecuencia. Se cree que esta podría ser una de las formas en la que ocurre la microdeleción en el SD22q11.2, al observar que en los puntos de rotura de los LCRs no se lleva a cabo recombinación (Robinson, Dutly y Nicholls,1998). Figura 4.

**C) Recombinación intercromosomal**, ocurre entre los genes que se encuentra en cromosomas homólogos, se origina a partir de segregación independiente: la segregación al azar de los cromosomas durante el anafase I de la meiosis, en este procedimiento la alineación incorrecta entre los LCRs de los cromosomas homólogos, el entrecruzamiento genera dos productos recíprocos, duplicación o deleción, la duplicación es un evento citogenético raro, pero ocurre con una incidencia baja en recién nacidos vivos, en cambio la deleción es más frecuente y en caso del SD22q11.2 es el síndrome por microdeleción más frecuente en recién nacidos vivos, se cree que este podría ser el otro mecanismo por lo que ocurren las microdeleciones en uno de los cromosomas del par 22 (Robinson, Dutly y Nicholls, 1998, Christian *et al.*, 1999). Figura 4.

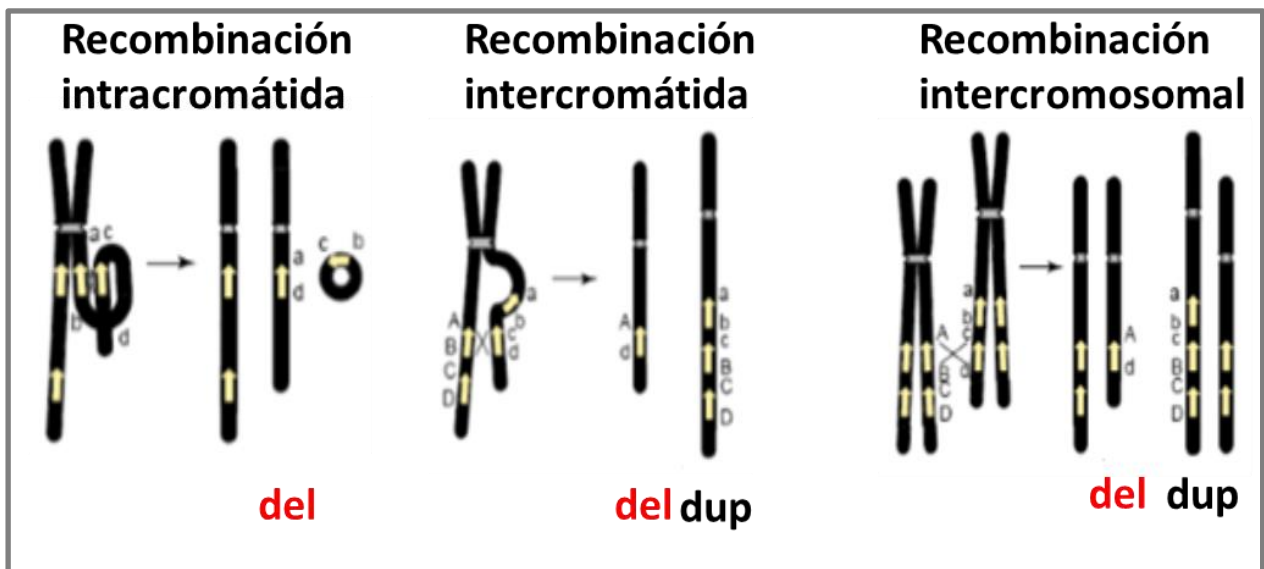


Figura 4. Reordenamientos genómicos resultantes de la recombinación entre LCRs. (Robinson, Dutly y Nicholls, 1998, Christian *et al.*, 1999)

El mecanismo subyacente a la deleción también conocida como recombinación homóloga no alélica (NAHR) se caracteriza por presentar en el 90% de los casos del SD22q11.2 una deleción de 3Mb que contiene alrededor de 46 genes, en el 7% una deleción de 1.5Mb (Figura 5) y en el 3% de los casos una deleción atípica. Alrededor del 93% de los casos son mutaciones de novo y el 7% de los casos se hereda de forma autosómica dominante, por lo tanto, la deleción de un progenitor y la descendencia de los individuos afectados tiene un 50% de probabilidades de heredar el SD22q11.2.

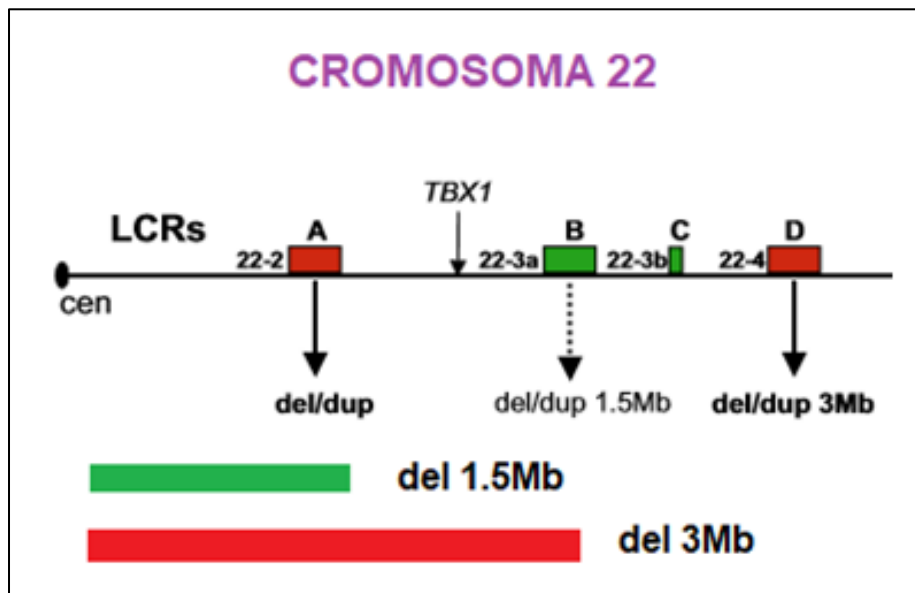


Figura 5. Representación esquemática del mapa físico de 22q11.2, que muestra las ubicaciones de los LCR22. La barra verde representa la deleción de 1.5Mb y sus puntos de ruptura de LCRA-LCRB y la barra roja representa la deleción de 3Mb y sus puntos de ruptura LCRA-LCRD (Portnoi, 2009).

## **PRUEBAS CITOGÉNÉTICAS Y MOLECULARES PARA EL DIAGNÓSTICO DE SD22q11.2.**

Para el diagnóstico de un síndrome genético con probable cromosopatía se realizan estudios citogenéticos convencionales o moleculares con el fin de identificar las bases cromosómicas. Aunque el estudio de cariotipo convencional con un patrón de bandas GTG de 400 a 850 por complemento haploide, permite la identificación exacta de cada cromosoma, regiones cromosómicas y pequeñas alteraciones con un tamaño de 3-5Mb, existen alteraciones citogenéticas a nivel de sub-bandas denominadas micro alteraciones que no son observadas cuando se utiliza este cariotipo con la técnica convencional, por lo que se requiere realizar un cariotipo de alta resolución.

El cariotipo de alta resolución (Yunis, Sawyer y Ball, 1978) se basa en detener a las células en la profase o prometafase de la división celular, para lograrlo se emplean métodos de sincronización, el más utilizado es el bloqueo de la fase S por medio de un exceso de timidina o metotrexate por determinado tiempo, posteriormente se desbloquea cambiando el medio con el agente bloqueador por medio de cultivo nuevo. Al igual que en el cariotipo convencional se cosecha y se realizan laminillas para bandas GTG y lo que se observa al microscopio son cromosomas más alargados, en los que es posible observar un patrón de 800 hasta 1,200 bandas por metafase y detectar algunas microdeleciones o microduplicaciones (Oliva *et al.*, 2004).

Scambler y Colaboradores, en 1992, detectaron por primera vez la microdelección en el cromosoma 22q11.2 en un cariotipo de alta resolución, no obstante, al repetir nuevamente la técnica observó que no en todas las mitosis se observaba la microdelección, por lo cual propuso el estudio molecular para la confirmación de la microdelección en el cromosoma 22. Driscoll (1992) también reportó que el análisis citogenético con bandas de alta resolución solo permitía detectar deleciones intersticiales en aproximadamente el 20% de los individuos con SD22q11.2. García y colaboradores (2007) publicaron un estudio donde obtuvieron preparaciones cromosómicas con bandas GTG de alta resolución y en donde analizaron 25 metafases/prometafase con un patrón de resolución de 550-800 bandas y se diagnosticaron tres individuos con una deleción del cromosoma 22q11.2. No obstante, hay que tener presente que el diagnóstico citogenético por esta técnica no es fácil, debido a la heterogeneidad del

tamaño de la deleción en el SD22q11.2 que va de 1.5-3 Mb, por lo que es necesario realizar estudios citogenéticos moleculares para confirmar la presencia o ausencia de la microdeleción.

Los métodos moleculares que se han utilizado para el estudio del SD22q11.2 son:

### **Hibridación in situ con fluorescencia (FISH)**

La técnica de Hibridación *in situ* con fluorescencia **FISH** (por sus siglas en inglés) (Pinkel *et al.*, 1986) detecta y provee una visualización directa de la localización espacial de secuencias específicas de ácidos nucleicos en los cromosomas y núcleos interfásicos, es de gran importancia en el diagnóstico de rearrreglos cromosómicos microscópicos que no pueden ser observados con la técnica de citogenética convencional, ya que ésta solo puede detectar deleciones mayores 4Mb en tanto que con un FISH se pueden ver deleciones de 1Mb denominadas microdeleciones (Pinkel *et al.*, 1986).

Para reconocer la microdeleción en el SD22q11.2 se utiliza la técnica FISH, que se basa en el marcaje de los cromosomas que son hibridados con una sonda molecular de secuencia única marcada con un fluoróforo por lo que emite fluorescencia y permite la localización, visualización y distinción de la región delecionada, en este caso del locus 22q11.2. Si en las metafases y los núcleos en interfase se observa solo una marca fluorescente significa que la microdeleción está presente (Shprintzen *et al.*, 1978; Pinkel *et al.*, 1986; Wiegant, Ried y Nederlof, 1991). Para la identificación del SD22q11.2 existen sondas de secuencia única comerciales, como:

**TUPLE1:** hibrida en la banda 22q11.2, loci D22S553, D22S609 y D22S942 es la que identifica la deleción de 3Mb en los pacientes con SD22q11.2 y junto con ésta se hibrida la LSI ARSA prueba que localiza la banda (q13.3) del cromosoma 22, se utiliza como testigo para verificar que se trata del mismo cromosoma. Figura 6.

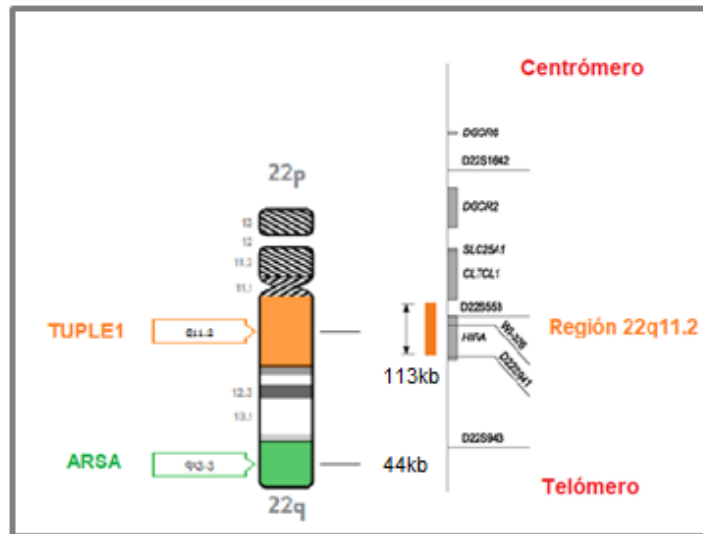


Figura 6. Región *TUPLE1* espectro rojo

**N25:** híbrida en la banda 22q11.2, locus D22S75 es la que determina la delección de 1.5MB al igual que como la TUPLE1 se hibrida con LSI ARSA que localiza la banda (q13.3) utilizándola como testigo para verificar que se trata del cromosoma 22. **Figura 7.**

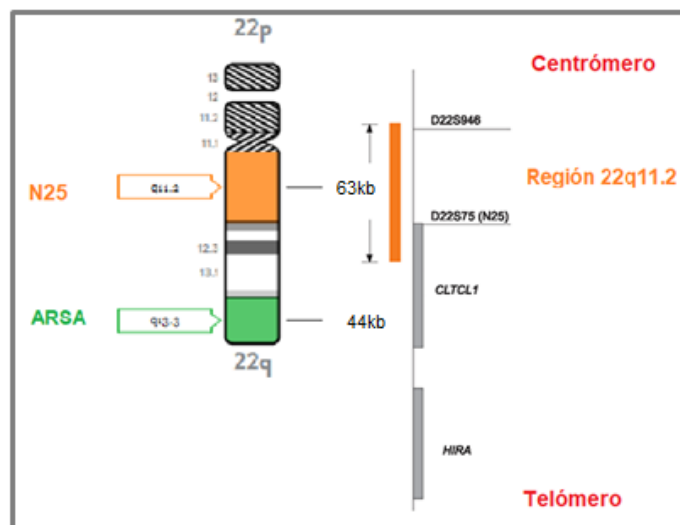


Figura 7. Región *N25* espectro naranja

**TBX1:** hibrida en la banda 22q11.2, abarcando todo el gen **TBX1** e incluye el marcador del locus D22S1627 al igual que las sondas anteriores localiza la banda (q13.3) como testigo para comprobar que se trata del cromosoma 22. **Figura 8.**

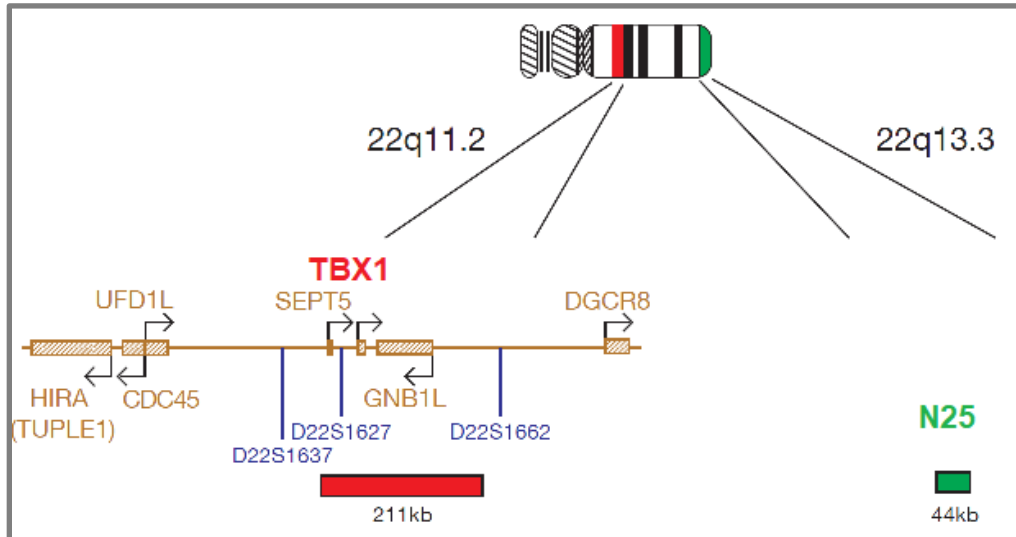


Figura 8. Región **TBX1** espectro rojo

Los informes iniciales con FISH en la detección del SD22q11.2 reportaban una tasa de precisión del 80%, pero actualmente, la prueba de FISH es precisa en el 99.9% de los casos (Shprintzen, 2005). La técnica de FISH ha sido considerada el estándar de oro para la detección del SD22q11.2 en el 95% de los pacientes (Habel *et al.*, 2014) por ser un procedimiento ampliamente disponible, rentable y de alta precisión.

### Reacción en cadena de polimerasa (PCR)

Otra herramienta disponible para la genética molecular es el PCR, esta técnica se basa en la amplificación enzimática de un fragmento de ADN que está flanqueado por dos «cebadores», oligonucleótidos cortos que se hibridan con las cadenas opuestas de la secuencia diana e inicia la síntesis de la secuencia de ADN complementario en dirección 5'-3' mediante la enzima ADN-polimerasa. Se consigue una considerable especificidad porque los cebadores deben producir una síntesis convergente para que la amplificación sea eficaz. Ciclos repetidos de desnaturalización por calor, hibridación de los cebadores y síntesis enzimática de ADN provocan la amplificación exponencial de la secuencia diana de ADN. Con el uso del

termociclador, un ciclo tarda sólo alrededor de 10 min, con lo que, en sólo unas cuantas horas, se pueden crear millones de copias de una secuencia de ADN (White Arnheim y Erlich, 1989).

En pacientes con SD22q11.2, el diagnóstico con PCR se ha propuesto como una alternativa, la amplificación de marcadores microsatélites (PCR-STR, por las siglas en inglés de Short Tandem Repeats) que son pequeñas secuencias de 1-6 pares de bases repetidos en tándem que pueden variar su longitud de 100-300 pares de bases. Este polimorfismo permite diferenciar los alelos de cada uno de los cromosomas homólogos en función de su tamaño, creando un patrón que es específico para cada individuo, (Poyatos, 2004) también pueden determinar la pérdida de heterocigocidad de estos marcadores (Pereira *et al.*, 2003), y se requiere el análisis del ADN de los padres para comparar los alelos paternos y maternos con los del paciente, determinando el origen parental cuando se sospecha que la alteración se da por segregación (Gallego *et al.*, 2011).

### **APLICACIÓN DE SONDAS DEPENDIENTE DE MÚLTIPLES LIGANDOS (MLPA)**

La técnica de MLPA descrita por primera vez por Schouten, en el 2002, registrada y comercializada por la compañía holandesa MRC Holland, detecta deleciones y duplicaciones en varias enfermedades, básicamente se trata de la combinación de las técnicas de hibridación, ligación y amplificación por PCR, requiriendo para su ejecución un aparato termociclador (PCR) y un equipo de electroforesis capilar (secuenciador). El MLPA se puede dividir en cinco etapas principales: 1) desnaturalización del ADN e hibridación de sondas de MLPA, 2) reacción de ligación, 3) reacción de PCR; 4) la separación por electroforesis de los productos amplificados y 5) análisis de datos. Con La técnica de MLPA se pueden detectar y cuantificar hasta 45 secuencias específicas, que hibridarán en diferentes puntos de la región de interés, se ligarán 2 a 2 y posteriormente se amplificarán utilizando el mismo par de cebadores. Mediante el análisis de fragmentos y aprovechando la diferencia de tamaño se podrán identificar pérdidas o ganancias de material genético atendiendo a la normalización de las áreas de cada pico con respecto a un control sano.

En el caso del SD22q11.2 en México esta metodología es poco utilizada, aunque es de fácil manejo y permite el procesamiento de un gran número de casos simultáneamente utilizando el KIT P250 que detecta tanto deleciones típicas como atípicas y su tamaño y es mucho más



específica que el FISH y de un costo aparentemente bajo, la infraestructura y consumibles para llevar a cabo su realización sí son de un costo elevado. Además, en las especificaciones del inserto de la técnica se recomienda que en el caso del SD22q11.2 para no generar positivos falsos se deben corroborar los resultados con un FISH de secuencia única (TUPLE1 o N25), por lo que a nivel institucional ya no resulta rentable (Jalali *et al.*, 2008).

## **MICROARREGLOS DE HIBRIDACIÓN GENÓMICA COMPARATIVA (aCGH)**

Los aCGH tienen sus inicios en 1997 con Salinas-Toldo y en 1998 con Pinkel. Consisten en una hibridación genómica comparativa, el ADN del paciente se fragmenta y se marca con un fluoroforo verde y se usa un ADN normal de referencia que se fragmenta y se marca con un fluoroforo rojo, una vez marcados los ADNs en una relación 1:1 se hibridan competitivamente sobre el microarreglo, de tal forma que si la relación verde/rojo esta alterada indica una pérdida o una ganancia en ADN del paciente (Bejjani *et al.*, 2005).

Los aCGH tienen una resolución de  $\geq 1\text{Mb}$ , en vez de utilizar cromosomas metafásicos utiliza sondas obtenidas de clonas de ADN de regiones específicas, cuyo sitio en el genoma humano se conoce bien y oligonucleótidos del genoma completo que están fijados sobre una laminilla (microarreglo) y se tienen por triplicado y se procesan en plataformas comerciales. Los aCGH permiten un escaneo completo del genoma, se pueden detectar variaciones en el número de copias, las cuales son parte de la evolución de los humanos, de la diversidad genética, e incluso de algunas patologías. La desventaja de esta técnica es que no detecta rearrreglos balanceados, translocaciones o mosaicos bajos, pero permite identificar polimorfismos (variantes normales), desbalances cromosómicos como microduplicaciones o microdeleciones como los que ocurren en el locus q11.2 del cromosoma 22 (Shaffer, Bejjani y Tochia, 2007; Feero, Guttmacher y Collins, 2010). Aunque este método en nuestro país ha sido utilizado en pacientes con SD2q11.2 a nivel de protocolo por su alta sensibilidad y porque permite determinar el tamaño de la microdelección, para la mayoría de las instituciones no es costeable por no contar con la infraestructura necesaria, ni los recursos públicos para realizar citogenómica en los pacientes con probable de SD22q11.2.

## GENES

La unidad básica de información genética es el gen. Un gen se puede definir como la región física y funcional de la herencia. Los genes se componen de ADN, cuya secuencia de nucleótidos contiene la información para dar lugar a una unidad transcripcional con sus diversas secuencias reguladoras asociadas (Olivia *et al.*, 2004). En los seres humanos, el tamaño de los genes oscila de cientos a millones de pares de bases.

En 1999, durante el proyecto genoma humano, el cromosoma 22 fue el primero que se secuenció y se informó que posiblemente contiene de 500 a 600 genes que proporcionan las instrucciones para la elaboración de proteínas.

En el SD22q11.2, en la microdelección de 3 Mb, donde los puntos de ruptura están mediados por cuatro pequeñas copias de repeticiones específicas (LCR A-D), se han observado 90 genes de los cuales 46 son codificadores de proteínas, 27 pseudogenes, 10 ncRNA y 7 miRNA (Guna, Butcher y Basset, 2015). Figura 9.

En el SD22q11.2 de los 46 genes codificadores el más estudiado es *TBX1*, pertenece a una familia de factores de transcripción evolutivamente conservados de Tbox, cuya expresión está regulada con precisión durante la embriogénesis y al parecer regula la proliferación y la diferenciación de diversas células progenitoras durante la organogénesis. Utilizando un modelo murino se descubrió que *TBX1* es un gen crucial en la región LCRA-LCRB del cromosoma 22; en las mutaciones heterocigóticas la pérdida de la función de *TBX1* da como resultado defectos cardiovasculares, tímicos y paratiroides con una penetrancia parcial que son similares a los defectos congénitos en SD22q11 (McDonald-McGinn *et al.*, 2016; Racedo *et al.*, 2017).

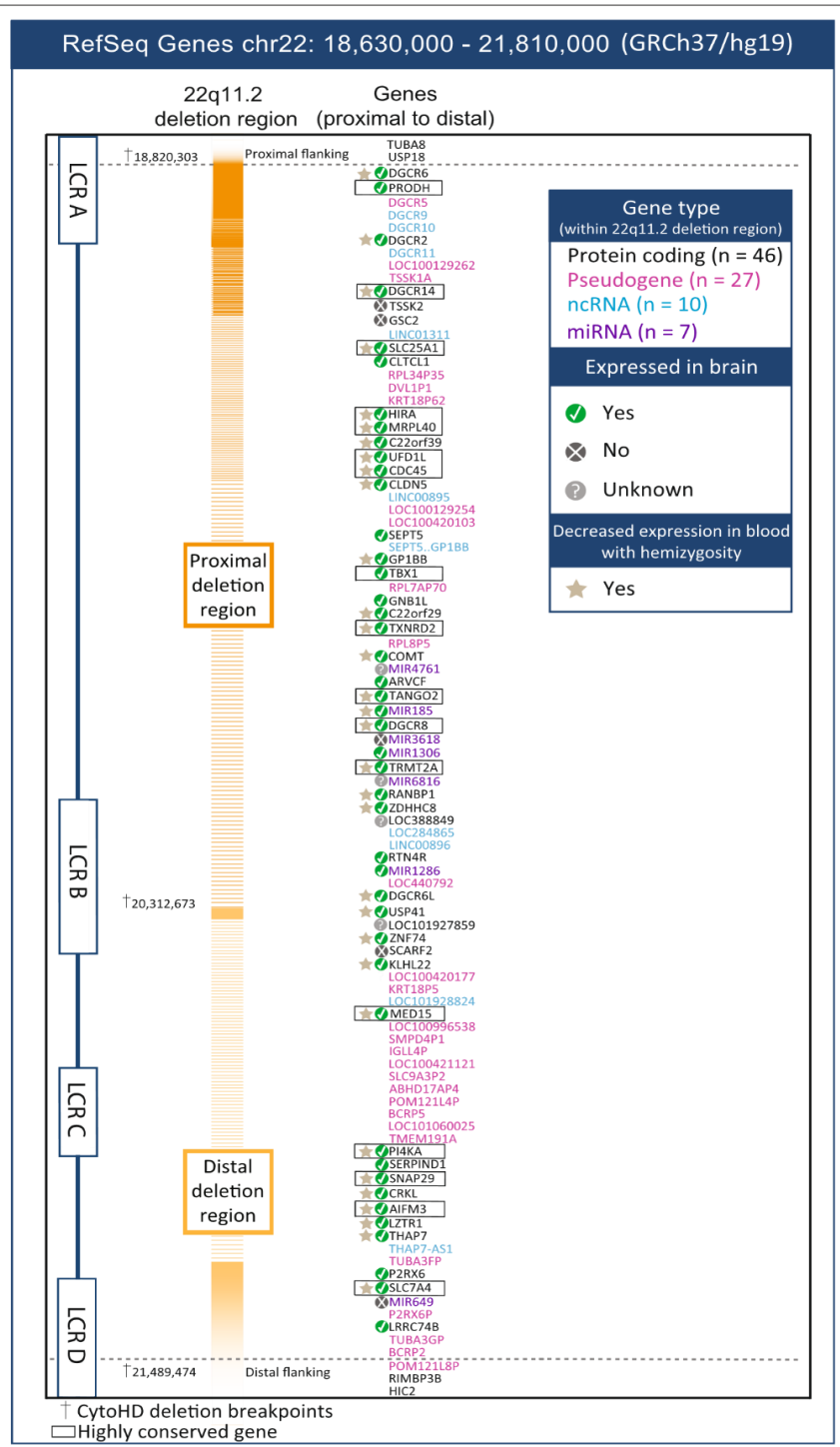


Figura 9. la región crítica de la microdelección de 3 Mb, (Guna, Butcher y Bassett, 2015).

La haploinsuficiencia que forma parte del fenotipo del SD22q11.2, es similar a la desarrollada en embriones de ratones knockout *TBX1* en los que se observó tronco arterioso, paladar hendido, ausencia del timo y de las glándulas paratiroides. La mutagénesis condicional de *TBX1* observada en el ectodermo, mesodermo y el endodermo de la superficie faríngea conducen a un conjunto de anomalías que demuestran la complejidad de las interacciones tisulares que se requieren para la morfogénesis del aparato faríngeo (McDonald-McGinn *et al.*, 2016; Racedo *et al.*, 2017). En ratones mutantes de *TBX1*, el desarrollo del aparato faríngeo pierde casi por completo la segmentación característica de arcos y sacos faríngeos, por lo que se observa una faringe hipoplásica. Las consecuencias de estas anomalías en el desarrollo son graves porque la región faríngea es el nicho de progenitores cardíacos, específicamente el segundo campo cardíaco (Kelly, 2012), que desarrolla gran parte del corazón.

El aparato faríngeo es el sitio dentro del cual las células del corazón y de la cresta neural migran; aunque, no se ha detectado la expresión de *Tbx1* en las células de la cresta neural, su patrón se ve afectado en mutantes *TBX1*, condicional tanto a la superficie del ectodermo como del segundo campo cardíaco. A nivel celular, los modelos de ratón que expresan *TBX1* han sido importantes en la detección de proliferación reducida y diferenciación prematura de células progenitoras. *TBX1* también ha sido implicado en el desarrollo micro vascular cerebral y puede tener un rol importante en los déficits cognitivos y conductuales (McDonald-McGinn *et al.*, 2016; Racedo *et al.*, 2017).

Se ha demostrado que *TBX1* es crucial para el desarrollo cardiovascular, pero también en numerosos estudios se ha explorado que tiene un papel potencial en el desarrollo craneofacial. Si bien, es evidente que *TBX1* está involucrado en aspectos del desarrollo craneofacial que afectan la alimentación y la deglución, pero la heterocigocidad de *TBX1* por sí sola no puede explicar todos los impactos ocasionados por la delección de 22q11. Los embriones de ratón *TBX1* heterocigotos no muestran dismorfología del rombo encéfalo, ni la expansión anterior de los marcadores posteriores del cerebro posterior (Karpinski, 2014). La heterocigocidad *TBX1* comprende parcialmente la dismorfología del nervio craneal observada en los embriones de ratón; que muestran una incidencia idéntica de fusiones de los nervios glossofaríngeo (IX) y vago (X); sin embargo, no muestran anomalías en el nervio o ganglio del trigémino (V)

(Karpinski, 2014). Por lo tanto, los diferentes genes en 22q11 parecen ser esenciales para el patrón y la organización adecuados del rombo encéfalo y los nervios craneales.

De igual manera, parece que la heterocigosidad *TBX1* puede ser importante, pero no suficiente para causar defectos palatinos en SD22q11.2. *TBX1* es un gen importante para el desarrollo del paladar, los embriones de ratón nulos de *TBX1* tienen defectos significativos en el desarrollo del paladar, muestran una disminución en la elevación de la plataforma palatina (Jerome y Papaioannou, 2001; Goudy *et al.*, 2006; Funato, Nakamura y Richardson, 2012; Papaioannou, 2014), y tienen fusiones inapropiadas entre el epitelio que rodea la plataforma palatina y el epitelio oral adyacente (Funato, Nakamura y Richardson, 2012). Aunque hay evidencia de que los polimorfismos de *TBX1* pueden estar asociados con el paladar hendido no sindrómico (Paranaiba *et al.*, 2013), no parece probable que la pérdida heterocigota de *TBX1* sea, en sí misma, suficiente para causar el paladar hendido. La delección heterocigota de *TBX1* no conduce al paladar hendido en modelos de ratón (Jerome y Papaioannou, 2001; Papaioannou, 2014), aunque es claramente suficiente para causar anomalías cardiovasculares. Además, no existe evidencia significativa de que un alelo débil o no funcional de la copia restante de *TBX1* en individuos con SD22q11.2 pueda subyacer al paladar hendido en el síndrome (Herman *et al.*, 2012), y no hay evidencia de una correlación entre paladar hendido y defectos cardiovasculares en SD22q11.2 (Friedman *et al.*, 2011), lo que podría esperarse si la pérdida de la función de *TBX1* fuera central para ambos fenotipos. Por lo tanto, parece probable que *TBX1* puede ser importante para aspectos específicos del desarrollo del paladar, pero su papel en SD22q11.2 depende de otros genes localizados en el locus q11.2 del cromosoma 22.

Se ha reportado que diferentes vías de señalización y modificadores de la actividad de *TBX1* parecen tener una función importante por que regulan la expresión de varios factores de crecimiento y de transcripción, *incluidos FGF8, FGF10, PITX2, CHD7, VEFR3, EYA1, WNT5A, BMPER y Otog-MyoD*. La alteración de la expresión de estos genes por la pérdida de la función de *TBX1* contribuye a la patogénesis de SD22q11.2. También se ha observado que la expresión de *TBX1* está regulada negativamente por el ácido retinoico, y positivamente por *SHH* a través de *FOXA2* y que, en un futuro, la manipulación de estas vías podría ser una piedra angular en las investigaciones del SD22q11.2 (McDonald-McGinn *et al.*, 2016)

Otro gen de interés es *DGCR8*, que codifica una proteína de unión a ARN de doble cadena que media en la biogénesis de los miARN. Los miRNA son pequeños ARN no codificantes que regulan la expresión de genes diana uniéndose a sitios específicos en mARNAs para la represión o degradación traduccional. En modelos de ratón, la heterocigocidad de *DGCR8* produce déficits neuronales que son característicos de SD22q11.2, mientras que la inactivación de ambos alelos en las células de la cresta neural da como resultado defectos cardíacos. Las alteraciones sutiles en los niveles de expresión de miARN pueden tener efectos profundos en el desarrollo y la plasticidad cerebral, especialmente en las sinapsis. Algunos reportes proponen que *DGCR8* puede desempeñar un papel en la modificación de la expresión de genes fuera de la región de delección 22q11.2 que contribuyen a los fenotipos neuropsiquiátricos asociados con SD22q11.2. Además de los cambios relacionados con *DGCR8* en miRNAs, la alta densidad de miRNAs en la región de delección 22q11.2 y la comprensión acumulativa de su función indican que estos ARN funcionales no codificantes pueden tener un papel en la expresión variable de SD22q11.2. Es probable que estos efectos sobre la expresión involucren no solo el sistema nervioso central (SNC) sino también el sistema cardiovascular y otros aspectos del desarrollo embrionario (McDonald-McGinn, 2016).

*COMT* que codifica para la enzima catecol-O-metil-transferasa la cual es un importante regulador catabólico de neurotransmisores sinápticos, que degrada catecolaminas incluidas la dopamina, norepinefrina y epinefrina (Pivac, 2011) es otro de los genes candidatos en la región de la delección 22q11.2. *COMT* se expresa en la corteza prefrontal y sistema límbico (Schosser, 2012). Su actividad es de particular importancia en estas regiones cerebrales manteniendo la baja expresión del transportador pre sináptico dopamina (Wardle *et al.*, 2013; McDonald-McGinn *et al.*, 2016).

Diversos estudios han asociado la participación de *COMT* en enfermedades como la esquizofrenia, dependencia del alcohol, comportamiento suicida, psicosis, trastornos afectivos y procesamientos cognitivos. Pero también existen reportes donde no han encontrado asociación alguna de estos trastornos neuropsicológicos en pacientes adultos con SD22q11.2. (Ohara, Nagai y Suzuki, 1998; Nolan, 2000; Russ *et al.*, 2000; Liou *et al.*, 2001; Wedren, 2003; Ono *et al.*, 2004; Colilla, 2005; Cheng *et al.*, 2006; Baud *et al.*, 2007; Kia-Keating, Glatt y Tsuang, 2007; Vargas-Alarcón, 2007; Zalsman, 2008; Opgen-Rhein *et al.*, 2008; Takizawa,

2009; Perroud, 2010; Ehrlich, 2010; Illi, 2010; Kocabas, 2010; Calati, 2011; Lee y Kim, 2011; Nedic *et al.*, 2011; Pivac, 2011; Roten, 2011; McDonald-McGinn, 2016).

También se ha observado que *COMT* varía según las poblaciones, por lo tanto, la distribución del genotipo y las frecuencias alélicas de *COMT* en una población determinada puede llegar a ser un problema relevante (Hatzimanolis, 2013; Sheikh, 2013; Wardle *et al.*, 2013).

Otro gen localizado y deletado en el cromosoma 22 en el **SD22q11.2** es *PRODH* que codifica la enzima prolina deshidrogenasa, que degrada la prolina. Mutaciones en *PRODH* causan hiperprolinemia tipo I, trastorno neurológico que en forma grave puede causar convulsiones, discapacidad intelectual, trastornos psiquiátricos y del comportamiento. Se ha reportado que aproximadamente un tercio de los pacientes con SD22q11.2 tienen niveles aumentados de prolina, en varios estudios, aunque no en todos, han mostrado asociaciones significativas entre los niveles elevados de prolina y diferentes medidas en el cerebro en pacientes con SD22q11.2. (Goodman *et al.*, 2000; McDonald-McGinn *et al.*, 2016). Raux y colaboradores (2007) informaron que pacientes con **SD22q11.2** y con hiperprolinemia, tuvieron un mal desempeño en un gran número de tareas cognitivas y una mayor prevalencia de psicosis en comparación con otros sujetos con SD22q11.2 que no cursaban con hiperprolinemia.

*CRKL* es un gen codificador de proteínas que ha sido estudiado por su ubicación en la región 22q11.2. *CRKL* codifica una proteína adaptadora citoplásmica que está involucrada en los procesos de señalización de diversos factores de crecimiento y citosinas (Birge *et al.*, 2009; Feller, 2001). Además, desempeña un importante papel en diversas funciones celulares, incluidas: la migración celular, la adhesión y respuesta inmune.

*CRKL* se ubica en la región LCR22B-LCR22D y actúa de manera sensible a la dosis. Se ha reportado que *CRKL* se expresa en niveles elevados en la cresta neural y faringe (Guris *et al.*, 2001). El fenotipo parecido al SD22q11.2 en ratones knockout del gen *CRKL* se caracteriza por defectos que afectan tejidos y órganos derivados de la cresta neural, como el timo, paratiroides, estructuras craneofaciales y tracto cardiaco. Los datos observados en el modelo humano y de ratón indican que la haploinsuficiencia de *CRKL* podría ser uno de los

responsables de la etiología de las anomalías cardíacas en individuos con deleciones distales, además, de que parece ser el modulador de la función de las células asesinas naturales (Zheng 2015). Sin embargo, estas observaciones no aclaran completamente la función de CRLK en los defectos inmunes del SD22q11.2. Aunque en pacientes con SD22q11.2 se ha reportado que el 90% incluye el locus del gen *CRKL* en la región eliminada (McDonald-McGinn *et al.*, 2016).



## JUSTIFICACIÓN

El **SD22q11.2** es el síndrome de microdeleción más frecuente en los seres humanos, con una incidencia en hispanos estimada en 1:3800 recién nacidos. De México solo existe un reporte en la literatura mundial asociándolo a aspectos clínicos, principalmente cardiopatía congénita, sin embargo, existen publicaciones de otras partes del mundo que señalan que se puede llegar al diagnóstico del **SD22q11.2** por la presencia de características fenotípicas del síndrome y alteraciones de paladar hendido, paladar hendido submucoso y/o insuficiencia velofaríngea que se presentan con un rango de incidencia del 30 al 80%.

El Instituto Nacional de Rehabilitación cuenta con los servicios de Foniatría y Genética que en conjunto pueden realizar un diagnóstico clínico tentativo del **SD22q11.2** el cual puede ser corroborado en el Laboratorio de Citogenética Molecular con la técnica de **FISH** utilizando las sondas comerciales de secuencia única del loci 22q11.2 y una vez establecido el diagnóstico de **SD22q11.2**, se proporcione el asesoramiento genético, además de que permitirá realizar protocolos específicos para el abordaje multidisciplinario de pacientes con el síndrome.

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

- Diagnosticar el **SD22q11.2** en pacientes con facies sugestiva y anomalías palatinas mediante el estudio citogenético molecular de FISH utilizando las sondas comerciales TUPLE1 y/o N25.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir las características fenotípicas más frecuentes asociadas al **SD22q11.2** en pacientes **FISH** positivo del Instituto Nacional de Rehabilitación.
- Identificar las alteraciones palatinas de los pacientes con **SD22q11.2. FISH** positivo que acudieron a la consulta de foniatría y genética del Instituto Nacional de Rehabilitación.

## METODOLOGÍA

En el laboratorio de citogenética se realizó el análisis cromosómico, a los pacientes diagnosticados como probables SD22q11.2. Se elaboró la historia clínica, árbol genealógico y exploración física a pacientes que presentaron dismorfias fáciles características del SD22q11.2; con la autorización de los padres a través de la carta de consentimiento informado para realizar el estudio, se tomó registro fotográfico de cara: frente, perfiles, paladar y manos. Para el estudio cromosómico, se tomó una muestra de sangre periférica, se realizó cultivo y cosecha de linfocitos por duplicado, se prepararon laminillas que se utilizaron para la técnica de bandas GTG y **FISH** (Descrito en la página 73 del anexo)

Para detectar el **SD22q11.2** con la técnica de FISH se utilizó la sonda comercial de la región DiGeorge, sonda dual de secuencia única para la región TUPLE1 que hibrida en el cromosoma 22, locus (q11.2) espectro rojo /LSI ARSA prueba que localiza la banda (q13.3) espectro verde que se utiliza como testigo para verificar que se trata del cromosoma 22. Si el paciente resultó negativo en esta prueba, entonces, se utilizó la sonda dual de secuencia única N25 que hibrida en el cromosoma 22 loci (q11.2), espectro rojo /LSI ARSA que localiza la banda (q13.3) espectro verde que se utiliza como testigo para verificar que se trata del mismo cromosoma.

Para el análisis cromosómico, de cada paciente, se analizaron 25 metafases en relación al número y estructura cromosómica con una resolución de 450-550 bandas GTG en un microscopio óptico Carl Zeiss Imager a un aumento de 100X. Se almacenaron 5 fotografías digitales de metafases en el disco duro de la computadora que está conectada al microscopio. Se realizó el cariograma empleando el software Ikaros de Metasystems. Se elaboró un reporte con los datos del paciente y el resultado del cariotipo empleando la nomenclatura de ISCN, 2016.

Para el análisis del FISH, en cada paciente, para cada sonda y utilizando el software ISIS de Metasystems se analizaron 20 metafases y 200 núcleos interfásicos a un aumento de 100X en un microscopio Carl Zeiss Imager de fluorescencia, equipado con filtro triple banda, se almacenó un mínimo de 5 fotos digitales de metafases y núcleos en interfase por sonda

utilizad  en el disco duro de una computadora que está conectada al microscopio. Se elaboro el reporte de los resultados utilizando la nomenclatura ISCN, 2016.

Para el cariotipo con bandas GTG: primero se pone el número total de los cromosomas contados, seguido de una coma y los cromosomas sexuales (nomenclatura ISCN, 2016).

Ejemplo:

- Femenino: 46,XX.
- Masculino: 46,XY.

Para el reporte con la técnica de **FISH** en pacientes con **SD22q11.2** positivo: primero se pone el número total de los cromosomas contados, seguido de una coma y los cromosomas sexuales, inmediatamente se pone la palabra ish (corresponde a lo observado en prometafase/metafases), espacio, el tipo de alteración cromosómica (del) sin dejar espacios, entre paréntesis el número del cromosoma estudiado (22), seguido del locus también entre paréntesis (q11.2), inmediatamente entre paréntesis la sonda utilizada seguida del signo – si presento delecaci n (TUPLE1-) se pone una coma y sin dejar espacios se ponen los datos de la sonda testigo, el locus 22q13.3 entre paréntesis el nombre de la sonda seguido de un por y el número de señales observadas (ARSAx2). Sin dejar espacio se reporta igual nucish (núcleos interfásicos).

Para el reporte con la técnica de **FISH** en pacientes con **SD22q11.2** negativo: es lo mismo solo cambia que al término de la sonda de interés, no se pone el signo de menos, se pone un por seguido por el número de señales (TUPLE1x2) o (N25x2).

Ejemplos:

- 46,XY.ish 22q11.2(TUPLE1-), 22q13(ARSAx2).nuc ish 22q11.2(TUPLE-),22q13(ARSAx2).
- 46,XY.ish 22q11.2(TUPLE1x2), 22q13(ARSAx2).nuc ish 22q11.2(TUPLE1x2),22q13(ARSAx2).

## RESULTADOS

De enero de 2015 a diciembre de 2017 al laboratorio de Citogenética Molecular del departamento de Medicina Genómica CENIAQ. INR, acudieron 34 pacientes diagnosticados como probable **SD22q11.2**, de los cuales solo 13 (38%) presentaron el **SD22q11.2**: 5 femeninos y 8 masculinos con una edad promedio de 8 años. En la figura 10 se muestra el fenotipo de cuatro pacientes **con SD22q11.2** Donde se observa de la A-D cuatro pacientes con puente nasal ancho y deprimido, punta nasal bulbosa, narinas antivertidas. En la imagen A y B los pacientes muestran comisura labial ligeramente hacia la izquierda. En las imágenes A1, C1 y D1, en los pacientes se observan los pabellones auriculares con implantación baja, en forma de copa, enconchado y hélix plegado. El paciente de la imagen B1 muestra pabellón auricular con implantación adecuada y hélix plegado. En la TABLA 2 se muestran las características clínicas que presentaron los 13 pacientes con **SD22q11.2**.

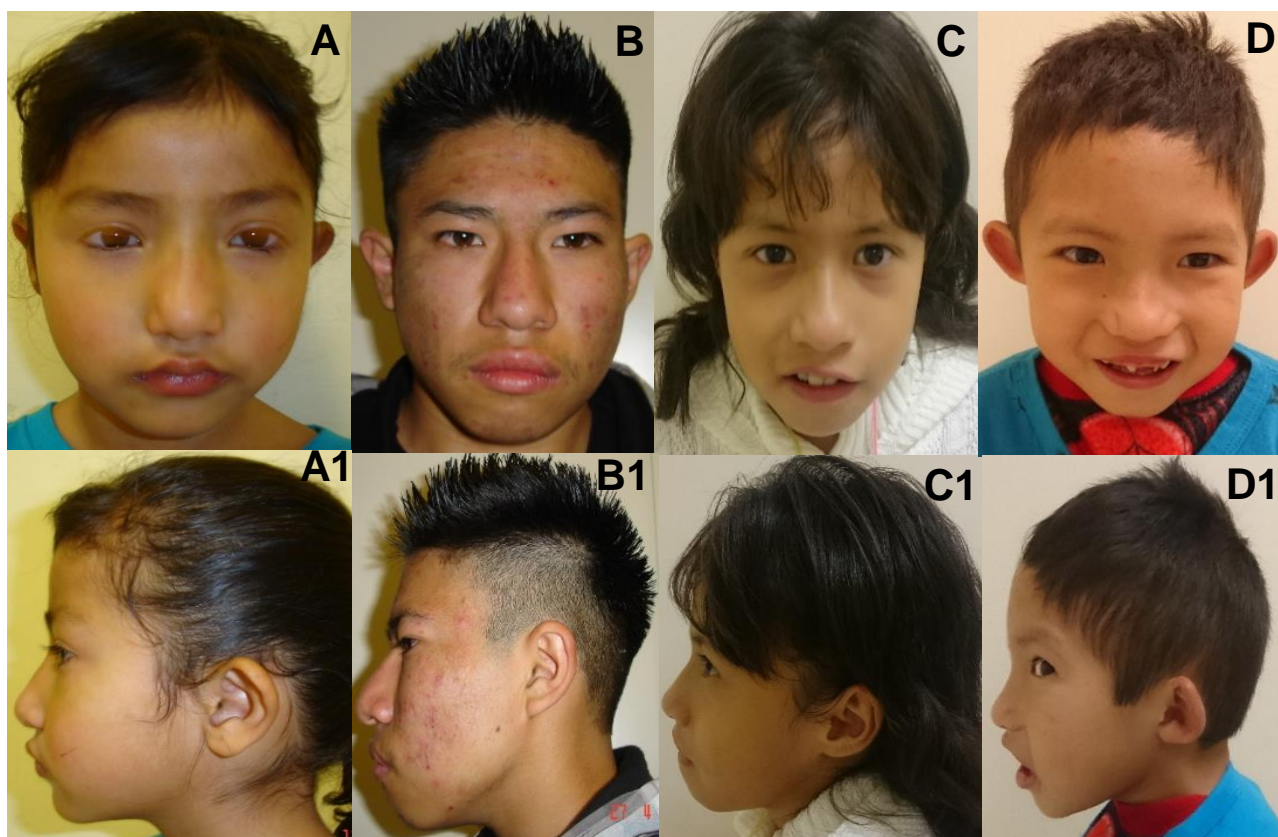


Figura 10. Fotografías frontales y de perfil de pacientes con diagnóstico positivo del **SD22q11.2**.

*Tabla 2 Características clínicas de los pacientes con SD22q11.2.*

<b>Paciente</b>	<b>CARA</b>	<b>FRENTE</b>	<b>FISURA PALPEBRAL</b>	<b>OJOS</b>
<b>1</b>	Ovalada	Estrecha	Horizontal, Estrecha	Simétricos
<b>2</b>	ovalada	Estrecha	Ascendentes	Pliegues epicánticos bilaterales
<b>3</b>	Ovalada	Normal	Horizontal	Pliegue del epicanto izquierdo
<b>4</b>	Cuadrada	Normal	Estrecha, oblicua	Estrabismo / Hipertelorismo
<b>5</b>	Ovalada	Estrecha	Normal	Pliegues epicánticos bilaterales
<b>6</b>	Redonda	Amplia	Normal	Telecanto
<b>7</b>	Ovalada	Amplia	Ascendentes	Hipertelorismo
<b>8</b>	Ovalada	Normal	Oblicua Descendente	Pliegues epicánticos bilaterales
<b>9</b>	Ovalada	Amplia abombada	Horizontal	Simétricos
<b>10</b>	Ovalada	Normal	Capuchón estrecha	Pliegues epicánticos bilaterales
<b>11</b>	Cuadrada	Normal	Horizontal	Epicanto estrecho
<b>12</b>	Ovalada	Prominente	Arriba y estrecha	Simétricos
<b>13</b>	Ovalada	Regular	Horizontal	Simétricos

Continuación: **Tabla 2.** Características clínicas de los pacientes con SD22q11.2.

Paciente	NARIZ					
	Puente Nasal	Punta	Narinas	Posición	Base	Dorso
1	Ancho	Bulbosa	Hipoplásicas	Central	Ancha	Ancho
2	Recto	Bulbosa	Antevertidas	Central	Ancha	Recto
3	Ancho	Bulbosa	Hipoplásicas/Antevertidas	Central	Estrecha	Recto
4	Deprimido	Bulbosa	Hipoplásicas/Antevertidas	Central	Ancha	Ancho
5	Deprimido	Bulbosa	Normal	Central	Normal	Normal
6	Deprimido.	Aplanada	Antevertidas	Central	Normal	Recto
7	Deprimido	Normal	Leve antevertidas	Central	Normal	Normal
8	Deprimido.	Bulbosa	Leve antevertidas/Hipoplásicas	Central	Normal	Recto
9	Recto	Bulbosa	Normal	Central	Ancha	Recto
10	Recto	Normal	Antevertidas/Hipoplásicas	Central	Normal	Normal
11	Deprimido	Bulbosa	Antevertidas /Hipoplásicas	Central	Normal	Recto
12	Ancho	Bulbosa	Antevertidas	Central	Ancha	Recto
13	Regular	Bulbosa	Leve antevertidas	Central	Normal	Normal

Continuación: **Tabla 2.** Características clínicas de los pacientes con SD22q11.2.

Paciente	BOCA		ALTERACIONES PALATINAS	FILTRUM
	Labios	Comisura labial		
1	Normales	Horizontal	PH	Corto y marcado
2	Gruesos	Desviación a la derecha	PHS	Corto
3	Inferior delgado	Descendentes	PHS	Corto e hipoplasico
4	Normales	Horizontal	PHS	Hipoplasico
5	Gruesos	Normal	Normal	Normal
6	Normales	Horizontal	PHS, IVF, UB	Normal
7	Superior delgado	Descendentes	PHS, IVF	Plano, largo, hipoplasico
8	Normales	Normal	LPH, IVF, UB	Normal
9	Delgados	Leve desviada derecha	PH	Corto y marcado
10	Normales	Horizontal	Normal	Normal
11	Normales	Descendentes	PHS	Normal
12	Normales	Horizontal	PHS	Largo, poco marcado
13	Gruesos	Horizontal, desviación derecha	Normal / InV	Largo



Continuación: **Tabla 2.** Características clínicas de los pacientes con SD22q11.2.

Pacientes	PABELLONES AURICULARES				
	Implantación	Tamaño	Hélix	Antihélix	Forma
1	Adecuada	Microtia	Normal	Normal	Acopada
2	Baja	Microtia	Normal	Normal	Acopada
3	Baja	Normal	Hipoplasia	Normal	Rotados hacia atrás/Concha profunda
4	Baja	Normal	Normal	Displásicos	Concha profunda /Acopadas
5	Adecuada	Microtia	Normal	Normal	Normal
6	Adecuada	Normal	Hipoplasia	Bilateral	Acopada
7	Adecuada	Normal	Hiperpeglado	Normal	Rotados hacia atrás/Concha profunda
8	Adecuada	Normal	Desdoblado	Normal	Leve acopado
9	Baja	Microtia	Normal	Normal	Rotados
10	Adecuada	Limítrofe	Hiperplegado	Normal	Normal
11	Baja	Microtia	Muesca Bilateral	Hipoplasia	Acopadas/Concha profunda
12	Baja	Normal	Plegado	Normal	Normal
13	Baja	Normal	Normal	Normal	Rotadas hacia atrás

Continuación: **Tabla 2.** Características clínicas de los pacientes con SD22q11.2.

<b>Paciente</b>	<b>DEFICIT INTELECTUAL</b>	<b>OTROS</b>
<b>1</b>	No	Manos con dedos largos
<b>2</b>	Si	
<b>3</b>	Si	Hipoplasia Facial
<b>4</b>	Si	Hipoplasia Facial
<b>5</b>	Profundo	Hipoplasia Facial/ Retraso de lenguaje alálico
<b>6</b>	Limítrofe	Manos con pliegues palmar
<b>7</b>	No	Hipoplasia facial/Mentón pequeño
<b>8</b>	Profundo	
<b>9</b>	No	
<b>10</b>	No	
<b>11</b>	No	Hipoplasia facial
<b>12</b>	No	Extremidades superiores hipotónicas
<b>13</b>	Limítrofe	Parálisis facial unilateral izquierda

En los pacientes con **SD22q11.2** la alteración palatina que se presentó con mayor frecuencia fue el **PHS** (paladar hendido submucoso) que se observó en un 54% (7 pacientes), seguido de la **IVF** (insuficiencia velofaríngea) en un 23% (3 pacientes), el **PH** (paladar hendido) en un 15% (2 pacientes) y en una proporción igual del 8% la **UB** (úvula bífida), **LPH** (labio/paladar hendido) y **InV** (incompetencia velofaríngea); tres de los pacientes tuvieron un paladar normal 23% pero uno de ellos fue el que presentó la incompetencia velofaríngea. Fogura11. La mayoría de los pacientes presentaron anomalías en ojos, nariz, boca y pabellones auriculares ya sea en la forma, tamaño y/o posición.

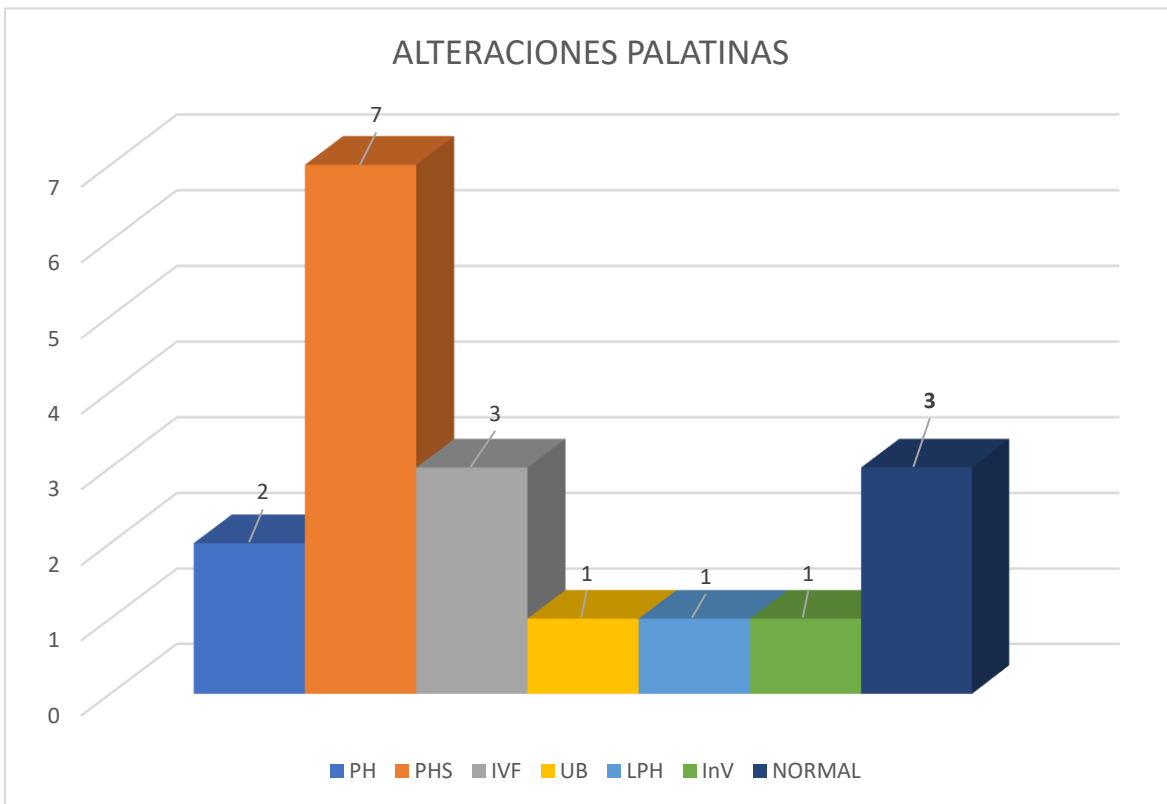
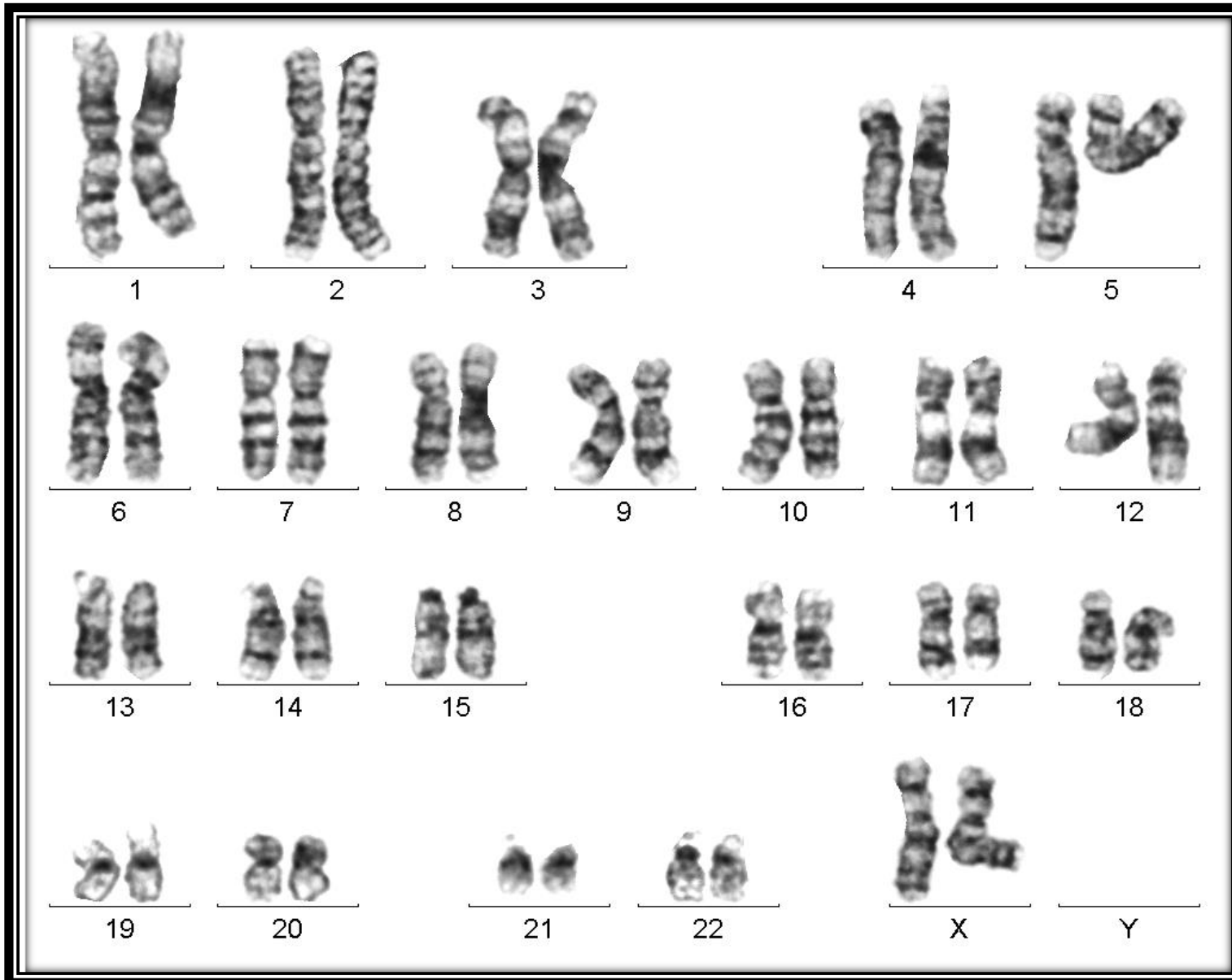
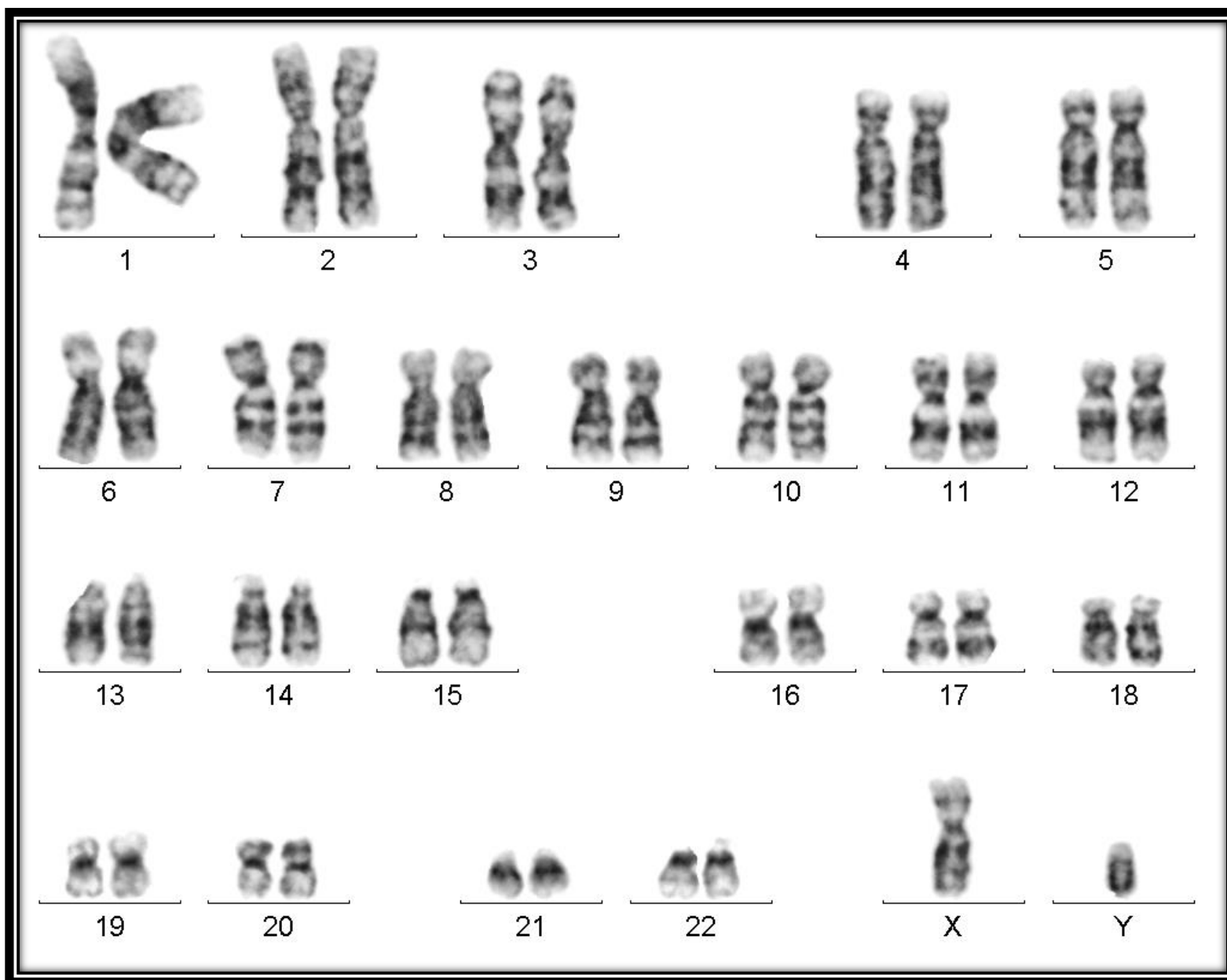


Figura 11. Frecuencia de las lteraciones palatinas en pacientes con SD22q11.2

A todos los pacientes se les realizó el cariotipo con un patrón de 400-550 bandas GTG para descartar alteraciones cromosómicas numéricas o estructurales. Los 34 (100%) pacientes presentaron un cariotipo aparentemente normal. En la **Figura 13**, se observa un cariotipo femenino normal 46,XX y en la **Figura 14**, se muestra un cariotipo masculino normal 46,XY correspondientes a pacientes con el SD22q11.2.



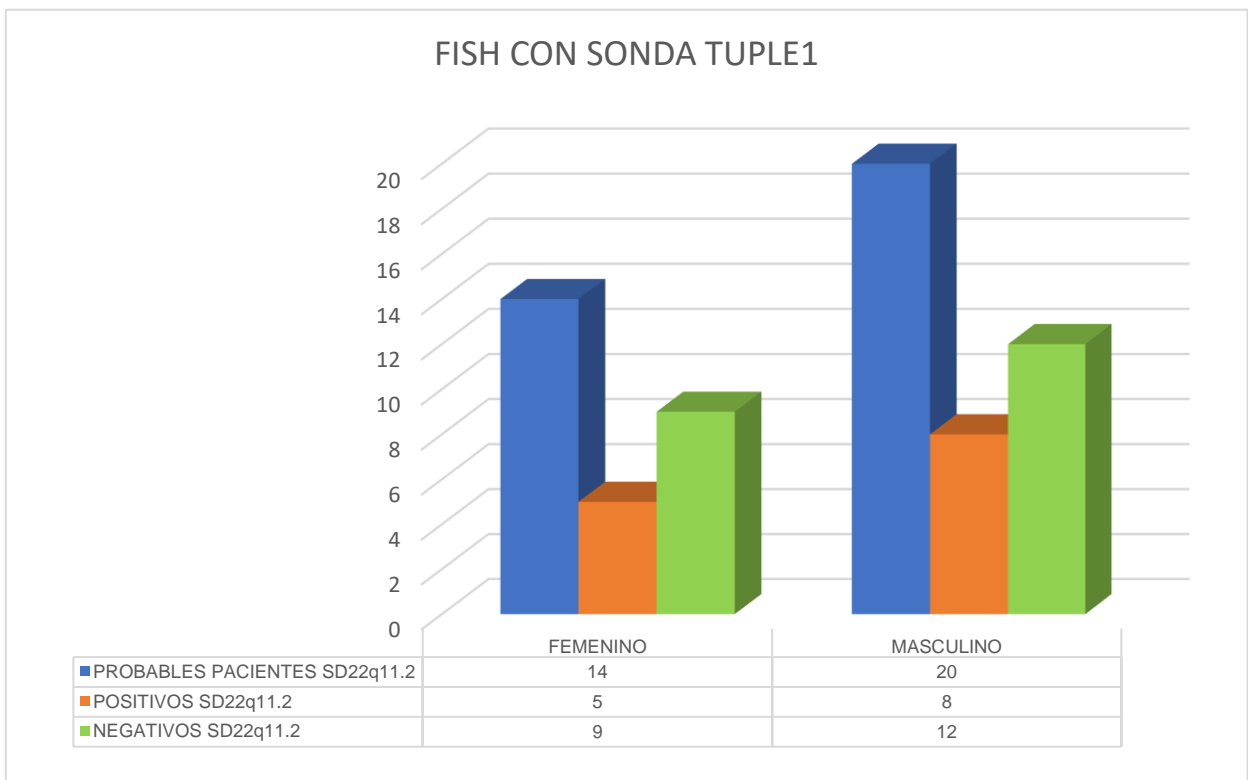
*Figura 12. Cariotipo femenino: 46,XX.*



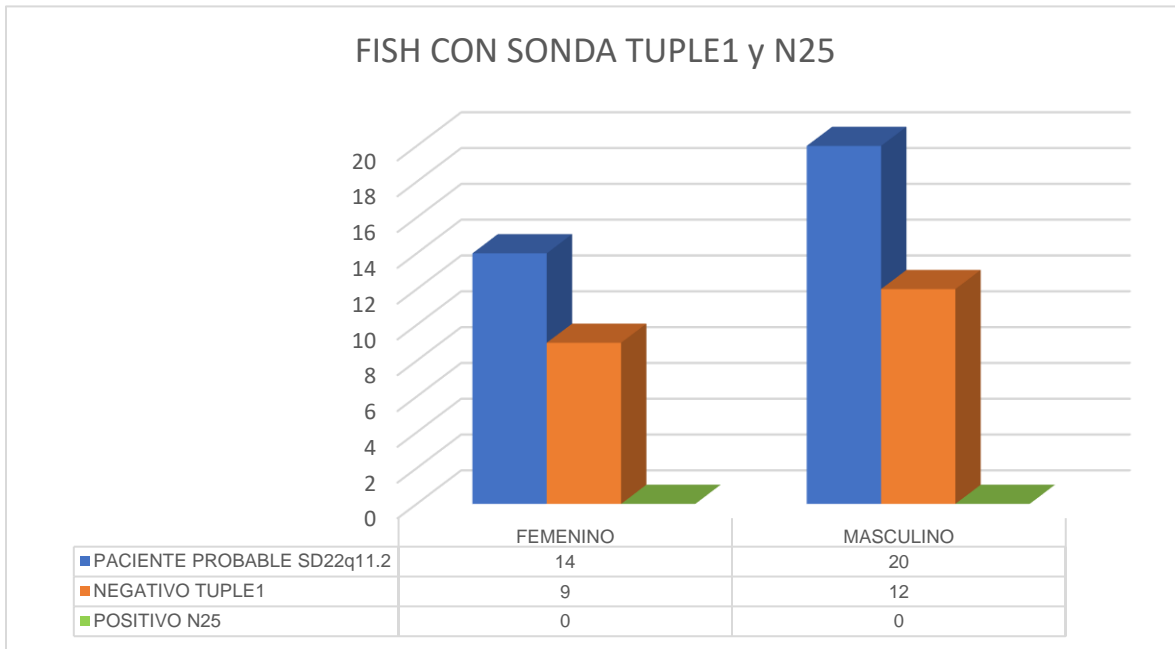
*Figura 13. Cariotipo masculino: XY*

En la primera parte del análisis de FISH para identificar el **SD22q11.2** se utilizó la sonda TUPLE1 en los 34 pacientes con probable **SD22q11.2** (Figura 12), 14 (41%) femeninos y 20 (59%) masculinos. Los resultados obtenidos fueron 13 (38%) pacientes con el **SD22q11.2** de los cuales, 5 (15%) son mujeres y 8 (23%) hombres. Los pacientes que resultaron negativos a la microdelección del locus (q11.2) en los cromosomas 22 utilizando la sonda TUPLE1 fueron 21 (62%); 9 (26%) mujeres y 12 (36%) hombres, se les realizó el FISH con la sonda N25, con la cual los 21 (100%) pacientes resultaron negativos para el **SD22q11.2**.

**Figura 14.**



*Figura 14. Análisis de la técnica de FISH utilizando la sonda TUPLE1 en los pacientes con probable **SD22q11.2**.*



*Figura 15. Comparación de los resultados de la técnica de FISH con la sonda TUPLE1 y N25*

En la Figura 16, A y B se muestra el FISH positivo para el **SD22q11.2**. En la figura A se observan núcleos interfásicos, las flechas amarillas señalan la secuencia única para 22q11.2, se observa una señal en color rojo fluorescente en cada núcleo, lo que significa que hay una microdelección en locus(q11.2) de uno de los cromosomas 22; las señales verdes fluorescentes que se observan en los núcleos interfásicos corresponden a la sonda de secuencia única ARSA locus (22q13) que se utiliza como testigo para asegurarnos que se trata del cromosoma 22. En la figura B se muestra una metafase, la flecha amarilla señala la secuencia única para 22q11.2, donde se observan dos señales de color rojo fluorescente en uno de los cromosomas 22 y en el otro cromosoma no se observa la señal roja, lo que significa que en este cromosoma hay una microdelección del locus (q11.2), las cuatro señales verdes fluorescentes, corresponden a la sonda de secuencia única ARSA locus (22q13) que se utiliza como testigo para asegurarnos que se trata del cromosoma 22.

En la Figura 17, A y B se muestra la forma negativa para el **SD22q11.2** utilizando la sonda TUPLE1. En la figura A se observan núcleos interfásicos, las flechas amarillas señalan la secuencia única para el locus (22q11.2), se observan dos señales rojas fluorescente, lo que significa que no hay una microdelección. También se observan dos señales verdes fluorescentes que corresponden a la sonda de secuencia única ARSA locus (22q13) que se utiliza como testigo para asegurarnos que se trata del cromosoma 22. En la figura B se muestra una metafase, las flechas amarillas señalan la secuencia única para el locus (22q11.2) y se visualizan cuatro señales rojas fluorescente, dos en cada cromosoma 22, lo que significa que no hay microdelección, las cuatro señales verdes fluorescentes que corresponden a la sonda de secuencia única ARSA locus (22q13) que se utiliza como testigo para asegurarnos que se trata del cromosoma 22.

Si mostráramos una de las fotografías obtenidas de la técnica de **FISH** con la sonda N25 observaríamos lo mismo que en la figura 16 de la técnica de FISH con sonda TUPLE1 negativa para **SD22q11.2**.

En la Tabla 3 se muestran los resultados de la técnica de FISH con la sonda TUPLE1, nomenclatura de ISCN (2016) en pacientes positivos para el **SD22q11.2** y en la tabla 4, los resultados de la técnica de FISH con la sonda TUPLE1 y N25, nomenclatura de ISCN (2016) en pacientes negativos para el **SD22q11.2**.



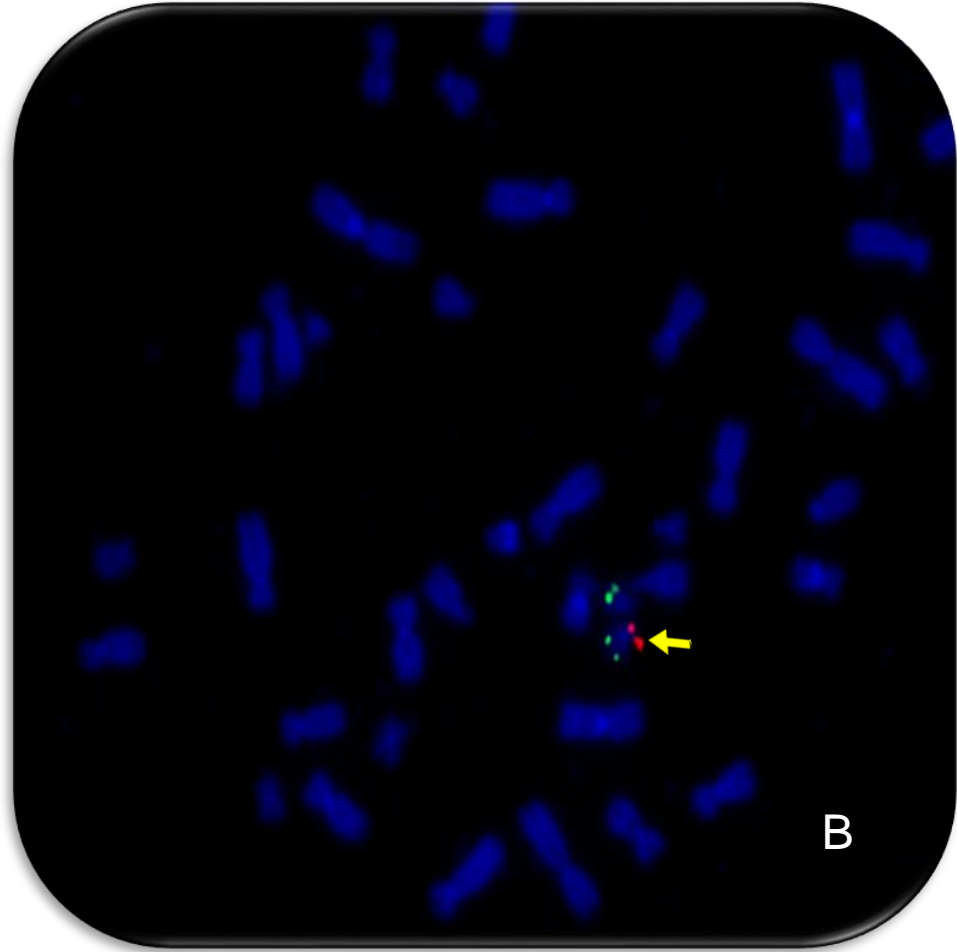
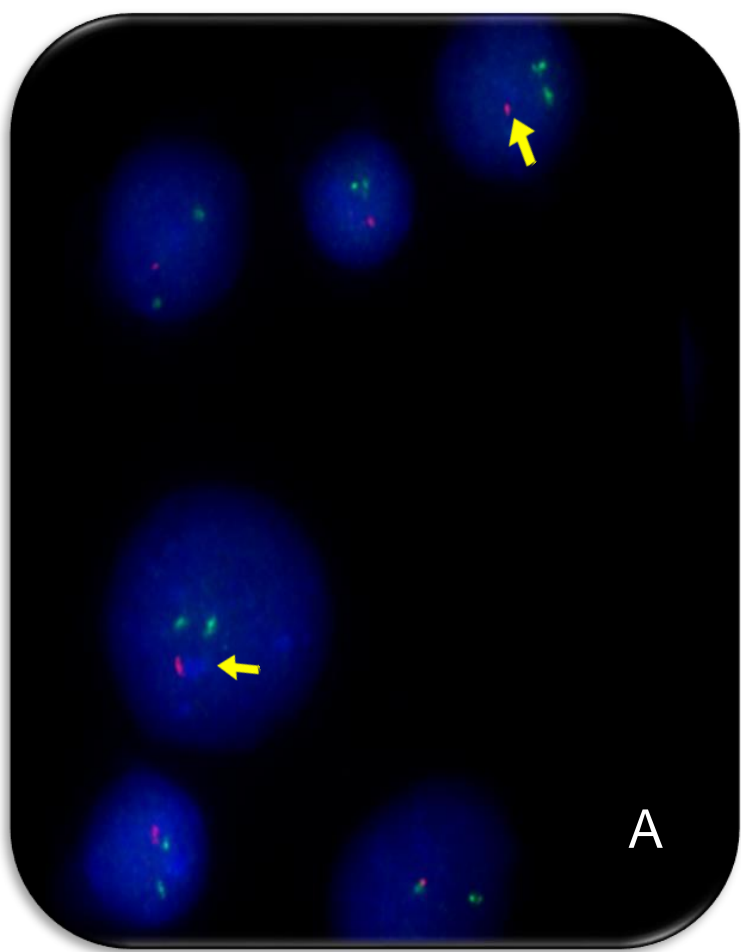


Figura 16 FISH con sonda TUPLE1, positivo para **SD22q11.2**,

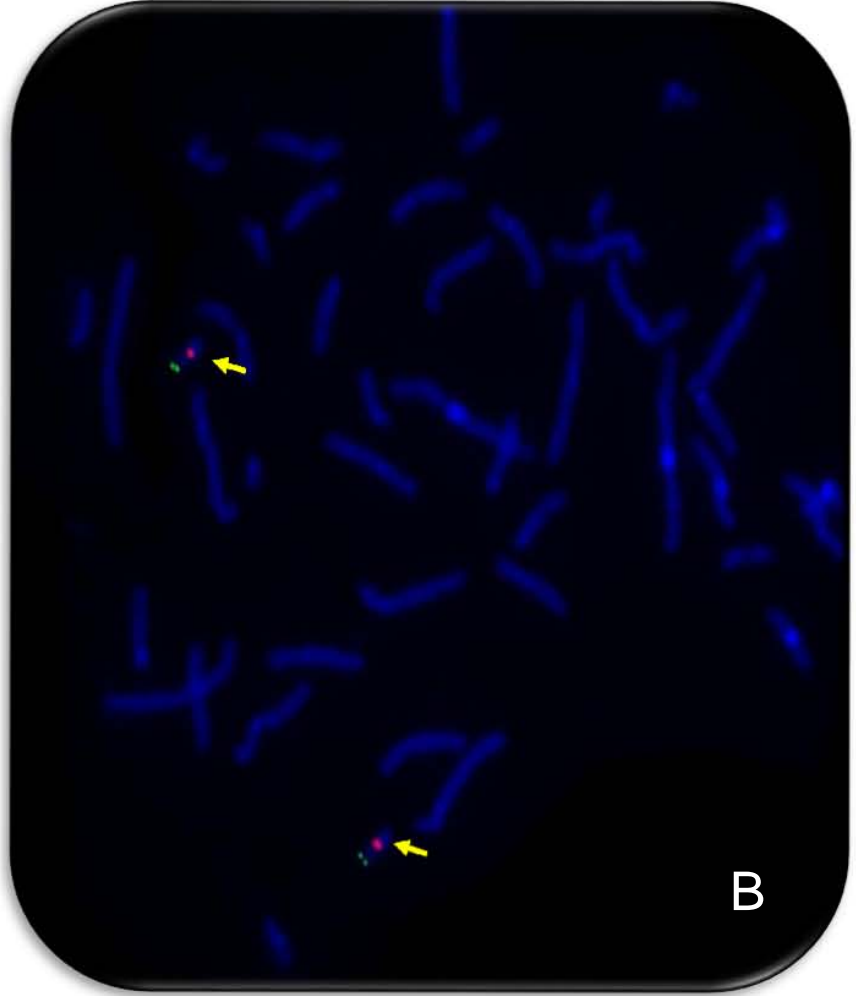
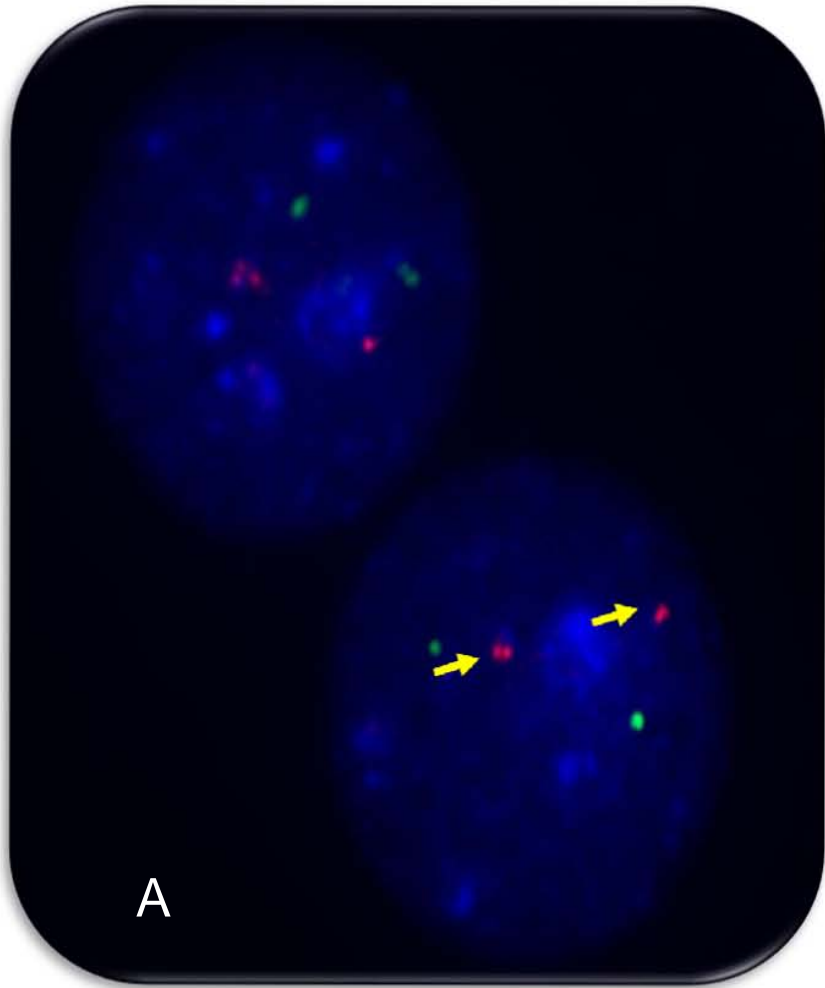


Figura 17 FISH con sonda TUPLE1 y N25, negativo para **SD22q11.2**.

Tabla 3 Resultados de la técnica de FISH con la sonda TUPLE1, nomenclatura de ISCN (2016) en pacientes positivos para el **SD22q11.2**.

Pacientes	ISCN
1	46,XX.ish del(22)(q11.2)(TUPLE1-),22q13.3(ARSAx2). nucish del(22)(q11.2)(TUPLE1-),22q13.3(ARSAx2).
2	46,XY.ish del(22)(q11.2)(TUPLE1-),22q13.3(ARSAx2). nucish del(22)(q11.2)(TUPLE1-),22q13.3(ARSAx2).
3	46,XX.ish del(22)(q11.2)(TUPLE1-),22q13.3(ARSAx2). nucish del(22)(q11.2)(TUPLE1-),22q13.3(ARSAx2).
4	46,XX.ish del(22)(q11.2)(TUPLE1-),22q13.3(ARSAx2). nucish del(22)(q11.2)(TUPLE1-),22q13.3(ARSAx2).
5	46,XY.ish del(22)(q11.2)(TUPLE1-),22q13.3(ARSAx2). nucish del(22)(q11.2)(TUPLE1-),22q13.3(ARSAx2).
6	46,XY.ish del(22)(q11.2)(TUPLE1-),22q13.3(ARSAx2). nucish del(22)(q11.2)(TUPLE1-),22q13.3(ARSAx2).
7	46,XY.ish del(22)(q11.2)(TUPLE1-),22q13.3(ARSAx2). nucish del(22)(q11.2)(TUPLE1-),22q13.3(ARSAx2).
8	46,XY.ish del(22)(q11.2)(TUPLE1-),22q13.3(ARSAx2). nucish del(22)(q11.2)(TUPLE1-),22q13.3(ARSAx2).
9	46,XX.ish del(22)(q11.2)(TUPLE1-),22q13.3(ARSAx2). nucish del(22)(q11.2)(TUPLE1-),22q13.3(ARSAx2).
10	46,XX.ish del(22)(q11.2)(TUPLE1-),22q13.3(ARSAx2). nucish del(22)(q11.2)(TUPLE1-),22q13.3(ARSAx2).
11	46,XY.ish del(22)(q11.2)(TUPLE1-),22q13.3(ARSAx2). nucish del(22)(q11.2)(TUPLE1-),22q13.3(ARSAx2).
12	46,XY.ish del(22)(q11.2)(TUPLE1-),22q13.3(ARSAx2). nucish del(22)(q11.2)(TUPLE1-),22q13.3(ARSAx2).
13	46,XY.ish del(22)(q11.2)(TUPLE1-),22q13.3(ARSAx2). nucish del(22)(q11.2)(TUPLE1-),22q13.3(ARSAx2).

*Tabla 4 Resultados de la técnica de FISH con la sonda TUPLE1 y N25, nomenclatura de ISCN (2016) en pacientes negativos para el SD22q11.2.*

<b>Pacientes</b>	<b>TUPLE 1</b>	<b>N25</b>
<b>1</b>	46,XY.ish 22q11.2(TUPLE1x2),22q13.3(ARSAx2). nucish 22q11.2(TUPLE1x2),22q13.3(ARSAx2).	46,XY.ish 22q11.2(N25x2),22q13.3(ARSAx2). nucish 22q11.2(TUPLE1x2),22q13.3(ARSAx2).
<b>2</b>	46,XY.ish 22q11.2(TUPLE1x2),22q13.3(ARSAx2). nucish 22q11.2(TUPLE1x2),22q13.3(ARSAx2).	46,XY.ish 22q11.2(N25x2),22q13.3(ARSAx2). nucish 22q11.2(TUPLE1x2),22q13.3(ARSAx2).
<b>3</b>	46,XX.ish 22q11.2(TUPLE1x2),22q13.3(ARSAx2). nucish 22q11.2(TUPLE1x2),22q13.3(ARSAx2).	46,XX.ish 22q11.2(N25x2),22q13.3(ARSAx2). nucish 22q11.2(TUPLE1x2),22q13.3(ARSAx2).
<b>4</b>	46,XY.ish 22q11.2(TUPLE1x2),22q13.3(ARSAx2). nucish 22q11.2(TUPLE1x2),22q13.3(ARSAx2).	46,XY.ish 22q11.2(N25x2),22q13.3(ARSAx2). nucish 22q11.2(TUPLE1x2),22q13.3(ARSAx2).
<b>5</b>	46,XY.ish 22q11.2(TUPLE1x2),22q13.3(ARSAx2). nucish 22q11.2(TUPLE1x2),22q13.3(ARSAx2).	46,XY.ish 22q11.2(N25x2),22q13.3(ARSAx2). nucish 22q11.2(TUPLE1x2),22q13.3(ARSAx2).
<b>6</b>	46,XY.ish 22q11.2(TUPLE1x2),22q13.3(ARSAx2). nucish 22q11.2(TUPLE1x2),22q13.3(ARSAx2).	46,XY.ish 22q11.2(N25x2),22q13.3(ARSAx2). nucish 22q11.2(TUPLE1x2),22q13.3(ARSAx2).
<b>7</b>	46,XY.ish 22q11.2(TUPLE1x2),22q13.3(ARSAx2). nucish 22q11.2(TUPLE1x2),22q13.3(ARSAx2).	46,XY.ish 22q11.2(N25x2),22q13.3(ARSAx2). nucish 22q11.2(TUPLE1x2),22q13.3(ARSAx2).
<b>8</b>	46,XX.ish 22q11.2(TUPLE1x2),22q13.3(ARSAx2). nucish 22q11.2(TUPLE1x2),22q13.3(ARSAx2).	46,XX.ish 22q11.2(N25x2),22q13.3(ARSAx2). nucish 22q11.2(TUPLE1x2),22q13.3(ARSAx2).
<b>9</b>	46,XX.ish 22q11.2(TUPLE1x2),22q13.3(ARSAx2). nucish 22q11.2(TUPLE1x2),22q13.3(ARSAx2).	46,XX.ish 22q11.2(N25x2),22q13.3(ARSAx2). nucish 22q11.2(TUPLE1x2),22q13.3(ARSAx2).
<b>10</b>	46,XY.ish 22q11.2(TUPLE1x2),22q13.3(ARSAx2). nucish 22q11.2(TUPLE1x2),22q13.3(ARSAx2).	46,XY.ish 22q11.2(N25x2),22q13.3(ARSAx2). nucish 22q11.2(TUPLE1x2),22q13.3(ARSAx2).



## DISCUSIÓN

El SD22q11.2 es causado por una microdelección intersticial de 1.5 a 3 Mb en la banda q11.2 del brazo largo del cromosoma 22, es considerada la delección más frecuente en los seres humanos con una prevalencia de 1/4000 nacidos vivos. Se han reportado más de 180 características clínicas, no todas las manifestaciones clínicas se presentan en el 100% de los casos porque el SD22q11.2 presenta penetrancia y expresión variable por lo que no ha sido posible establecer un diagnóstico certero por manifestaciones clínicas.

En este trabajo el objetivo principal era diagnosticar el SD22q11.2 mediante el estudio citogenético molecular de FISH utilizando las sondas comerciales TUPLE1 y/o N25, sin embargo, no podíamos dejar de mencionar las características clínicas que se observaron y compararlas con lo estudiado en otras investigaciones.

En estudios realizados del SD22q11.2 en América en población hispana, la cardiopatía congénita es una de las manifestaciones clínicas que se reporta con mayor frecuencia, Repetto, en 2009, estudió 208 pacientes chilenos reportó el hallazgo de 59.6% de cardiopatías, Botto, en 2003, realizó un estudio poblacional y reportó la presencia de alteraciones cardiacas en el 81%. En México un estudio realizado en el Hospital Infantil Federico Gómez (Márquez-Avila *et al.*, 2015) reportó un 97% de anomalías cardiacas, en nuestro estudio ninguno de nuestros pacientes presentó alteración cardiaca, esto podría deberse a que el Hospital Infantil es un centro de referencia para el manejo quirúrgico de cardiopatías congénitas en tanto que en el INR por protocolo si llega un paciente con alteración cardiaca es referido al Instituto de Cardiología por lo tanto los defectos cardiacos no forman parte de las característica cruciales para sospechar de SD22q11.2 en los pacientes que acuden al INR y nuestra población podría estar dentro del 30% de pacientes con SD22q11.2 que no presentan cardiopatía y que el motivo principal de consulta son las alteraciones de lenguaje y del habla asociadas a alteraciones palatinas sí son causa referente de consulta.

De las alteraciones palatinas, la incidencia de paladar hendido ha sido reportada en la población con SD22q11.2 con un amplio rango, con una incidencia baja de 8% (Swillen, 1999) y una tan alta como 85-98% (Thomas, 1997) esta variación podría depender del modo de

comprobación. En general la mayoría de los estudios reportan un rango entre el 40 al 70%. En nuestros pacientes, la alteración palatina que se presentó con mayor frecuencia fue el PHS que se observó en un 54% (7 pacientes), seguido de la IVF en un 23% (3 pacientes), el PH en un 15% (2 pacientes) y en una proporción igual al 8% la UB, LPH y InV, tres de los pacientes tuvieron un paladar normal 23% pero uno de ellos fue el que presentó la incompetencia velofaríngea izquierda, tal vez como consecuencia de que también presentó hemiparálisis del lado izquierdo. Al respecto, Repetto en 2009, solo reportó insuficiencia velofaríngea en 20.9% en su población estudiada. En la población de pacientes estudiada en el Hospital Infantil de México (Márquez-Avila *et al.*, 2015) no reportaron como un hallazgo clínico anomalías velofaríngeas, pero sí observaron paladar hendido submucoso en 72% (33 de 46 pacientes) una frecuencia más alta con respecto a la encontrada en nuestros pacientes que fue 54% (7 de 13 pacientes), sin embargo, ellos observaron paladar hendido en 9% (4 de 46 pacientes) y nosotros en un 15% (2 de 13 pacientes) una frecuencia mayor, esto podría deberse a la diferencia del tamaño de población y los criterios de inclusión para cada estudio.

Una de las características clínicas observada en nuestros pacientes, que forma parte de las 180 características asociadas al SD22q11.2 y que podrían tener relevancia en nuestra población, son las alteraciones de nariz, sobre todo la punta bulbosa que se observó en 77%, narinas antevertidas o hipoplásicas en 85% y el puente nasal deprimido en 46%, éstas junto con las alteraciones palatinas como el paladar hendido submucosos (54%), paladar hendido (15%), la úvula bífida (8%), la insuficiencia velofaríngea (23%), además de las alteraciones de los pabellones auriculares (tamaño, forma y posición) y las alteraciones de lenguaje, podrían ser rasgos clínicos específicos para sospechar del SD22q11.2.

A todos los pacientes se les realizó cariotipo con la técnica de bandas GTG y todos resultaron normales, pero hay que tener en cuenta que con esta técnica de citogenética convencional sólo se pueden observar deleciones mayores de 4Mb. Sin embargo, era importante realizarla para descartar que los pacientes no tuvieran un rearrreglo cromosómico asociado al SD22q11.2 ya sea *de novo* o heredado por alguno de sus progenitores.

Los informes iniciales de los estudios con FISH en la detección del SD22q11.2 reportaban una tasa de precisión del 80%, pero actualmente estas pruebas de FISH son precisas en el 99.9%

de los casos. (Shprintzen, 2005). Entonces si en un paciente el FISH para el SD22q11.2 es negativo, no tiene SD22q11.2, pero si la microdelección está presente, entonces el paciente tiene SD22q11.2.

De 34 pacientes que fueron enviados con probable SD22q11.2, al realizar el análisis citogenético molecular con FISH utilizando la sonda TUPLE1 que identifica la delección de 3MB, veintiún (62%) pacientes resultaron negativos y trece (38%) positivos para el SD22q11.2, a los pacientes que resultaron negativos para microdelección 22q11.2 se les realizó el FISH usando la sonda N25 que identifica la microdelección de 1.5MB, los 21 pacientes resultaron negativos para el SD22q11.2. Por lo que es necesario que siempre que se sospeche del SD22q11.2 realizar el análisis citogenético molecular con la técnica de FISH utilizando las diferentes sondas que existen comercialmente: TUPLE1 o N25, y de existir una cardiopatía congénita se podría utilizar la sonda comercial de la secuencia única para el gen *TBX1* que podría ser un factor importante para la detección de pacientes con cardiopatía congénita y la microdelección 22q11.2.

Además, es importante realizar los estudios de cariotipo por la técnica convencional y el análisis molecular por FISH utilizando la sonda TUPLE1 en los padres de los pacientes que tienen el SD22q11.2 para descartar si la microdelección es *de novo* o heredada por alguno de sus progenitores es decir una herencia autosómica dominante, el tener esta información es de suma importancia para que el médico genetista proporcione el asesoramiento genético adecuado.



## CONCLUSIONES

- El análisis citogenético molecular de FISH utilizando la sonda TUPLE1 abarca la microdelección de 3Mb, que funcione como estudio preliminar para el diagnóstico de SD22q11.2 en pacientes con sospecha del SD22q11.2. De resultar negativo, si se puede realizar el FISH utilizando la sonda N25 o la TBX1.
- La prueba FISH utilizando la sonda N25 es una prueba confirmativa para el diagnóstico SD22q11.2 presenta la deleción por presentar genes sobrelapados que solo la identifica esta sonda.
- El diagnóstico certero del SD22q11.2 realizando estas pruebas es relevante para que el medico genetista proporcione el asesoramiento genético, además de que un grupo multidisciplinario de especialista proporciones el bordaje necesario al paciente.
- Existe otros métodos como el PCR tiempo real, MLPA o CGH-microarreglos que nos pueden proporcionar la localización de los puntos de ruptura y el tamaño preciso de la microdelección e incluso detectar microdeleciones atípicas, sin embargo el estudio citogenético molecular de FISH es costeable por lo que se le sigue considerado estándar para el diagnóstico certero del SD22q11.2.

## ANEXO .

### DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

- Se trata de un estudio observacional, descriptivo y transversal.

### UNIVERSO DE TRABAJO

Se realizó la revisión de bitácoras de resultados del Laboratorio de Citogenética Molecular del año 2015 y se seleccionaron aquellos pacientes que fueron enviados con probable **SD22q11.2**. A los pacientes seleccionados y a todos los pacientes con probable **SD22q11.2** que acudieron al Servicio de Genética del Instituto Nacional de Rehabilitación de enero del 2016 a diciembre del 2017 se les realizó el estudio de FISH utilizando la sonda comercial TUPLE1, cuando el resultado fue negativo, se les realizó el estudio de FISH usando la sonda comercial N25. En todos los casos se realizó una revisión de los expedientes clínicos electrónicos, capturando los datos clínicos relevantes para la realización de la relación fenotipo-genotipo.

### CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Pacientes con probable **SD22q11.2**
- Cualquier género
- Cualquier edad
- Pacientes menores de edad en los que sus tutores aceptaron su participación en el estudio mediante su autorización en la carta de consentimiento informado.
- Pacientes adultos que aceptaron participar en el estudio mediante su autorización a través de la carta de consentimiento informado.

### CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Pacientes cuyo fenotipo fue diferente al **SD22q11.2**.
- Pacientes cuyo cariotipo de bandas GTG resultó con otro tipo de alteración cromosómica.
- Pacientes que no aceptaron participar en el estudio.

➤ **TAMAÑO DE MUESTRA**

- Se realizó, por conveniencia, en pacientes que acudieron al Servicio de Genética y se diagnosticaron como probable **SD22q11.2**.

**VARIABLES DE ESTUDIO**

<b>NOMBRE</b>	<b>DEFINICIÓN OPERACIONAL</b>	<b>ESCALA DE MEDICIÓN</b>
NOMBRE	Denominación individual de acuerdo al registro de cada paciente	Nominal
REGISTRO	Número asignado por parte del archivo para el expediente clínico.	Nominal
SEXO	Pertenencia de género, donde M es masculino y F femenino.	Categórica dicotómica
EDAD	Tiempo transcurrido en años y meses desde el nacimiento hasta el ingreso del estudio	Cuantitativa continua
FACIES SUGESTIVA	Características típicas del SD22q11.2 presentes: epicanto hipertelorismo ptosis palpebral puente nasal deprimido nariz bulosa alas nasales hipoplásicas tipo de filtrum implantación baja de pabellones auriculares. pabellones auriculares en asa hélix rotados y/o plegados paladar hendido paladar hendido submucoso insuficiencia velofaríngea úvula bífida comisuras labiales descendidas boca pequeña retrognatia	Categórica
CARIOTIPO	Complemento cromosómico de un individuo. Fotografía de los cromosomas apareados según la clasificación ISCN 2016. 46,XX. o 46,XY.	Categórica dicotómica

MICRODELECIÓN 22q11.2	Perdida de la región cromosómica q11.2 de uno de los cromosomas 22 confirmada mediante FISH. Positivo o Negativo	Categoría dicotómica
--------------------------	--	----------------------

## REACTIVOS

- Medio de Cultivo PB-Max
- Colchicina (10mg/mL) No.CAS 64-86-8
- L-Glutamina No. CAS 56-85-9
- Timidina SIGMA No. CAS 365-08-02
- Fitohemaglutinina No. CAS 9008-97-3
- Solución Hipotónica KCL 0.075M
- Fijador Carnoy ( 3:1 Metanol No.CAS 67-56-1, Acido acético No.CAS 64-19-7)
- Etanol No. CAS 64-17-5
- Agua Destilada Millipore Elix No.CAS 7732-18-5
- Tripsina No. CAS 9002-07-7
- Solución Buffer de Sorensen pH 6.8
- Colorante Giemsa líquido SIGMA No. CAS 51811-82-6
- Colorante Wrigth líquido SIGMA No. CAS 68988-92-1
- Entellan
- Xilol No. CAS 1330-20-7
- Solución Salina Doble Citratos
- NP 40 No. CAS 9016-45-9
- Etanol 70% 85% y 100% No. CAS 64-17-5
- Sonda Vysis TUPLE1 y N25
- DAPI-Antifade de Q-Biogene

## TÉCNICA DE CULTIVO Y COSECHA DE LINFOCITOS EN SANGRE PERIFÉRICA.

1. Para dar un buen uso, manejo y procesamiento adecuado a la muestra de sangre venosa periférica, el cultivo se realiza en la campana de flujo laminar, la persona que lo realizó utilizó bata, cubre bocas y guantes durante el proceso para evitar contaminación
2. En un tubo de polipropileno estéril de 15 mL rotulado con la fecha, nombre y número de caso del paciente, se colocaron 4.5 mL de medio de cultivo (RPMI 1640) suplementado con 0.5 mL suero bovino fetal, 0.1 mL de antibióticos (penicilina/estreptomicina), 0.1 mL de L-glutamina, 0.1 mL de fitohemaglutinina, 0.1 mL de timidina y 1 mL de la muestra de sangre. Se incubó a 37° C durante 70 horas. La muestra se trabajó por duplicado.
3. Cumplidas las 70 horas de incubación, se adicionaron 70 µL de solución de colchicina al 0.02 %. Se incubó a 37°C por 30 min. Se centrifugaron los tubos a 1900 rpm durante 10 min. Se decantó el sobrenadante y resuspendió el botón.
4. El tubo con la muestra se agitó en el vórtex y se aforó a 10 ml con solución hipotónica (KCL 0.075 M) a 37°C. Se dejó en la incubadora durante 30 min a 37°C.
5. La prefijación del cultivo se llevó a cabo agregando 10 gotas de fijador recién preparado (metanol-ácido acético 3:1). Se dejó reposar 10 min a temperatura ambiente. Se centrifugó a 1900 rpm durante 10 min. Se decantó el sobrenadante y resuspendió en 5 mL de fijador. Esta operación se repitió cuantas veces fue necesario para obtener un botón blanco y un sobrenadante claro (aproximadamente 3 veces).
6. Para hacer laminillas: se decantó el sobrenadante y al botón blanco se le adicionaron de 1-2 ml de fijador para resuspender, se tomó con la pipeta Pasteur y se dejaron caer 3 gotas sobre cada laminilla limpia, fría, húmeda y marcada con el número de caso. Se dejó secar a temperatura ambiente.

7. La laminilla se observó al microscopio en contraste de fases, para ver si hubo un buen crecimiento. Si hubo un buen índice mitótico se realizaron laminillas que se utilizaron para la realización de la técnica de bandas GTG y FISH.

## **BANDAS GTG**

1. Las preparaciones cromosómicas para bandas G se “envejecieron” en la estufa a 90°C por una hora.
2. Las laminillas se colocaron en una solución amortiguadora de fosfatos pH 6.8 con tripsina 0.25 EDTA en baño maría a 37°C, por un lapso de 1-15 segundos (los tiempos son variables dependiendo del envejecimiento de las laminillas), se determinó el tiempo de tripsinización por cada caso.
3. Las laminillas se lavaron con solución amortiguadora de fosfatos pH 6.8.
4. Las laminillas se tiñeron de 1-2 min. en colorante Wright (10 ml. de solución stock de Wright y 40 ml de solución amortiguadora de fosfatos pH 6.8).
5. Las laminillas se tiñeron de 2-5 minutos en Giemsa (3 ml de solución stock de Giemsa y 47 ml de buffer de fosfatos pH 6.8).
6. Las laminillas se lavaron con agua corriente y se dejaron secar.
7. Las laminillas se montaron con entellan y se analizaron.
8. Se analizaron 25 metafases en relación al número y estructura cromosómica en un microscopio óptico Carl Zeiss Imager a un aumento de 100X.
9. Se tomaron y almacenaron un mínimo de 5 fotografías digitales de metafases en el disco duro de la computadora que está conectada al microscopio.
10. Se armó el cariograma empleando el software Ikaros de Metasystems.

11. Los resultados se anotaron en la libreta de registro de pacientes del Laboratorio de Citogenética. Se elaboraron los reportes con los datos del paciente y el resultado del cariotipo empleando la nomenclatura de ISCN, 2016. Se imprimieron 3 copias del cariograma que fueron entregados al médico genetista correspondiente.

### **Técnica de Hibridación *in situ* por Fluorescencia (FISH).**

1. Pre-tratamiento: se colocaron las laminillas en un vaso Coplin de 50mL con la solución 2XSSC/0.5%NP40 a 37°C por 15 min.
2. Las laminillas se deshidrataron con los alcoholes graduales (70%, 85% y 100%) 2 min en cada uno. Se dejaron secar al aire.
3. Posteriormente a las laminillas se les colocó la mezcla de la sonda elegida, se cubrieron con cubreobjetos de 22x22 y se sellaron con cemento iris.
4. Se dejaron desnaturalizando a 75°C durante 10 minutos (Thermo-Brite).
5. Se incubaron en una cámara húmeda por 24 horas a 37°C (Thermo-Brite)
6. Se retiró el cemento iris con cuidado y se colocaron las laminillas en un vaso Coplin de 50ml con solución 2XSSC/0.1% NP40 durante 2 min a temperatura ambiente.
7. Las laminillas se lavaron en la solución 0.4XSSC/0.3%NP40 durante 2 min a 72°C sin agitación. Se calculó que por cada laminilla que se colocó en el Coplin, la temperatura se bajó un grado centígrado aproximadamente.
8. Las laminillas se lavaron en la solución 2XSSC/0.1%NP40 durante 1 min a temperatura ambiente.
9. Las laminillas se deshidrataron con alcohol (70%, 85% y 100%) por 1 min.

10. Las laminillas se dejaron secar al aire protegidas de la luz.

11. A las laminillas se realizó la contra tinción con DAPI-Antifade 1:1. Se les colocaron los cubreobjetos de 22x22.

12. Las laminillas se analizaron en microscopio Carl Zeiss Imager de fluorescencia con filtros para triple banda a un aumento de 100X,

13. Se describió lo observado de acuerdo a la nomenclatura de ISCN, 2016.



## PREPARACIÓN DE REACTIVOS PARA ANÁLISIS CITOGENÉTICOS.

### COLCHICINA 0.02 %.

- Colchicina 0.02 g.
- Agua destilada estéril 100 mL

### SOLUCIÓN HIPOTÓNICA DE KCL 0.0375 M.

- KCL 2.80 g.
- Agua destilada 1.0 Lt.

### FIJADOR DE CARNOY. (METANOL-ACIDO ACETICO 3:1)

- Metanol 75 mL
- Ácido acético 25 mL

### BUFFER DE FOSFATOS pH 6.4

- Fosfato de Potasio Monobásico  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  6.63 g.
- Fosfato de Sodio Dibásico  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  2.56 g.
- Agua destilada 1.0 Lt.

### TRIPSINA

- Tripsina US Biological 0.03 g
- Buffer pH 6.8 50 mL

### COLORANTE GIEMSA

- Solución Giemsa 5 mL
- Buffer pH 6.8 45 mL

### COLORANTE WRIGHT

- Solución Wrigth 10 mL
- Buffer pH 6.8 40 mL

## PREPARACIÓN DE REACTIVOS PARA HIBRIDACION *IN SITU* CONFLUORESCENCIA

### SOLUCIÓN DE PRE-TRATAMIENTO 2XSSC/0.5% NP40 ajustar Ph: 7.0

- 20XSSC 10 ml
- Agua destilada 90 ml
- NP40 500 ul

### SOLUCIÓN 2XSSC/0.1% NP40 AJUSTAR Ph: 7.0

- 20XSSC 10 ml
- Agua destilada 90 ml
- NP40 100 ul

### SOLUCIÓN 0,4XSSC/0.3% NP40 AJUSTAR Ph: 7.0

- 20XSSC 2 ml
- Agua destilada 98 ml
- NP40 300 ul

### SONDA VYSIS DiGeorge REGIÓN LSI TUPLE1

- Buffer de Hibridación 7 ul
- Agua inyectable 1 ul
- Sonda 0.5 ul

### CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

México D.F. a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20 \_\_\_\_\_.

A quien corresponda:

Por medio de la presente hago de su conocimiento que he dado mi consentimiento para participar en el estudio "**Estudio Citogenético Molecular utilizando la Técnica de FISH en Pacientes con Probable Síndrome de Deleción 22q11.2**" que realizará en el laboratorio de Medicina Genómica del Centro Nacional de Investigación y Atención a Quemados del Instituto Nacional de Rehabilitación lo cual he aceptado libre y voluntariamente. He sido informado sobre el procedimiento del estudio que consiste en la extracción de 5 ml de sangre por punción de una vena periférica del brazo, pudiendo existir como complicación la formación de un pequeño moretón o hematoma. Tengo el entendimiento que de este estudio se obtendrá como beneficio el desarrollo de procedimientos diagnósticos más eficaces y un mejor conocimiento para el manejo de mi enfermedad. Así mismo, autorizo el que se realice un registro escrito o gráfico (fotografías y/o video) del proceso, estoy de acuerdo que, de la información obtenida, podrán obtenerse; publicaciones en revistas científicas, presentaciones en congresos y/o conferencias, siendo en forma anónima y responsable, por lo cual no habrá remuneración alguna, ya sea por el uso o por la publicación de la información. La información obtenida será confidencial y quedo en el entendimiento que de este estudio se obtendrá un gran beneficio en el estudio genéticoSD22q11.2, por otra parte, estoy en libertad de retirarme del estudio en el momento que lo desee sin que esto modifique la calidad de atención médica que reciba.

**NOMBRE DEL PACIENTE:** \_\_\_\_\_.

**FECHA DE NACIMIENTO:** \_\_\_\_\_ **EDAD:** \_\_\_\_\_.

**CARNET:** \_\_\_\_\_ **FIRMA:** \_\_\_\_\_.

#### PADRES O TUTORES

**NOMBRE:** \_\_\_\_\_ **FIRMA:** \_\_\_\_\_.

**NOMBRE:** \_\_\_\_\_ **FIRMA:** \_\_\_\_\_.

**TELEFONOS:** \_\_\_\_\_.

**Jefe Del Servicio de Genética y Genómica.**

**Dr. Norberto Leyva García.**

\_\_\_\_\_

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allgrove, J., Baker, K., Baxendale, H., Bu'Lock, F., Waardt, D., Firth, H. 2014. Documento de consenso sobre el síndrome de deleción 22q11 (SD22q11). MaxAppeal. 1-68.
- Bassett, AS., McDonald-McGinn, DM., Devriendt, K. 2011. Practical Guidelines for Managing Patients with 22q11.2 Deletion Syndrome. *Journal of Pediatrics*, 2: 332–339.
- Baud, P., Courtet, P., Perroud, N., Jollant, F., Buresi, C., Malafosse, A. 2007. Catechol-Omethyltransferase polymorphism (COMT) in suicide attempters: a possible gender effect on anger traits. *American Journal of Medical Genetics Part B*, 5: 1042–1047.
- Bejjani, BA., Theisen, AP., Ballif, BC., Shaffer, LG. 2005. Array based comparative genomic hybridization in clinical diagnosis. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 3: 421-429.
- Birge, RB., Kalodimos, C., Inagaki, F., Tanaka, S. 2009. Crk and CrkL adaptor proteins: networks for physiological and pathological signaling. *Cell Commun Signal*. 7:1-23
- Botto, LD., May, K., Fernhoff, PM. 2003. A population-based study of the 22q11.2 deletion: phenotype, incidence, and contribution to major birth defects in the population. *Journal of Pediatrics*, 112: 101–107.
- Bueno, M., Pérez, J. M., Bueno, O. 2000. El cromosoma 22. *Canarias Pediatría*, 24:17-22.
- Butts, SC. 2009. The facial phenotype of the velo-cardio-facial. *ELSEVIER*. 73:343-350.
- Calati, R. 2011. Catechol-o-methyltransferase gene modulation on suicidal behavior and personality traits: review, meta-analysis and association study. *Journal of Psychiatric*, 45:309–321.
- Campo, CM., García, RL., Quero, AD. 1996. CATCH-22: Implicaciones actuales de la microdeleción en 22q11. *Anales Españoles de Pediatría*, 45:341-345.
- Carrozzo, R., Rossi, E., Christian, SL., Kittikamron, K., Livieri, C., Corrias, A., Pucci, L., Fois, A., Simi, P., Bosio, L., Beccaria, L., Zuffardi, O. Ledbetter, DH. 1997. Inter- and intrachromosomal rearrangements are both involved in the origin of 15q11-q13 deletions in Prader-Willi syndrome. *American Journal Human Genetics*, 61:228-31.
- Cayler, GG. 1969. An “epidemic” of congenital facial paresis and heart disease. *Journal of Pediatrics*, 40: 666-1967

- Cheng, WW., Jia, CX., Pan, YF., Zhao, S.Y., Jia, G.Y., Hu, M.H., 2006. The relationship between gene polymorphism of catechol-O-methyltransferase and survival of oral pesticides suicide attempters. *PubMed Journals*, 45: 403–405.
- Christian, S.L., Fantes, JA., Mewborn, SK., Huang, B., Ledbetter, DH. 1999. Large genomic duplications on 15q11-q13 in the Prader-Willi/Angelman syndrome chromosome region (15q11-q13). *Human Molecular Genetics*, 8:1025-1037.
- Christina, R., Fagerberg, JG., Ulrike, D., Heinl, LB., Ousager, ID., Andres, A., Rasmussen, CK., Lautrup, NB., Keld, S. 2013. Heart defects and other features of the 22q11 distal deletion syndrome. *ELSEVIER* 56: 98-107.
- Coelho, MM., Paiva, VT., Sgardioli, IC. 2013. Atypical copy number abnormalities in 22q11.2 region: Report of three cases *European Journal of Medical Genetics*. 56: 515-520.
- Colilla, S. 2005. Association of catechol-O-methyltransferase with smoking cessation in two independent studies of women. *Pharmacogenet. Genomics* 15: 393–398
- Crespi, B., Badcock, C., 2008. Psychosis and autism as diametrical disorders of the social brain. *Behavioral and Brain Sciences*, 3: 241–261
- Delgado, A., Gala, Guillen., Campoizina. 2012. Asesoramiento genético en la práctica médica. España. Panamericana.
- Delio, M., Guo, T., McDonald-McGinn, DM. 2013. Enhanced Maternal Origin of the 22q11.2 Deletion in Velocardiofacial and DiGeorge Syndromes. *American Journal of Human Genetics*, 92: 439–447.
- Demczuk, S., Aledo, R., Zucman, J., Delattre, O., Desmaze, C., Dauphinot, L., Jalbert, P., Rouleau, GA., Thomas, G., Aurias, A. 1995a. Cloning of a balanced translocation breakpoint in the DiGeorge syndrome critical region and isolation of a novel potential adhesion receptor gene in its vicinity. *Human Molecular Genetics*, 4:551-558.
- Demczuk, S., Levy, A., Aubry, M., Croquette, MF., Philip, N., Prieur, M., Sauer, U., Bouvagnet, P., Rouleau, GA., Thomas, G., Aurias, A. 1995b. Excess of deletions of maternal origin in the DiGeorge/velo-cardio-facial syndromes: A study of 22 new patients and review of the literature. *Human Genetics* 96: 9-13.
- Desmaze, C., Prieur, M., Amblard, F., Aikem, M., LeDeist, F., Demczuk, S., Zucman, J., Plougastel, B., Delattre, O., Croquette, MF., Breviere, GM., Huon, C., Le Merrer, M., Mathieu, M., Sidi, D., Stephan, JL., Aurias, A. 1993. Physical mapping by FISH of the

DiGeorge critical region (DGCR): involvement of the region in familial cases. *American Journal Human Genetics* 53:1239-1249.

- DiGeorge, AM. 1968. Congenital absence of the thymus and its immunologic consequences: concurrence with congenital hypoparathyroidism. White Plains, NY: March of Dimes-Birth Defects Foundation.1: 116-121
- Digilio, MC., Marino, B., Capolino, R., Dallapiccola B.2005. Clinical manifestations of Deletion 22q11.2 syndrome (DiGeorge/Velo-Cardio-Facial syndrome). *Images Paedistr Cardiol.* 2: 23-34.
- Donna, CL., Tony, JS., Wendy, K. 2007. Introduction to education and the Neurocognitive profile. Donna Cutler–Landsman Education Children with Velo-Cardio-Facial Syndrome. United State of America. Editor Plural Publishing- Inc San Diego Oxford Brisbane. Chapter 2, 15-35
- Driscoll, DA., Budarf, ML., Emanuel, BS. 1992. A genetic etiology for DiGeorge syndrome: consistent deletions and microdeletions of 22q11. *American Journal Human Genetics* 50:924-933.
- Ehrlich, S.2010. The COMT Val108/158Met polymorphism and medial temporal lobe volumetry in patients with schizophrenia and healthy adults. *Neuroimage* 53:992–1000.
- Eliez, S., 2007. Autism in children with 22q11.2 deletion syndrome. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry* 4:433–434
- Feero, WG., Guttmacher, AE., Collins, FS. 2010. Genomic Medicine-An Update Primer. *N England Journal Mededical.*362: 2001-2011.
- Feller, SM.2001. Crk family adaptors-signalling complex formation and biological roles. *Oncogene* 20:6348-71.
- Fiksinski, A.M.2017. Autism Spectrum and psychosis risk in the 22q11.2 deletion syndrome. Findings from a prospective longitudinal study, *Schizophr. Res.*
- Fokstuen, S., Vrticka, K., Riegel, M. 2001. Velofacial hypoplasia (Sedlackova syndrome): a variant of Velocardiofacial (Shprintzen) syndrome and part of the phenotypical spectrum of del22q11.2. *Europe Jornal Pediatrics.*160: 54-57.
- Friedman, MA., Miletta, N., Roe, C., Wang, D., Morrow, BE., Kates, WR., Higgins, M., Shprintzen, RJ. 2011. Cleft palate, retrognathia and congenital heart disease in velo-cardio-facial syndrome: A phenotype correlation study. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology* 75:1167-1172.

- Funato, N., Nakamura, M., Richardson, JA. 2012. Tbx1 regulates oral epithelial adhesion and palatal development. *Human Molecular Genetics*, 21:2524–2537
- Gallego, GGA., Trujillo, VCM., Garcés, SCG., Muñetón, PCM., Orrego, AJC., Franco, R.JL. 2011. Evaluación citogenética y de pérdida de la heterocigosidad de la región 22q11.2 en pacientes con el Síndrome de DiGeorgelatrea. *latreia*, 24(3), 229-237. Retrieved April 19, 2018, from [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S012107932011000300001&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S012107932011000300001&lng=en&tlng=es).
- García, PS., Costa, AR., Tajara, EH., Carvalho-Salles, AB., Fett, AC. 2007. Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) screening for the 22q11.2 deletion in patients with clinical features of Velocardiofacial syndrome but without cardiac anomalies. *Genetics and Molecular Biology* 30: 21-24.
- Glaser, B. 2002 Language skills in children with velocardiofacial syndrome (deletion 22q11.2). *Journal Pediatrics*.; 140:753–758.
- Goodman, BK., Rutberg, J., Lin, WW., Pulver, AE., Thomas, GH. 2000. Hyperprolinaemia in patients with deletion (22)(q11.2) syndrome. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 23:847–848
- Gothelf, D., Frisch, A., Michaelovsky, E. 2009. Velo-Cardio-Facial Syndrome. *Jornal of Mental Health Research Intellectual Disabilities*. 2: 1-14.
- Goudy, S., Lott, J., Canady, RJH., Smith. 2006. Conductive hearing loss and otopathology in cleft palate patients, *Otolaryngol. Head Neck Surg* 134:946-948.
- Grati, FR. 2015. Prevalence of recurrent pathogenic microdeletions and microduplications in over 9500 pregnancies. *Prenatal. Diagnostics* 35:801–809
- Guna, A., Butcher, NJ., Bassett, AS. 2015. Comparative mapping of the 22q11.2 deletion región the potential of simple model organisms. *Open Access* 7:18.
- Guris, DL., Fantes, J., Tara, D., Druker, BJ., Imamoto, A. 2001. Mice lacking the homologue of the human 22q11.2 gene CRKL phenocopy neurocristopathies of DiGeorge syndrome. *Nature Genetics*, 27:293-8.
- Habel, A., Herriot, R., Kumararatne, D., Allgrove, J., Baker, K., Baxendale, Bu´Lock, F., Firth, H., Gennery, A., Holland, A., Illingworth, C., Mercer, N., Pannebakker, M., Parry, A., Roberts, A., Goodman, B. 2014. Towards a safety net for management of 22q11.2 deletion syndrome: guidelines for our times. *Europe Journal Pediatrics* 173: 757-765.

- Hacıhamdioğlu, B., Hacıhamdioglu, D., Delil, K. 2015. 22q11 deletion syndrome: current perspective. *The application of clinical Genetics* :8
- Hajianpour, MJ., Lamb, A., Coyle, M. 1994. Intrafamilial and interfamilial variability of phenotype in familial velo-cardio-facial syndrome. *American Journal Human Genetics*, 55:308
- Hatzimanolis, A. 2013. Potential role of membrane-bound COMT gene polymorphisms in female depression vulnerability. *Journal of Affective Disorders*, 22:851–858
- Hay, BN. 2007. Deletion 22q11: Spectrum of associated disorders. *ELSEVIER* 14:136-139
- Herman, SB., Guo, T., McDonald, DM., McGinn, Blonska, A., Shanske, AL., Bassett, S., Chow, EWC., Bowser, M., Sheridan, M., Beemer, F., Devriend, K., Swillen, A., Jeroen, Breckpot, M., Cristina Digilio, Bruno Marino, Bruno Dallapiccol, Courtney Carpenter, Xin Zheng, Jacob Johnson, Jonathan Chung, Anne Marie Higgins, Nicole Philip, Tony Simon, Karlene Coleman, Damian Heine-Suner, Jordi Rosell, Wendy Kates, Marcella Devoto, Elaine Zackai, Tao Wang, Robert Shprintzen, Beverly S. Emanuel, Bernice E. Morrow. 2012. Overt Cleft Palate Phenotype and TBX1 Genotype Correlations in Velo-cardio-facial/DiGeorge/22q11.2 Deletion Syndrome Patients. *American Journal of Medical Genetic Part A*, 11:2781-2787.
- Holder, SE., Winter, RM., Kamath, S., Scambler, PJ .1993. Velocardio-facial syndrome in a mother and daughter: Variability of the clinical phenotype. *Journal Medical Genetics* 302:325-827.
- Illi, A. 2010. Catechol-O-methyltransferase val108/158met genotype, major depressive disorder and response to selective serotonin reuptake inhibitors in major depressive disorder. *Psychiatry Research*. 176: 85–87.
- Jalali, GR., Vorstman, AS., Errami, Ab., Vijzelaar, R., Biegel, J., Shaikh, T., and Emanuel, BS. 2008. Detailed Analysis of 22q11.2 With a High Density MLPA Probe Set *Human Mutation*, 3 433–440.
- Jerome, L A., & Papaioannou, V. E.2001. DiGeorge syndrome phenotype in mice mutant for the T-box gene, *Tbx1*. *Nature Genetics*, 27: 286–291.
- Jiramongkolchai, P., Kumar, MS., Chinnadurai.2016. Prevalence of hearing loss in children with 22q11.2 deletion syndrome. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*. 87:130-133.



- Kaplan, JC., Aurias, A., Juliers, C., Prieur, M., Szajnert, MF. 1987. Human Chromosome 22. *Journal of Medical Genetics*; 24:65-78.
- Karayiorgou, M., Simon, T.J., Gogos, J.A., 2010. 22q11.2 microdeletions: linking DNA structural variation to brain dysfunction and schizophrenia. *Nature Reviews Neuroscience*, 6: 402–416.
- Karpinski, BA. 2014. Dysphagia and disrupted cranial nerve development in a mouse model of DiGeorge (22q11) deletion syndrome. *Disease Models & Mechanisms*; 7:245–257.
- Kates, W. 2006. What can functional brain imaging tell us about cognition and emotion in VCFS Presentation at the 12th Annual International Scientific Meeting, Strasbourg, France.
- Kelly, D., Goldberg, G., Wilson, D., Lindsay, E., Carey, A., Goodship, J., Burn, J., Cross, I., Shprintzen, RJ., Scambler, PJ. 1993. Confirmation that the velo-cardio-facial syndrome is associated with haplo-insufficiency of genes at chromosome 22q11. *American Journal Medical Genetics*, 45:308-312.
- Kelly, RG. 2012. The second heart field. *Current Topics in Developmental Biology*, 100:33–65
- Keppen, LD., Fasules, JW., Burks, W., Gollin, SM., Sawyer, JR., Miller, CH. 1988. Confirmation of autosomal dominant transmission of the DiGeorge malformation complex. *Journal Pediatr* 113:506-508.
- Kia-Keating, BM., Glatt, SJ., Tsuang, MT. 2007. Meta-analyses suggest association between COMT, but not HTR1B alleles, and suicidal behavior. *American Journal. Medical. Genetics.Part B*, 5:1048–1053.
- Kinouchi, A., Mori, K., Ando, M., Takao, A. 1976. Facial appearance of patients with conotruncal abnormalities. *Acta Paediatrica Japonica* 17:84.
- Kocabas, NA. 2010. The impact of catechol-O-methyltransferase SNPs and haplotypes on treatment response phenotypes in major depressive disorder: a case– control association study. *International Clinical Psychopharmacol.* 25:218–227
- Kok, LL., Solman, RT. 1995. Velocardiofacial syndrome: learning difficulties and intervention. *Journal Medical Genetics*, 32: 612-8.
- Leana-Cox, J., Pangkanon, S., Eanet, KR., Curtin, MS., Wulfsberg, EA.1996. Familial DiGeorge/velocardiofacial syndrome with deletions of chromosome area 22q11.2: report

of five families with a review of the literature. *American Journal of Medical Genet*,4:309-316.

- Lee, HY., Kim, YK. 2011. Gender effect of catechol-O-methyltransferase Val158Met polymorphism on suicidal behavior. *Neuropsychobiology* 63: 177–182.
- Lindsay, EA., Goldberg, R., Jurecic, V., Morrow, B., Carlson, C., Kucherlapati, RS., Shprintzen, RJ., Baldini, A. 1995b. Velo-cardio-facial syn- drome: frequency and extent of 22q11 deletions. *American Journal Medical Genetics* 57:514-522.
- Lindsay, EA., Greenberg, F., Shaffer, LG., Shapira, SK., Scambler, PJ., Baldini, A. 1995a. Submicroscopic deletions at 22q11.2: Variability of the clinical picture and delineation of a commonly deleted region. *American Journal Medical Genetics* 56:191-197.
- Liou, YJ., Tsai, SJ., Hong, CJ., Wang, YC., Lai, IC. 2001. Association analysis of a functional catechol-o-methyltransferase gene polymorphism in schizophrenic patients in Taiwan. *Neuropsychobiology* 43: 11–14.
- Lopes, J., Vandenberghe, A., Tardieu, S., Lonasescu, V., Lévy, N., Wood, N., Tachi, N., Bouche, P., Latour, P., Brice, A., LeGuern, E. 1997. Sex-dependent rearrangements resulting in CMT1A and HNPP. *Nature Genetics*, 17:136-137.
- Lupski, JR. 1998. Genomic disorders: structural features of the genome can lead to DNA rearrangements and human disease traits. *Trends Genetics*, 14:417-422.
- Lyttle, TW. 1993. Cheaters sometimes prosper: Distortion of men- delian segregation by meiotic drive. *Trends Genetics* 9:205-210.
- Márquez, CS., Montoya, I., Mórán, VF., Rojas, MC., Olvera, JL. 2012. Alteraciones fonolológicas en el síndrome Velocardiofacial (delección 22q11.2) presentación de un caso clínico con un arco aórtico cervical derecho. *Revista Mexicana de Comunicación, Audiología, Otoneurología y Foniatría*, 2:126-135.
- Marquez-Avila, CS., Vizcaino-Alarcon, A., Garcia-Delgado, C. 2015. Velocardiofacial syndrome in Mexican patients: Unusually high prevalence of congenital heart disease. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*. 791: 886–1891.
- Matsuoka, R., Takoa, A., Kimura, M., Imamura, S., Kondo, C., Joh-o, K., Ikeda, K., Nishibatake, M., Ando, M., Momma, K. 1994. Confirmation that the conotruncal anomaly face syndrome is associated with a deletion within 22q11.2. *American Journal Medical Genetics*, 53:285-289.

- McDonald-McGinn, DM., Kathleen, E., Sullivan, BM., Nicole, PA., Swillen, JAS., Vorstman, EH., Zackai, BS., Emanuel, Joris R. Vermeesch, Bernice E. Morrow, Peter J. Scambler, and Anne S. Bassett. 2016. 22q11.2 deletion syndrome. *Nature Reviews Diseases Primers* .1: 15071.
- McGowan-Jordan, J., Simons, A., Schmid, M. 2016. Editors. *ISCN An international system for human cytogenetic nomenclature*. New York: Public Karger;
- McLean, SD., Saal, HM., Suinner, NB., Emanuel, BS., Driscoll, DA. 1993. *Il Velo-cardio-facial syndrome: intrafamilial variability of the pheno- type*. *AJDC* 147:1212-1216.
- Mellano C. 2004. *Sindromes por microdelección*. *Revista Chilena Pediatría*. 473-482.
- Moore CM & Best RG. 2001. *Chromosome Mechanics*. En: *Encyclopedia of life Science*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester.
- MRCHolland, 2017. <https://www.mrcolland.com/WebForms/WebFormMain.aspx?Tag= f NPBLedDVp38p-CxU2h0mQ>
- Murphy, KC., Jones, LA., Owen, MJ. 1999. High rates of schizophrenia in adults with velocardio-facial syndrome. *Archives of General Psychiatry* 10: 940–945
- Nedic, G., Nikolac, M., Sziglin, K.N., Muck-Seler, D., Borovecki, F., Pivac, N., 2011. Association study of a functional catechol-O-methyltransferase (COMT) Val108/ 158Met polymorphism and suicide attempts in patients with alcohol dependence. *International Journal Neuropsychopharmacol*. 14: 377–388.
- Nogueira, S., Hacker, AM., Bellucco, FT. 2007. Deletion 22q11.2: Report of a Complex Meiotic Mechanism of Origin. *American Journal of Medical Genetics Paet A*. 15: 1778–1781.
- Nolan, K.A. 2000. Suicidal behavior in patients with schizophrenia is related to COMT polymorphism. *Psychiatric. Genetics*, 10: 117–124.
- Ohara, K., Nagai, M., Suzuki, Y., 1998. Low activity allele of catechol-o-methyltransferase gene and Japanese unipolar depression. *Neuroreport* 9:1305–1308.
- Olivia, R., Ballesta, F., Oriola, J., Claria, J. 2004. *Genética Medica*. España: Publicaciones Ediciones de Universitat de Barcelona.
- OMIM # 192430:  
<https://www.omim.org/entry/192430?search=192430&highlight=192430>
- OMIM #188400:  
<https://www.omim.org/entry/188400?search=188400&highlight=188400>

- Ono, H., Shirakawa, O., Nushida, H., Ueno, Y., Maeda, K., 2004. Association between catechol-O-methyltransferase functional polymorphism and male suicide completers. *Neuropsychopharmacology* 29: 1374–1377.
- Opgen-Rhein, C., Neuhaus, A.H., Urbanek, C., Hahn, E., Sander, T., Dettling, M. 2008. Executive attention in schizophrenic males and the impact of COMT Val108/158Met genotype on performance on the attention network test. *Schizophrenia Bull.* 34:1231–1239.
- Óskarsdóttir, S., Vujic, M., Fasth, A. 2004. Incidence and prevalence of the 22q11 deletion syndrome: a population-based study in Western Sweden. *Archives disease* 89:148-151.
- Palau, F., Löfgren, A., De Jonghe, P., Bort, S., Nelis, E., Sevilla, T., Martin, JJ., Vilchez, J., Prieto, F., Van Broeckhoven, C. 1993. Origin of the de novo duplication in Charcot-Marie-Tooth disease type 1A: unequal nonsister chromatid exchange during spermatogenesis. *Human Molecular Genetics*, 2:2031-2035.
- Palmer, CG., Schwartz, S., Hodes, ME. 1980. Transmission of a balanced homologous t(22q22q) translocation from mother to normal daughter. *Clinical Genetics* 17:418-422.
- Papaioannou, VE. 2014. The T-box gene family: Emerging roles in development, stem cells and cancer. *Development*, 141:3819–3833.
- Paranaíba, L.M., de Aquino, S.N., Bufalino, A., Martelli-Junior, H., Graner, E., Brito, L.A., e Passos-Bueno, M.R., Coletta, R.D., Swerts, M.S., 2013. Contribution of polymorphisms in genes associated with craniofacial development to the risk of nonsyndromic cleft lip and/or palate in the Brazilian population. *Medicina Oral Patol. Oral. Cir. Bucal.* 18, e414–e420.
- Pereira, AC., Corrêa, RFR., Mota, GF., Kim, CA., Mesquita, SF., Krieger, JE. 2003. High specificity PCR screening for 22q11.2 microdeletion in three different ethnic groups. *Braz Journal of Medical and Biological Research.*10:1359-65.
- Perroud, N. 2010. COMT but not serotonin-related genes modulates the influence of childhood abuse on anger traits. *Genes Brain Behavior.* 9:193–202.
- Pinkel, D., Gray, JW., Trask, B., van den Engh, G., Fuscoe, J., van Dekken, H. 1986. Cytogenetic analysis by in situ hybridization with fluorescently labeled nucleic acid probes. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 51: 151-157.

- Pinkel, D., Seagraves, R., Sudar. 1998. High resolution analysis of DNA copy number variation using comparative genomic hybridization to microarrays. *Nature Genetics* 2: 207-211.
- Pinkel, D., Straume, T., Gray, G. 1986. Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 83:2934-2938.
- Piussan, C., Mathieu, M., Boudailliez, B., Schinzel, A. 1994. Noonan like appearance and familial deletion of the 22q11 Shprintzen- DiGeorge critical region. *American Journal Human Genetics*
- Pivac, N. 2011. The association between catechol-O-methyl-transferase Val108/158Met polymorphism and suicide. *Genes Brain Behav.* 10:565–569.
- Portnoi, MF. 2009. Microduplication 22q11.2: A new chromosomal syndrome. *European Journal of Medical Genetics* 52:88-93.
- Potocki, L., Bi, W., Treadwell-Deering, D., Carvalho, CM., Eifert, A., Friedman, EM., Glaze, D., Krull, K., Lee, JA., Lewis, RA., Mendoza-Londono, R., Robbins-Furman, P., Shaw, C., Shi, X., Weissenberger, G., Withers, M., Yatsenko, SA., Zackai, EH., Stankiewicz, P., Lupski, JR. 2007. Characterization of Potocki-Lupski syndrome (dup(17)(p11.2p11.2)) and delineation of a dosage-sensitive critical interval that can convey an autism phenotype. *American Journal Human Genetics*, 80:633-649.
- Poyatos, D. 2004. Diagnostico citogenético y molecular de los síndromes de Prader Willi y Angelman. España.
- Puder, KS., Humes, R., Gold, RB., Bawle, E., Lamb, AN., Goyert, GL. 1994. Prenatal diagnosis of interrupted aortic arch prompting familial diagnosis of DiGeorge/Neurocardiofacial syndrome utilizing FISH techniques. *American Journal Human Genetics* 55:285
- Racedo, S E., Hasten, E., Lin, M., Devakanmalai, GS., Guo, T., Ozbudak, EM., Cai, CL., Zheng, D., Morrow, BE. 2017. Reduced dosage of  $\beta$ -catenin provides significant rescue of cardiac outflow tract anomalies in a TBX1 conditional null mouse model of 22q11.2 deletion syndrome. *PLOS Genetic*
- Raux, G., Bumsel, E., Hecketsweiler, B., van Amelsvoort, T., Zinkstok, J., Manouvrier-Hanu, S. 2007. Involvement of hyperprolinemia in cognitive and psychiatric features of the 22q11 deletion syndrome. *Human Molecular Genetics* 16:83-91.

- Raynan, JB., Chen, E., Golabi, M., Lebo, RV. 1994. Analysis of 22q11.2 deletions by FISH in a series of velocardiofacial syndrome patients. *American Journal Human Genetics* 55:116
- Repetto, GM. 2009 Clinical features of chromosome 22q11.2 microdeletion syndrome in 208 Chilean patients. *Clinical Genet* 76: 465-470.
- Robín, N., Sprintzen, R. 2005. Defining the clinical spectrum of deletion 22q11.2. *Journal Pediatric* 147:90-96
- Robinson, WP., Dutly, F., Nicholls, RD. 1998. The mechanisms involved in formation of deletions and duplications of 15q11-q13. *Journal Medical Genetics*;35: 130-6.
- Rohn, RD., Leffell, MS., Leadem, P., Johnson, D., Rubio, T., Emanuel, BS. 1984: Familial third-fourth pharyngeal pouch syndrome with ap- parent autosomal dominant transmission. *Journal Pediatric* 105:47-51.
- Roten, LT. 2011. A low COMT activity haplotype is associated with recurrent preeclampsia in a Norwegian population cohort (HUNT2). *Molecular Humam. Reproductic.* 17:439–446.
- Russ, MJ., Lachman, HM., Kashdan, T., Saito, T., Bajmakovic-Kacila, S., 2000. Analysis of catechol-O-methyltransferase and 5-hydroxytryptamine transporter polymorphisms in patients at risk for suicide. *Psychiatry Reseachs.* 93:73–78.
- Salinas-Toldo, S., Lampel, S., Stingenbauer, S. 1997. Matrix-based comparative genomic hybridization: biochips to screen for genomic imbalances. *Genes Chromosomes Cancer* 4: 399-407
- Scambler, PJ., Kelly, D., Lindsay, E., Williamson, R., Goldberg, R., Shprintzen, R. 1992. Velo-cardio-facial syndrome associated with chromosome 22 deletions encompassing the DiGeorge locus. *Lancet* 339:1138–1140.
- Schneider, M., Debbane, M., Bassett, A.S., Chow, E.W., Fung, W.L., van den Bree, M., Owen, M., Murphy, K.C., Niarchou, M., Kates, W.R., Antshel, K.M., Fremont, W., McDonaldMcGinn, D.M., Gur, R.E., Zackai, E.H., Vorstman, J., Duijff, S.N., Klaassen, P.W., Swillen, A., Gothelf, D., Green, T., Weizman, A., Van Amelsvoort, T., Evers, L., Boot, E., Shashi, V., Hooper, S.R., Bearden, C.E., Jalbrzikowski, M., Armando, M., Vicari, S., Murphy, D.G., Ousley, O., Campbell, L.E., Simon, T.J., Eliez, S., 2014. International Consortium on, B., Behavior in 22q11.2 Deletion, S, Psychiatric disorders from childhood to adulthood in 22q11.2 deletion syndrome: results from the

International Consortium on Brain and Behavior in 22q11.2 Deletion Syndrome. *American Journal Psychiatry* 6: 627–639.

- Schosser, A. 2012. The impact of COMT gene polymorphisms on suicidality in treatment resistant major depressive disorder a European multicenter study. *Europe Neuropsychopharmacol.* 22:259–266
- Schouten, JP., McElgunn, CJ., Waaijer, R., Zwijnenburg, D., Diepvens, F., Pals, G. 2002. Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. *Nucleic Acids Research* 12:57-69.
- Sedlackova, E. 1967. The syndrome of the congenitally shortened velum. The dual innervations of the soft palate. *Folia Phoniatr* 19: 441-450.
- Sedlackova, E. 1955. Insufficiency of palatolaryngeal passage as a developmental disorder. *J. Cas Lek Cesk* 94: 1304-1307.
- Shaffer, LG., Bejjani, BA., Tochia, B. 2007. The identification of microdeletion syndromes and other chromosome abnormalities: cytogenetic methods of the past, new technologies for the future. *American Journal of Medical Part C Seminars in Medical Genet*; 145c: 335-345.
- Shay, B., Zhishuo, O., Chad, A., John, W., Pat, MS., Hummel, M., Amato, S., Tartaglia, N., Berg, J., Sutton, R., Seema, R., Lalani, A., Chinault, C., Cheung, SW., Lupski, Patel, A. 2008. 22q11.2 Distal Deletion: A Recurrent Genomic Disorder Distinct from DiGeorge Syndrome and Velocardiofacial Syndrome. *The American of Human Genetics* 82: 214-221.
- Sheikh, H.I. 2013. Catechol-O-methyltransferase gene val158met polymorphism and depressive symptoms during early childhood. *American Journal of Medical Genet. Part B Neuropsychiatr. Genet.* 8:32-41.
- Shprintzen, R. 2000. Velo-cardio-facial syndrome: a distinctive behavioral phenotype. *Mental Retardation and Developmental Disabilities Research* 6:142-147
- Shprintzen, R. 2005. Velo-cardio-facial syndrome. *ELSEVIER; Progress in Pediatric Cardiology.* 20: 187–193.
- Shprintzen, R. 2008. Velo-cardio-facial syndrome: 30 years of study. *Developmental Disabilities Research Reviews* 14: 3-10.

- Shprintzen, R. 2013. A history of then “discovery” of VCFS (or whatever you choose to call it): why we have so many names for one condition. *The Velo-Cardio- Facial Syndrome Journal*. 1:1-7.
- Shprintzen, R. Goldberg, R., Golding-Kushner, K.J., Marion, R.W., 1992. Late-onset psychosis in the velo-cardio-facial syndrome. *American Journal of Medical Genetics*, 1: 141–142.
- Shprintzen, R., Goldberg, R., Lewin, M., Sidoti, E., Berkman, M., Argamaso. 1978. A new syndrome involving cleft palate, cardiac anomalies, typical facies and learning disabilities: velo-cardio-facial syndrome. *Cleft Palate Journal*. 15: 56-62.
- Shprintzen, R., Siegel-Sadewitz, V., Amato, J., Goldberg, R.. 1985. Anomalies associated with cleft lip, cleft palate, or both. *American Journal of Medical Genet.* 4:585-595.
- Strong, WB. 1968. Familial syndrome of right-sided aortic arch, mental deficiency, and facial dysmorphism. *Journal Pediatric*. 73: 882-888.
- Swillen, A., Vandeputte, L., Cracco, J., Maes, B., Ghesquiere, P., Devriendt, K. 1999. Neuropsychological, learning and psychosocial profile of primary school aged children with the velo-cardio-facial syndrome (22q11 deletion): evidence for a nonverbal learning disability? *Child Neuropsychol.*; 5: 230-41.
- Takizawa, R. 2009. Association between catechol-O-methyltransferase Val108/ 158Met genotype and prefrontal hemodynamic response in schizophrenia. *PLOS One* 4, 8.
- Thorndike, RL., Hagen, EP., Sattler, JM. 1986 *Stanford-Binet Intelligence SCA -IV Edición- United State of America*. The Riverside Publishing Company
- Vargas-Alarcón, G. 2007. Catechol-O-methyltransferase gene haplotypes in Mexican and Spanish patients with fibromyalgia. *Arthritis Res.*
- Vorstman, JA., Morcus, ME., Duijff, SN., Klaassen, PW., Heineman-de Boer, JA., Beemer, FA., Swaab, H., Kahn, RS., van Engeland, H., 2006. The 22q11.2 deletion in children: high rate of autistic disorders and early onset of psychotic symptoms. *Journal American Academy Child Adolescents. Psychiatry* 9:1104–1113.
- Vysis 2017 <https://www.molecular.abbott/us/en/chromosome/22> Fecha de consulta [15/06/17](#)



- Wardle, MC., de Wit, H., Penton-Voak, I., Lewis, G., Munafo, MR. 2013. Lack of association between COMT and working memory in a population-based cohort of healthy young adults. *Neuropsychopharmacology* 21-24.
- Wedren, S. 2003. Catechol-O-methyltransferase gene polymorphism and postmenopausal breast cancer risk. *Carcinogenesis* 24:681–687.
- White, T.J., Arnheim, N., Erlich, HA.1989. The polymerasechainreaction. In: Stewart A, ed. *Trends in Genetics*, Cambridge: ElsevierTrendsJournal, 185-188.
- Widdershoven, J.C., Beemer, F.A., Kon, M. 2008.Possible mechanisms and gene involvement in speech problems in the 22q11.2 deletion syndrome. *Journal of Plastic Reconstructive & Aesthetic Sugery*. 61: 1016-1023.
- Wiegant, J., Ried, T., Nederlof, P.1991. In situ hybridization with fluoresceinated DNA. *Nucleic Acids Research*.12: 3237-3241.
- Wilson, D., Burn, J.P., Goodship, J. 1993. DiGeorge syndrome: part of CATCH 22. *Journal of Medical Genetics*.; 30: 852-856.
- Wilson, D., Goodship, J.A., Burn, J., Cross, I.E., Scambler, P.J. 1992. Deletions within chromosome 22ql1 in familial congenital heart disease. *Lancet* 340:573-575.
- Woodin, M.F., Moss, E.M. 2000. The 22q11.2 deletion: Neuropsychological presentation, profiles and practical suggestions. *Faces of Sunshine: A handbook for parents and professionals.*, West Berlin, NJ: Cardinal Business Forms and Systems Inc.,
- Ysunza, A., Pamplona, M. 2008. Velopharyngeal dysfunction diagnosis and management. *Journal of Maxillofacial and Oral Surgery*. 7:168–173.
- Yunis, J.J., Sawyer, J.R. & Ball, D.W. 1978 The characterization of high-resolution G-banded chromosomes of men. *Chromosoma* 67: 293.
- Zalsman, G. 2008. No association of COMT Val158Met polymorphism with suicidal behavior or CSF monoamine metabolites in mood disorders. *Archives of Suicide Research*. 12:327–335.
- Zheng, P. 2015.Molecular mechanisms of functional natural killer deficiency in patients with partial DiGeorge syndrome. *Journal Allergy Clinical Immunology*, 135:1293–1302.