



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

DEPARTAMENTO DE GENÉTICA

**“ANÁLISIS CLÍNICO, CITOGENÉTICO Y MOLECULAR DE PACIENTES
CON DISCAPACIDAD INTELECTUAL Y MALFORMACIONES
CONGENITAS”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN

GENÉTICA MÉDICA

PRESENTA:

DRA. PAMELA AYALA HERNÁNDEZ

TUTORA:

DRA. VERÓNICA FABIOLA MORÁN BARROSO

ASESORES DE TESIS:

DRA. CONSTANZA GARCÍA DELGADO

M. en C. ALICIA BEATRIZ CERVANTES PEREDO



CIUDAD DE MÉXICO, FEBRERO 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central

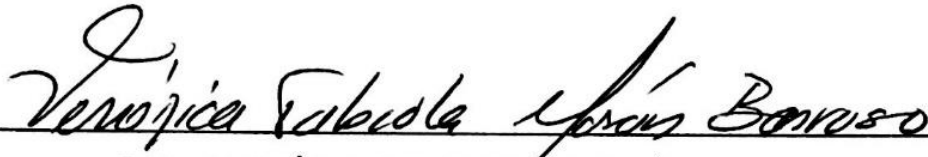


UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL


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

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



DRA. VERÓNICA FABIOLA MORÁN BARROSO

Profesor Titular de la Especialidad de Genética Médica. HIMFG.



DRA. CONSTANZA GARCÍA DELGADO

Profesor Adjunto de la Especialidad de Genética Médica. HIMFG



M. en C. ALICIA BEATRIZ CERVANTES PEREDO

Servicio de Genética. Hospital General de México "Dr. Eduardo Liceaga"/ Facultad
de Medicina, UNAM

DEDICATORIAS

A Dios:

I've told a million lies but now I tell a single truth: there's YOU in EVERYTHING I do.

A mi madre:

A los 5 años quería ser piloto. A los 15 decidí ser médico. A los 25 elegí ser genetista. A mis casi 30 te puedo decir que todo lo que realmente he querido en mi vida es ser como el increíble ser humano que eres tú. Te amo.

A mi padre:

Por ser ese amor que todos necesitan.

A mi hermano:

Por ser ese amor que todo lo puede.

A mi tía Rosy:

Por ser ese amor que todo lo conquista.

A Aurora:

Por ser un ángel con bisturí y estetoscopio y mi mejor amiga.

A mis hermanas Alba, Ana, Atenea, Citlali, Elsy, Cris, Liliana, Tere y Yovanna:

Por ser la familia que yo escogí.

A Luis:

Por siempre estar.

A Doña Mago:

Por alimentar mi alma.

A mis amigos, el Dr. Guevara y la Enf. Maguito:

Por cuidarme, quererme y nunca olvidarme.

Al Dr. Alejandro Martínez Juárez:

Por inspirarme a ser mejor médico, mejor genetista y, sobre todo, mejor ser humano.

A la Mtra. Alicia Cervantes y a la Dra. Constanza García:

Por contribuir a mi formación como especialista y dedicar tiempo e interés a este trabajo.

Y, finalmente, a mi mejor amigo, colega, compañero de lucha, pero más que nada, mi amor a primera vista:

Miguel Ángel Ramos Arrieta. Te amo, Vida.

ÍNDICE

RESUMEN	3
1. MARCO TEÓRICO	7
1.1. RETRASO GLOBAL DEL DESARROLLO Y DISCAPACIDAD INTELECTUAL	7
DEFINICIÓN	7
PREVALENCIA	8
ETIOLOGÍA	8
1.2. DEFECTOS DEL DESARROLLO	9
DEFINICIÓN	9
CLASIFICACIÓN	9
ETIOLOGÍA	9
1.3. VARIACIÓN ESTRUCTURAL DEL GENOMA HUMANO	11
DEFINICIÓN	11
ANOMALÍAS CROMOSÓMICAS	11
REARREGLOS BALANCEADOS	12
REARREGLOS NO BALANCEADOS	13
VARIACIÓN ESTRUCTURAL EN CONDICIONES PATOLÓGICAS	14
MECANISMOS DE VARIACIÓN ESTRUCTURAL	15
ABORDAJE DE PACIENTES CON DISCAPACIDAD INTELECTUAL CON O SIN DEFECTOS CONGÉNITOS	18
DIAGNÓSTICO	19
♦ MÉTODOS PARA LA DETECCIÓN DE VARIACIÓN ESTRUCTURAL	20
1.4. CROMOSOMA X	22
CARACTERÍSTICAS GENERALES	22
INACTIVACIÓN DEL CROMOSOMA X	23
TRANSLOCACIÓN ENTRE UN CROMOSOMA X Y UN AUTOSOMA	25
1.5. CROMOSOMA 8	27
CARACTERÍSTICAS GENERALES	27
TRISOMÍA PARCIAL 8Q	29
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	30
3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	31
4. JUSTIFICACIÓN	32
5. OBJETIVOS	33
5.1. OBJETIVO GENERAL	33
5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
6. MATERIAL Y MÉTODOS	34
6.1. TIPO DE ESTUDIO	34
6.2. CRITERIOS	34
DE INCLUSIÓN	34
DE EXCLUSIÓN	34
DE ELIMINACIÓN	34
7. RESULTADOS	35
7.1. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA BÚSQUEDA DE PACIENTES CON CARIOTIPOS CON TRANSLOCACIONES ENTRE UN CROMOSOMA X Y UN AUTOSOMA	35
7.2. PRESENTACIÓN DEL CASO CLÍNICO	36
7.3. ANÁLISIS CITOGENÉTICO	40
8. DISCUSIÓN	43
9. CONCLUSIONES	50
10. LIMITACIONES DEL ESTUDIO	52
11. BIBLIOGRAFÍA	53

ANEXOS	61
<i>ANEXO I. CARIOTIPO CON BANDAS GTG</i>	61
<i>ANEXO II. FISH (HIBRIDACIÓN IN SITU CON FLUORESCENCIA)</i>	63
<i>ANEXO III. FORMATO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA TOMA DE FOTOGRAFÍAS</i>	65
<i>ANEXO IV. FORMATO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA TOMA DE MUESTRA DE SANGRE</i>	66

RESUMEN

MARCO TEÓRICO: La frecuencia de los defectos congénitos en la población general es de 2 a 3% y se relacionan con discapacidad intelectual y retraso global del desarrollo (DI/RGD). La incidencia de discapacidad intelectual es 1 a 3% y su etiología es heterogénea, una causa son las anomalías cromosómicas. Las translocaciones entre un cromosoma X y un autosoma (t(X;A)) pueden ser balanceadas o no; en las desbalanceadas hay un efecto de dosis génica y los femeninos están menos afectados que los masculinos. En las balanceadas, en ambos sexos, pueden presentarse enfermedades monogénicas por interrupción o efecto de posición; en algunos pacientes hay problemas de fertilidad. El diagnóstico de estas anomalías se hace mediante cariotipo con técnicas de bandeado y/o molecular.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA: Una indicación para realizar cariotipo es el retraso global del desarrollo/discapacidad intelectual de origen desconocido con o sin malformaciones congénitas; se obtiene diagnóstico en aproximadamente 6% de los casos. En nuestro país aún no existe estadística sobre RGD/DI con o sin malformaciones congénitas causada por t(X;A).

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN: ¿Cuál es la prevalencia de alteraciones cromosómicas del tipo t(X;A) en pacientes del departamento de Genética del HIMFG con discapacidad intelectual con o sin malformaciones congénitas y qué características clínicas, citogenéticas y moleculares presentan?

JUSTIFICACIÓN: Los defectos congénitos son causa frecuente de consulta y se pueden presentar con discapacidad intelectual/retraso global del desarrollo, asociados frecuentemente a anomalías cromosómicas.

OBJETIVOS: Determinar la prevalencia de las translocaciones entre un cromosoma X y un autosoma en los pacientes con discapacidad intelectual con o sin malformaciones congénitas atendidos en el departamento de Genética del HIMFG y conocer las características clínicas, citogenéticas y moleculares implicadas. Los objetivos específicos fueron identificar en el periodo de 2008 a 2017, los pacientes que acudieron a la consulta de genética por discapacidad

intelectual con o sin malformaciones y en quienes se identificó una translocación balanceada o desbalanceada entre un cromosoma X y un autosoma.

MATERIAL Y MÉTODOS: Estudio descriptivo, transversal y retrospectivo, el tamaño de muestra fue por conveniencia. Se revisaron las libretas de resultados de cariotipos para identificar aquellos que presentaban una $t(X;A)$ y se seleccionó un caso clínico para su abordaje en particular. Se excluyeron aquellos con cariotipo normal o con otro tipo de alteración cromosómica. Se realizaron los cariotipos parentales y se analizó con hibridación *in situ* fluorescente (FISH) el caso estudiado en extenso.

RESULTADOS: En el periodo de estudio de 10 años se realizaron 6315 cariotipos, de los cuales 1630 fueron anormales y sólo seis correspondieron a una $t(X;A)$; todos ellos femeninos. En cuatro casos la translocación fue balanceada. Se escogió un caso con cariotipo $46,X,add(X)(q22)$ para su estudio en extenso. La paciente acudió por amenorrea primaria y retraso en el desarrollo puberal con antecedente de retraso global del desarrollo. El cariotipo de sus padres fue normal y el análisis mediante hibridación *in situ* fluorescente demostró la presencia de un $der(X)t(X;8)(q22;q21)dn$.

DISCUSIÓN: Las translocaciones X-autosoma representaron el 0.095% del total de estudios citogenéticos realizados en el periodo de estudio y el 0.4% de aquellos que tuvieron una alteración. Las cuatro pacientes con translocaciones aparentemente balanceadas tuvieron datos clínicos, una de ellas con $t(X;1)(p22.13;q21)$ presentó síndrome de Nance-Horan, al igual que su madre, un síndrome monogénico cuyo gen responsable *NHS* se localiza en $Xp22.13$ y fue interrumpido por la translocación. Este caso ya fue publicado, la enfermedad se presenta en estas mujeres por la inactivación selectiva del cromosoma X normal. Las otras tres pacientes con translocaciones balanceadas *de novo* presentaron retraso global del desarrollo y diferentes malformaciones congénitas por lo que deben estudiarse los puntos de ruptura implicados en las translocaciones. De las dos pacientes con una $t(X;A)$ desbalanceada, una presentó un cariotipo $45,X,der(X)t(X;13)(q28;q12),-13dn$

con retinoblastoma unilateral, pie equinovaro y alteraciones renales. La otra, descrita en extenso en esta tesis, correspondió a una paciente con cariotipo 46,X,der(X)(q22;q21)dn, por lo que presenta una monosomía Xq22-Xqter y una trisomía 8q21-8qter. La paciente presentó disgenesia gonadal por haploinsuficiencia de los genes localizados en la región crítica (Xq22-q26) para el desarrollo ovárico. En ella no hay datos de la trisomía parcial de 8q21-qter, que incluyen: discapacidad intelectual, crisis convulsivas, talla baja, hipertrichosis, cardiopatías congénitas, criptorquidia e hipertrichosis; sin embargo, presenta la facies característica. Esto podría explicarse por la inactivación preferencial del cromosoma X derivativo y su extensión al segmento del cromosoma 8 en la mayoría de las células, compensando la trisomía parcial 8q.

CONCLUSIONES: La discapacidad intelectual con o sin malformaciones congénitas asociada con t(X;A) balanceada o desbalanceada es de interés especial por su incidencia baja, clínica heterogénea en hombres y mujeres y el sesgo en el patrón de inactivación del cromosoma X en las mujeres. En las seis pacientes con t(X;A) identificadas, las causas por las que se realizó cariotipo fueron: presentación atípica de una enfermedad recesiva ligada al cromosoma X, retraso global del desarrollo aunado a defectos, amenorrea primaria y retraso en el desarrollo puberal, considerando que se trata de un hospital pediátrico. En el caso particular de la paciente descrita en extenso, el análisis con bandas GTG y el uso de hibridación *in situ* fluorescente caracterizaron la aberración cromosómica *de novo*. La correlación con su fenotipo se puede establecer si asumimos la inactivación preferencial del cromosoma X anormal. La disgenesia gonadal se explica por la monosomía de los genes para la formación de ovario en Xq y la falta de datos clínicos de trisomía 8q por la inactivación de los genes autosómicos en el cromosoma X anormal. En esta paciente se podría comprobar la inactivación sesgada del cromosoma X mediante estudios de replicación, así como determinar con mayor precisión la cantidad de material ganado en 8q y aquél perdido en Xq mediante un cariotipo molecular. En general, en los casos con una t(X;A) balanceada o no, es importante realizar cariotipo a los padres para determinar si son heredadas o *de novo* y usar microarreglos para determinar variantes de dosis génica y la

secuenciación de los puntos de ruptura citogenéticos para descartar la interrupción de genes particulares o un efecto de posición. Todo ello para poder establecer un diagnóstico más certero y brindar al paciente y su familia un asesoramiento genético preciso y personalizado en cada caso.

1. MARCO TEÓRICO

1.1. RETRASO GLOBAL DEL DESARROLLO Y DISCAPACIDAD INTELECTUAL

DEFINICIÓN

El retraso global del desarrollo (RGD) se define como el retraso en dos o más de las áreas del desarrollo de un niño (antes de los 5 años de edad), dentro de las que se encuentran: motricidad fina y gruesa; lenguaje y habla; funciones cognitivas; desarrollo personal y social y actividades de la vida diaria (Shoukier et al., 2013).

La deficiencia intelectual (DI) es una discapacidad caracterizada por las limitaciones en el funcionamiento intelectual y del comportamiento adaptativo que se manifiesta en las habilidades adaptativas conceptuales, sociales y prácticas. Esta discapacidad se origina antes de los 18 años y es definida con relación a la inteligencia general que comprende el razonamiento, la planeación, la resolución de problemas, el pensamiento abstracto, la comprensión de ideas complejas, el aprendizaje rápido y el aprendizaje por experiencia (Puri et al., 2016; Oldham J, 2012).

En el dominio conceptual se afectan las habilidades del lenguaje, la lectura, la escritura, el razonamiento, el conocimiento y la memoria. En el dominio social incluye la carencia de empatía, el juicio social e interpersonal, habilidades para la comunicación y para hacer o mantener amistades. En cuanto al dominio práctico, se involucran aspectos como el cuidado personal, el trabajo, el manejo del dinero y tareas escolares que necesitan organización (Oldham J, 2012).

El término discapacidad intelectual ha reemplazado al de *retraso mental* e identifica un puntaje de coeficiente intelectual (IQ) menor a 70. En esta tesis manejaremos el término deficiencia/discapacidad intelectual indistintamente (Oldham J, 2012).

PREVALENCIA

La incidencia de retraso global del desarrollo se estima de la mano de la discapacidad intelectual, y es de 1 a 3% en la población general, aproximadamente (Shoukier et al., 2013).

ETIOLOGÍA

Las causas de DI pueden ser genéticas o ambientales y existe una gran heterogeneidad clínica que en su mayor parte carece de diagnóstico etiológico (Puri et al., 2016).

Entre las causas ambientales se encuentran las siguientes: prematurez, hipoxia, traumatismo craneoencefálico, teratógenos, infecciones congénitas e hipotiroidismo (Puri et al., 2016).

De 30 a 50% de los casos de DI se deben a causas genéticas y pueden ser por anomalías cromosómicas observables al microscopio, por anomalías en variantes del número de copias (CNV) o por mutaciones tanto en genes localizados en autosomas, como en aquéllos ligados al cromosoma X (Moeschler, 2014).

Aproximadamente 700 genes han sido asociados a DI con un modo de herencia autosómico recesivo, autosómico dominante o ligado al cromosoma X (Vissers et al., 2015).

1.2. DEFECTOS DEL DESARROLLO

DEFINICIÓN

Los defectos congénitos (DC) o del desarrollo son anomalías estructurales o funcionales, incluidos trastornos metabólicos, que ocurren durante la vida intrauterina y se detectan durante el embarazo, el parto o en un momento posterior de la vida (OMS, 2010).

En recién nacidos vivos (RNV) la frecuencia de DC reportada es de 2 a 3%, la cual aumenta si se toman en cuenta óbitos y abortos puesto que se encuentran considerados en 15 a 20% de las muertes fetales (Navarrete et al., 2013).

CLASIFICACIÓN

Los DC pueden encontrarse de manera aislada (defecto único) o en presencia de otras anomalías (defectos múltiples o sindrómicos). De acuerdo a su origen, los defectos únicos pueden ser: malformación (mayor o menor), variante morfológica, displasia (no neoplásica), deformación y disrupción (OMS, 2010).

Los DC pueden dividirse en: malformaciones mayores y menores. Las malformaciones o anomalías mayores son defectos que de no ser corregidos, comprometen significativamente el funcionamiento corporal o reducen la expectativa normal de vida (p. ej. espina bífida y onfalocele). Las anomalías menores son alteraciones con importancia primariamente cosmética, que no compromete la forma o funcionalidad corporal, se pueden encontrar en cualquier parte del cuerpo, y pueden ser corregidas o no requerir manejo médico (p. ej. clinodactilia, pliegue palmar único) (Aviña et al., 2008; Van Esch et al, 2005).

ETIOLOGÍA

El origen de los defectos congénitos puede obedecer a la presencia de alteraciones monogénicas o cromosómicas, a la combinación de factores hereditarios, a teratógenos presentes en el medio ambiente, o bien, a carencias de micronutrientes (OMS, 2010).

La mayoría de las malformaciones mayores ocurren de manera aislada; el 20% junto con otros defectos. Sin embargo, aunque las malformaciones menores no ponen en riesgo la integridad de un órgano, se ha reportado que hasta el 90% de los RNV con tres o más malformaciones menores tiene alguna malformación mayor; asimismo, el 42% de los casos de discapacidad intelectual de origen indeterminado, se asocia con tres o más malformaciones, y de éstas, el 80% son menores (Szczałuba et al., 2016; Hennekam et al., 2013).

1.3. VARIACIÓN ESTRUCTURAL DEL GENOMA HUMANO

DEFINICIÓN

La variación estructural (SV, *structural variation* por sus siglas en inglés) se define como la variación genética que incluye todos los rearrreglos tanto estructurales como cuantitativos a nivel cromosómico, es decir, aberraciones neutrales en el número de copias, tales como inversiones, inserciones y translocaciones (rearrreglos balanceados), así como deleciones y duplicaciones (rearrreglos no balanceados) que corresponden a variantes en el número de copias (CNV, *copy number variant* por sus siglas en inglés); una CNV se define como una variación genética que se refiere solamente a rearrreglos cromosómicos cuantitativos tales como deleciones y duplicaciones; alteran el estado diploide del DNA cambiando el número de copias de los cromosomas o de regiones cromosómicas (Spielmann M et al., 2018; Carvalho CMB et al., 2016).

ANOMALÍAS CROMOSÓMICAS

Son alteraciones en el complemento cromosómico de una célula, ya sea en su número o debido a un cambio en su estructura (Luthardt et al, 2001; Preston, 2014). Por ello, pueden clasificarse en numéricas y estructurales e involucrar uno o más cromosomas (Luthardt FW, 2001).

Las anomalías numéricas a su vez se clasifican en:

- **Aneuploidía:** se refiere a la presencia de un cromosoma extra (trisomía), o bien a la ausencia de uno (monosomía) en células diploides; se asocia frecuentemente a la edad materna avanzada y constituye una porción significativa de las anomalías cromosómicas observadas en abortos espontáneos. Representa de 12 a 15% de los casos de discapacidad intelectual (Luthardt FW, 2001; Puri et al., 2016).
- **Poliploidía:** se llama **poliploide** al complemento cromosómico que corresponde a un múltiplo exacto del número haploide. Por lo general, las triploidías (69 cromosomas) o tetraploidías (92 cromosomas) son condiciones letales en un cigoto. (Luthardt FW, 2001).

- **Mosaicismo cromosómico:** se refiere a la presencia en un individuo de dos o más líneas celulares con complemento cromosómico diferente que provienen de un mismo cigoto (Luthardt FW, 2001).
- **Quimerismo cromosómico:** se refiere a la presencia de dos o más líneas celulares con diferente complemento cromosómico que provienen de más de un cigoto (Luthardt FW, 2001).

Las anomalías estructurales involucran puntos de ruptura y unión dentro de un solo cromosoma o entre dos o más cromosomas diferentes, que resultan en cariotipos balanceados o desbalanceados (Luthardt et al, 2001; Preston, 2014).

REARREGLOS BALANCEADOS

Los rearreglos balanceados son las variaciones en las que no hay ganancia ni pérdida de material genético, tales como inversiones, translocaciones recíprocas o inserciones de número neutral de copias (Spielmann M et al., 2018; Carvalho CMB et al., 2016).

Los rearreglos balanceados incluyen a:

- **Inversiones:** son rearreglos dentro de un solo cromosoma que resultan de dos rupturas que flanquean o delimitan el segmento involucrado que se rotará 180° antes de reincorporarse. Se clasifican en pericéntricas y paracéntricas. Las inversiones pericéntricas, provocadas por una ruptura en cada brazo cromosómico (p y q), frecuentemente producen un cambio relativo en su longitud y posición del centrómero. Las inversiones paracéntricas, producidas por dos rupturas en un solo brazo, no producen un cambio en la longitud, pero pueden ser identificados mediante los cambios en el patrón de bandeo del cromosoma afectado (Luthardt et al, 2001)
- **Translocaciones:** resultan del intercambio de segmentos cromosómicos entre dos o más cromosomas no homólogos. Existen tres tipos: recíprocas (producidas por el intercambio de segmentos desprendidos de dos cromosomas diferentes), Robertsonianas (involucran dos cromosomas acrocéntricos que se unen cerca de sus centrómeros para formar un solo cromosoma) e insercionales (resultan de tres rupturas,

tales que el cambio no recíproco ocurre cuando el segmento de uno de los cromosomas se inserta en otro cromosoma) (Luthardt et al, 2001).

Los portadores de rearrreglos cromosómicos balanceados, por lo general, son asintomáticos, siempre y cuando no se pierda material cromosómico esencial y/o no se dañen genes durante el proceso de ruptura y unión. Pueden producir gametos desbalanceados y tienen un riesgo aumentado para descendencia con anomalías cromosómicas (Luthardt et al, 2001).

REARRREGLOS NO BALANCEADOS

Los rearrreglos no balanceados implican ganancia y/o pérdida de material genético y se conocen también como variantes en el número de copias o CNV (Spielmann M et al., 2018; Carvalho CMB et al., 2016).

Los rearrreglos no balanceados se clasifican en:

- **Deleciones:** resultan en la pérdida de material genético de un solo cromosoma. Las deleciones terminales resultan de una sola ruptura dentro de un brazo del cromosoma, con pérdida de material distal a la ruptura; las intersticiales involucran dos rupturas dentro del mismo brazo del cromosoma con pérdida de material entre estos dos puntos de ruptura (Luthardt et al, 2001; Preston, 2014).
- **Anillos cromosómicos:** son formados debido a la ruptura en cada brazo de un cromosoma, con pérdida de material distal a las rupturas y la subsecuente unión de los extremos terminales. Usualmente varían en tamaño, dependiendo de cuánto material se ha perdido. Suelen ser inestables durante la división celular, y rara vez, son transmitidos de los padres a su descendencia (Luthardt et al, 2001).
- **Duplicación:** ésta anomalía de los segmentos cromosómicos ocurre usualmente mediante la recombinación desigual entre cromosomas homólogos o cromátides hermanas. En general, son menos dañinas que las deleciones pero, por lo general, se asocian a algunas anomalías clínicas (Luthardt et al, 2001).

- **Isocromosoma:** se refiere a un cromosoma que contiene dos copias idénticas de un brazo de un cromosoma, más la ausencia del otro brazo. Probablemente resultan del intercambio entre cromosomas homólogos durante la meiosis, o mediante la ruptura y unión de cromátides hermanas cerca del centrómero. Por otra parte, también se considera que puede ser producto de la división incorrecta del centrómero en cualquier división celular, aunque esto es menos frecuente (Luthardt et al, 2001; Preston, 2014).

VARIACIÓN ESTRUCTURAL EN CONDICIONES PATOLÓGICAS

En la actualidad, la patogenicidad de las SV que interrumpen o incluyen la ganancia o pérdida de secuencias codificantes (CNV), se interpreta con base a un efecto de dosis génica; ésta se refiere al número de copias funcionales de un gen en particular, incluyendo todas sus regiones reguladoras, presentes en un genoma (Spielmann M et al., 2018).

El descubrimiento de que las SV pueden resultar patogénicas, aún sin cambiar secuencias codificantes del genoma, indicó que las SV pueden afectar la regulación de la expresión génica por efecto de posición. Las SV producen cambios en la expresión de un gen si éste es interrumpido o insertado en una región diferente del genoma o si las SV conectan genes previamente no conectados entre sí o con sus elementos reguladores (Spielmann M et al., 2018; Weischenfeldt J et al., 2013).

Las SV tienen una alta probabilidad de afectar la posición y/o función de elementos reguladores en *cis*, tales como promotores, potenciadores, silenciadores y aislantes. Los efectos de posición pueden ser explicados si se toma en cuenta la tercera dimensión de los cromosomas: el plegamiento de la cromatina en el espacio tridimensional del núcleo (Spielmann M et al., 2018; Pombo A et al., 2015).

La mayoría de las interacciones entre promotores y potenciadores ocurren en dominios asociados topológicamente (TAD, *topologically associating domains*

por sus siglas en inglés), que son regiones genómicas de megabases de longitud que interactúan entre ellas mismas más frecuentemente de lo que interactúan con el resto del genoma; los TAD forman andamios genómicos que facilitan interacciones reguladoras mientras aíslan la actividad reguladora de dominios cercanos, además, los TAD delimitan las regiones genómicas en las que un potenciador puede actuar (Spielmann M et al., 2018; Bonev B et al., 2016; Pombo A et al., 2015).

Estudios a gran escala han establecido un papel para las CNV *de novo* en la etiología de diversas enfermedades, incluyendo la discapacidad intelectual, desórdenes del espectro autista, cardiopatías congénitas, esquizofrenia y malformaciones congénitas de extremidades (Spielmann M et al., 2018).

MECANISMOS DE VARIACIÓN ESTRUCTURAL

La estructura del genoma humano permite que existan sitios inestables y susceptibles a rearrreglos genómicos que puedan ser responsables tanto de patologías, como de rasgos nuevos e incluso de evolución (Lupski et al., 2005).

La variación estructural puede producir variantes en el número de copias. Las CNV, como ya se mencionó anteriormente, son una clase de variación estructural que puede involucrar ganancias o pérdidas complejas de secuencias homólogas en múltiples sitios del genoma (Krausz et al., 2015).

Un cambio en el número de copias requiere asimismo de un cambio en la estructura cromosómica, mediante la unión de dos secuencias previamente separadas. Estas uniones recurrentes de CNV son encontradas en repetidos de número bajo de copias (*Low Copy Repeats* o LCR por sus siglas en inglés) que proveen sitios de recombinación homóloga no alélica (*NAHR, Non Allelic Homologous Recombination* por sus siglas en inglés). Los LCR, también llamados duplicaciones segmentarias, son secuencias que se encuentran dos o varias veces en el genoma. Las CNV surgen de recombinación homóloga no alélica entre secuencias repetidas o mediante mecanismos de replicación alterados principalmente por la detención de las horquillas por la presencia de

rupturas de doble cadena, ambos mecanismos ocurren a través de todo el genoma (Hastings et al., 2009; Carvalho CMB et al., 2016).

La recombinación homóloga no alélica que toma como sustrato a los LCR debido al alto grado de similitud en su secuencia (97% o más) y que miden más de 10 kilobases, es responsable de la mayoría de los rearrreglos genómicos recurrentes en el genoma humano (Startek et al., 2015).

Los dos LCR implicados pueden ser intercromosómicos, intracromosómicos o intracromátides y estar orientados en forma directa o indirecta, uno con respecto al otro. El rearrreglo puede producir diferentes productos, por ejemplo: duplicación, deleción, inversión o translocación (Carvalho et al., 2010; Carvalho CMB et al., 2016).

Diferentes autores han pensado que el hecho de que la NAHR ocurra particularmente en sitios con elementos LINE sea debido a que estos tengan una estructura o motivo que facilite la recombinación y que incluso los transposones inactivos contribuyan a la inestabilidad genómica a través de este mecanismo (Startek et al., 2015).

Una unión de Holliday (HJ, *Holliday Junction* por sus siglas en inglés) es una estructura de ácido nucleico ramificada que contiene cuatro brazos de doble cadena unidos entre sí. Las uniones de Holliday son un intermediario clave en diversos tipos de recombinación genética, así como en la reparación de las rupturas de doble cadena, que deben ser procesadas por disolución (uniones de Holliday dobles) o por resolución para asegurar la estabilidad del genoma. Las HJ son requeridas para una reparación correcta del DNA, así como para la segregación cromosómica. Estas uniones usualmente tienen una secuencia simétrica y son móviles, haciendo que los 4 brazos individuales puedan deslizarse a través de la unión en un patrón específico que conserva el apareamiento de bases, por lo que la estructura cruciforme ayuda a resolver la tensión en las hélices con secuencias simétricas (Hastings et al., 2009; Marsolier-Kergoat MC et al., 2018).

La formación de intermediarios de Holliday durante la reparación de DSB (*Double Strand Break*, rupturas de doble cadena por sus siglas en inglés) por recombinación homóloga es un mecanismo que lleva a conversión génica o a entrecruzamiento. Por otra parte, la corrección por síntesis dependiente de alineamiento de cadena (SDSA, *synthesis-dependent strand-annealing*) no genera entrecruzamientos; parece que la SDSA es un mecanismo adecuado para evitar los entrecruzamientos y la pérdida de heterocigosidad, sin perder su capacidad de producir cambios en el número de copias cuando los templados de DNA contienen repetidos directos (Krogh et al., 2004; Marsolier-Kergoat MC et al., 2018).

Los mecanismos de variación estructural minimizan los cambios cromosómicos estructurales, incluyendo a las CNV, evitando apareamientos incorrectos, sin embargo, en meiosis se requiere de la recombinación homóloga por lo que se considera que existe un mayor impacto en la frecuencia de aparición de CNV durante la misma (Hastings et al., 2009).

Además de los mecanismos de recombinación homóloga, existen mecanismos de reparación de DNA que se basan en secuencias con homología limitada o sin ella. Cuando la homología no es utilizada para asegurar que las moléculas se vuelvan a unir en la posición correcta, existe la probabilidad de que ocurran cambios genéticos, entre ellos cambios en el número de copias. Estos mecanismos que no usan recombinación homóloga pueden ser divididos en replicativos y no replicativos (Hastings et al., 2009; Stringer JM et al., 2018).

La unión de extremos no homólogos (NHEJ, *Non Homologous End Joining* por sus siglas en inglés) junta los extremos terminales de una ruptura de doble cadena de manera precisa o bien, con delección de 1 a 4 pares de bases y en algunas ocasiones inserta DNA libre proveniente de mitocondrias o de retrotransposones, por lo tanto, este mecanismo de reparación contribuye a los rearrreglos cromosómicos mediante la unión de secuencias no homólogas, lo cual puede ser observado en rupturas inducidas por endonucleasas o por daño provocado por agentes quimioterapéuticos, o bien, cuando dos asas de

replicación se encuentran en una ruptura del DNA (Hastings et al., 2009; Rotger et al., 2007; Stringer JM et al., 2018).

Los eventos de recombinación no homóloga que subyacen cambios en el número de copias, también permiten volver a colocar exones entre diferentes genes mediante translocación, inserción o deleción, por lo que las proteínas adquieren nuevos dominios y nuevas propiedades (Rotger et al., 2007; Stringer JM et al., 2018).

Por último, el mecanismo de detención de la horquilla de replicación/replicación inducida por ruptura mediada por microhomología (*FoSTeS/MMBIR*, *Fork Stalling Template Switching/microhomology-mediated break-induced replication* por sus siglas en inglés) es un mecanismo de replicación basado en microhomología en tramos cortos localizados en los puntos de ruptura; cuando el asa de replicación se detiene, el extremo 3' de la cadena recién sintetizada puede reanudar la síntesis de DNA sobre un templado diferente en una segunda asa de replicación cercana (Carvalho et al., 2010; Liu G et al., 2018).

ABORDAJE DE PACIENTES CON DISCAPACIDAD INTELECTUAL CON O SIN DEFECTOS CONGÉNITOS

El abordaje de RGD/DI con o sin DC consta de anamnesis dirigida, exploración física y estudios de laboratorio, gabinete, citogenéticos y moleculares. Se realiza una historia clínica detallada que incluya un árbol genealógico de tres generaciones como mínimo. El interrogatorio va dirigido a descartar antecedentes de consanguinidad que aumenten la posibilidad de una enfermedad autosómica recesiva, así como a identificar varones afectados que desciendan de un femenino aparentemente normal, como en el caso de las enfermedades ligadas al cromosoma X (NOM-173-SSA1-1998; Miller et al., 2010; Puri et al., 2016).

Se deben investigar detalladamente antecedentes prenatales y perinatales para descartar daño por hipoxia; ser exhaustivo en la valoración del desarrollo psicomotor, el inicio y la progresión de los síntomas, así como documentar los

diagnósticos previamente establecidos. En la exploración física se debe hacer hincapié en la somatometría, percentilar peso y talla, el perímetro cefálico, para identificar micro o macrocefalia primaria o adquirida; posteriormente continuar con el resto de la misma. La identificación de variantes del desarrollo familiar normal o de dismorfias faciales, así como de otras partes del cuerpo que orienten hacia algún diagnóstico específico o bien, entidad que deberá ser estudiada. En cuanto a niños de 5 años o menores, se deberá determinar si el retraso en el desarrollo es global o selectivo, así como si es progresivo o estático (NOM-173-SSA1-1998; Miller et al., 2010; Puri et al., 2016).

En todos los pacientes pediátricos se deben realizar las evaluaciones específicas necesarias como: tamiz metabólico en orina o ampliado en sangre, potenciales evocados auditivos y visuales, electroencefalograma, resonancia magnética de cráneo, pruebas de función tiroidea, todo esto con el objetivo de descartar la influencia de prematurez, desnutrición, agudeza visual y/o auditiva disminuidas, así como hipotiroidismo entre otras causas orgánicas. De igual manera, se realiza cariotipo con bandas G a aquéllos pacientes que cumplan las indicaciones para realizar este estudio; actualmente, el estudio de primera línea en el abordaje de pacientes con discapacidad intelectual es el cariotipo molecular basado en microarreglos, sin embargo, no es un estudio que se encuentre al alcance en nuestro sistema de salud. El asesoramiento genético se da de acuerdo a la valoración de los hallazgos tanto de cariotipo convencional como molecular (NOM-173-SSA1-1998; Miller et al., 2010; Puri et al., 2016).

DIAGNÓSTICO

De manera general, el diagnóstico de la DI depende de si se cuenta con una sospecha diagnóstica o no. Cuando no se cuenta con un diagnóstico específico se deben descartar alteraciones orgánicas que incluyen potenciales evocados visuales y auditivos, electroencefalograma e imagen de resonancia magnética de cráneo (NOM-173-SSA1-1998; Miller et al., 2010; Puri et al., 2016).

◆ MÉTODOS PARA LA DETECCIÓN DE VARIACIÓN ESTRUCTURAL

Desde 1959, las preparaciones cromosómicas de tejidos humanos han sido usadas para detectar cambios en el número de cromosomas o en su estructura (Martin CL et al., 2015).

La discapacidad intelectual de origen desconocido con o sin defectos congénitos es una indicación para realizar un cariotipo ya sea por métodos basados en la observación directa de los cromosomas o bien, por métodos moleculares o genómicos (Puri et al., 2016).

El cariotipo se define como la caracterización morfológica del complemento cromosómico de un individuo tomando en cuenta el número, la forma y el tamaño de los cromosomas mediante el análisis de los mismos en metafase o prometafase teñidos con técnicas que permiten obtener un patrón característico para cada uno de ellos y su homólogo, por ejemplo: con las bandas GTG; tiene una resolución de 5 a 10 Mb y permite detectar aneuploidías, así como deleciones y duplicaciones mayores a 5 Mb, y rearrreglos balanceados como translocaciones e inversiones y marcadores en mosaico (Merel et al., 2012; Gonçalves et al., 2016).

El cariotipo con bandas G con una resolución mayor a 550 bandas no ha resultado muy útil para el uso clínico en pacientes que no cuenten con una sospecha diagnóstica. Por ello ha sido necesaria la introducción de métodos moleculares como la hibridación *in situ* con fluorescencia (*FISH, Fluorescence In Situ Hybridization* por sus siglas en inglés) que es una técnica que utiliza sondas de DNA marcadas con fluorescencia para detectar ganancias, pérdidas o reubicaciones de segmentos específicos de DNA y puede ser utilizada para una mayor certeza en la evaluación citogenética (Merel et al., 2012; Martin CL et al., 2015).

En la actualidad es posible realizar un cariotipo molecular empleando métodos genómicos como la hibridación genómica comparativa sobre microarreglos (aCGH). Esta prueba es considerada como la prueba diagnóstica de primera línea en individuos con discapacidad intelectual/retraso global del desarrollo y

anomalías congénitas; cuenta con una resolución cien veces mayor comparada con el cariotipo con bandas GTG; permiten detectar ganancias o pérdidas más pequeñas que lo posible por técnicas convencionales y sólo necesita una cantidad de DNA muy pequeña (50 ng). Además de que no se requiere cultivar la muestra del paciente, mientras que en el cariotipo esto tarda 3 días. Sin embargo, los métodos de cariotipo basados en aCGH-microarreglos no detectan rearrreglos cromosómicos balanceados. El uso de sondas SNP (*Single Nucleotide Polimorfism* o polimorfismo de un solo nucleótido), permite detectar un genotipo específico (alelo) en el lugar de la sonda, siendo posible identificar también la pérdida de heterocigosidad y la disomía uniparental. (Shoukier et al., 2013; Miller et al., 2010; Martin CL et al., 2015).

Además, el uso de microarreglos como estudio de primera línea para el abordaje de discapacidad intelectual acompañado o no de malformaciones congénitas tiene una tasa diagnóstica de 15 a 20% a diferencia del cariotipo convencional que sólo permite establecer un diagnóstico en 6%. (Miller et al., 2010).

Por otra parte, algunos autores utilizaron un algoritmo que proponía utilizar -en casos de DI aislada- aCGH como prueba diagnóstica inicial y en caso de que fuera necesario se realizaría un panel génico o la secuenciación de exoma completo (WES: *Whole Exome Sequencing* por sus siglas en inglés) que forma parte de las técnicas de Secuenciación de Segunda Generación (NGS, *Next Generation Sequencing* por sus siglas en inglés) (Anazi et al., 2016).

La NGS es un término colectivo que engloba las técnicas de secuenciación en la era post-Sanger que en la última década ha sido útil para identificar nuevos genes candidatos asociados a DI de origen monogénico y debido a la gran heterogeneidad genética de esta entidad, probablemente llegue a ser la prueba diagnóstica de primera línea para la discapacidad intelectual de origen desconocido (Vissers et al., 2015).

1.4. CROMOSOMA X

CARACTERÍSTICAS GENERALES

Se trata de un cromosoma submetacéntrico que mide 156 millones de pares de bases; contiene 843 genes codificantes, 640 genes no codificantes y 872 pseudogenes (www.ensembl.org).



Figura 1. Idiograma del cromosoma X. Al lado izquierdo se muestra el idiograma con bandas GTG, así como la representación gráfica del porcentaje general de los 843 genes codificantes (rojo), 640 no codificantes (azul) y 872 pseudogenes (negro). Imagen tomada de www.ensembl.org, abril 2018.

El cromosoma X es pobre en genes y tiene bajo contenido en G+C (39%), comparado con el promedio en el genoma humano (41%), este cromosoma contiene el gen más grande del genoma humano: *DMD*, que codifica para la distrofina. Asimismo, los repetidos interespaciados derivados de retrotransposones representan 56% de la secuencia eucromática del

cromosoma X, comparado con el promedio del genoma que es 45% (Ross M et al., 2005).

De los 700 genes asociados a DI, ya sea con modo de herencia ligada al cromosoma X o bien de origen autosómico (dominante o recesivo), alrededor de 100 genes causan DI ligada al cromosoma X y del 10 al 13% de la DI en varones es debida a mutaciones en estos genes (Puri et al., 2016).

INACTIVACIÓN DEL CROMOSOMA X

Los cromosomas sexuales, X e Y de los mamíferos, se originaron de un par autosómico. El cromosoma X conserva más del 95% de los genes ancestrales, mientras que el cromosoma Y sólo conserva el 2%, esto ocasiona un desbalance genético para los genes ancestrales entre los individuos femeninos y masculinos, por lo que existe una estrategia para la compensación de dosis desarrollada en los mamíferos; consiste en que los femeninos inactivan transcripcionalmente uno de sus dos cromosomas, en un proceso conocido como la inactivación del cromosoma X (ICX) (Finestra et al., 2017; Pinheiro et al., 2017).

La ICX se inicia durante el periodo embrionario, cuando se encuentran de 10 a 20 células del epiblasto. A pesar de las múltiples investigaciones, los mecanismos de transcripción o asociados a cromatina, responsables para la iniciación de la silenciación génica mediada por XIST aún faltan de definir y ser clasificados (Lee JT et al., 2013; Pinheiro et al., 2017).

Sobre la expresión de XIST, los genes a lo largo del cromosoma X inactivo (Xi) empiezan a ser silenciados progresivamente, con genes que son silenciados en etapas tempranas, medias o tardías de la inactivación del cromosoma X. Se ha sugerido que el silenciamiento pueda ser un proceso con un gradiente lineal de XIST dentro del centro de inactivación del cromosoma X (Xic), silenciando primero los genes más cercanos a él mismo (Pinheiro et al., 2017).

Durante el desarrollo embrionario femenino, mantener dos cromosomas X activos es letal, indicando que la regulación estricta de la expresión de genes ligados al cromosoma X es esencial (Finestra et al., 2017).

A pesar de la complejidad del proceso, del 12 al 20 % de los genes ligados al X escapan a la ICX en el humano (Finestra et al., 2017; Pinheiro et al., 2017).

En los modelos murinos, que son los mejores estudiados para el tema de la ICX, se ha visto que la inactivación se lleva en 2 eventos principales. El primer evento corresponde a la inactivación del cromosoma X de origen paterno en los primeros 2 a 4 días de la embriogénesis, lo cual se revierte en las células de la masa interna. Ya que se ha implantado el cigoto, se inicia la inactivación del cromosoma X al azar (ICXa), la cual será transmitida a toda la clona en un número infinito de divisiones celulares (Finestra et al., 2017).

Por último, en tejidos adultos, la expresión génica, la organización tridimensional y el estatus epigenético general de Xi son esenciales para mantener el silenciamiento de Xi. En el caso de los humanos, la ICX se completa en el periodo de preimplantación del embrión cuando el epiblasto apenas consta de 10 a 20 células y ya que se estableció, el patrón de ICX se propaga establemente en el cuerpo, con el mismo cromosoma X mantenido como Xi en divisiones mitóticas subsecuentes (Lee JT et al., 2013; Finestra et al., 2017).

TRANSLOCACIÓN ENTRE UN CROMOSOMA X Y UN AUTOSOMA

La translocación entre un cromosoma X y un autosoma es un rearrreglo que resulta del intercambio de segmentos entre un cromosoma X y uno de los autosomas. Se estima que se presentan en uno de cada 30 000 recién nacidos vivos (Luthardt et al., 2001; Dhanlaxami L et al., 2014).

Las portadoras de una translocación balanceada X;autosoma pueden tener un fenotipo normal, es decir no tener alteraciones fenotípicas e incluso ser fértiles; sin embargo, llegan a ser detectadas ya que acuden a atención médica debido a pérdidas gestacionales recurrentes, o por infertilidad. Por otra parte, el cuadro clínico se puede asociar a: amenorrea primaria o secundaria, hipogonadismo y a anomalías congénitas múltiples y discapacidad intelectual, tanto para portadoras balanceadas de translocación X; autosoma, como para las portadoras no balanceadas de la misma, aunque mucho depende del material cromosómico que se encuentre perdido o ganado (Dhanlaxami L et al., 2014).

Las anomalías cromosómicas ocurren en 8.8 al 33% de las mujeres con falla ovárica prematura y del 10 al 15% de los casos son anomalías del cromosoma X, ya sean numéricas o estructurales, dentro de las cuales se encuentran las translocaciones entre un cromosoma X y un autosoma balanceadas y desbalanceadas (Baronchelli S et al., 2012).

Los rearrreglos estructurales que involucran a un cromosoma X pueden interrumpir la recombinación normal en meiosis llevando a su arresto, sobre todo en masculinos, en femeninos no es frecuente la detención de la meiosis (Baronchelli S et al., 2012).

Las translocaciones desbalanceadas entre un cromosoma X y un autosoma proveen un sistema único para el estudio de la propagación de la ICX; en el 90% de estos rearrreglos, el cromosoma X anormal se inactiva para evitar la nulisomía funcional de un segmento del cromosoma X y la trisomía parcial del autosoma (Schluth C et al., 2007).

Exactamente como ocurre en el cromosoma X, se ha demostrado que varios genes autosómicos encontrados en *cis* con el Xi se vuelven inactivos, mientras que otros escapan a la ICX, asimismo, la propagación de la señal de inactivación generalmente es menos eficiente en la cromatina autosómica en comparación con el cromosoma X y está relacionada significativamente con la densidad de repetidos L1. Tanto L1 como L2 son las únicas clases de repetidos que se encuentran enriqueciendo significativamente las zonas alrededor de los genes translocados en el tipo de anomalía cromosómica estructural antes mencionada y que rodean genes autosómicos silenciados por la ICX (Tannan NB et al., 2014).

1.5. CROMOSOMA 8

CARACTERÍSTICAS GENERALES

El cromosoma 8 es un cromosoma submetacéntrico perteneciente al grupo C. Este cromosoma mide 145 millones de pares de bases aproximadamente, tiene 670 genes codificantes y 1041 no codificantes, así como 629 pseudogenes (www.ensembl.org).



Figura 2. Idiograma del cromosoma 8. Al lado izquierdo se muestra el idiograma con bandas GTG, así como la representación gráfica del porcentaje general de los 670 genes codificantes (rojo), 1041 no codificantes (azul) y 629 pseudogenes (negro). Imagen tomada de www.ensembl.org, abril 2018.

El cromosoma 8 es el primer autosoma y uno de los únicos dos cromosomas (siendo el otro el cromosoma X) para los cuales su secuencia se extiende a toda la región pericentromérica (Nusbaum et al., 2006).

Cerca del 8% de los genes del cromosoma 8 participan en el desarrollo y función cerebral, así como cerca de 16% están involucrados en cáncer (Tabarés-Seisdedos R et al., 2009).

Algunos ejemplos de enfermedades monogénicas relacionadas con el cromosoma 8 son: anemia de Blackfan-Diamond (MIM #105650), síndrome de Werner (MIM #277700), de Pfeiffer (MIM 101600), de Jackson-Weiss (MIM #123150), retinitis pigmentosa-1 (MIM #181000) y síndrome de Cohen (MIM #216550) (www.omim.org; Tabarés-Seisdedos R et al., 2009).

TRISOMÍA PARCIAL 8q

La trisomía parcial 8q es una aneuploidía causada por la presencia de material extra del brazo largo de un cromosoma 8 (Luthardt FW, 2001).

La duplicación en 8q22-qter (como una forma de trisomía parcial) ha sido reportada en más de 30 pacientes, la mitad de ellos cuentan con el antecedente de un padre o madre portador de la inversión pericéntrica del cromosoma 8 (Khalifa OA et al., 2011).

Los pacientes con duplicación de 8q22-qter tienen un espectro clínico amplio. Las manifestaciones comunes incluyen discapacidad intelectual, crisis convulsivas, talla baja, facies característica (cara amplia, fisuras palpebrales descendentes, hipertelorismo, puente nasal deprimido, narinas antevertidas, *filtrum* largo, micrognatia y pabellones auriculares largos), hipertricosis, cardiopatías congénitas y criptorquidia (Concolino D et al., 2012; Sohn YB et al., 2013).

La trisomía 8 completa, o síndrome Warkany, tiene efectos severos en el feto en desarrollo y casi siempre es letal en la etapa perinatal. El mosaico de trisomía 8 es menos severo, su cuadro clínico presenta gran variabilidad fenotípica, incluyendo: discapacidad intelectual moderada a severa, retraso en el crecimiento, dismorfias craneofaciales (frente prominente, occipucio plano, facies triangular, hipertelorismo, telecanto, *filtrum* largo y pabellones auriculares de implantación baja), anomalías esqueléticas (especialmente alteraciones costovertebrales), disminución de la movilidad articular, camptodactilia, cardiopatías, agenesia del cuerpo calloso y pliegues palmares y plantares profundos; también se ha asociado a enfermedades hematológicas y neoplasias (Sohn YB et al., 2013; Giraldo G et al., 2016; Özcan Ü et al., 2015).

El diagnóstico de esta trisomía, como en cualquier otra, es mediante técnica citogenética (cariotipo) demostrando la presencia de un cromosoma 8 extra (o segmento del mismo) (Giraldo G et al., 2016).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Una de las principales indicaciones para realizar cariotipo es el retraso global del desarrollo/discapacidad intelectual de origen desconocido con o sin malformaciones congénitas; el porcentaje de pacientes que se ven beneficiados con diagnóstico citogenético convencional es de aproximadamente 6% y una de las alteraciones cromosómicas encontradas en los pacientes atendidos en el Departamento de Genética del HIMFG es una translocación entre un cromosoma X y un autosoma. En nuestro país aún no existe estadística sobre RGD/DI con o sin malformaciones congénitas causadas por dicha alteración.

3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la prevalencia de alteraciones cromosómicas del tipo translocación entre un cromosoma X y un autosoma en pacientes del departamento de Genética del HIMFG con discapacidad intelectual con o sin malformaciones congénitas y qué características clínicas, citogenéticas y moleculares presentan?

4. JUSTIFICACIÓN

Los defectos congénitos son motivo de consulta diaria en nuestra institución, en particular en el departamento de Genética; estos se encuentran frecuentemente asociados con discapacidad intelectual/retraso global del desarrollo, sin olvidar que se ha calculado su prevalencia mundial en hasta el 1 al 3%, por lo que este problema no sólo concierne a la Salud Pública mexicana sino mundial. Si bien muchas de las alteraciones cromosómicas causan DI con malformaciones congénitas, en particular cuando nos encontramos ante una translocación entre un cromosoma X y un autosoma, balanceada o no, es muy importante el estudio citogenético y molecular de esta anomalía para poder conocer las implicaciones que tiene en el fenotipo.

5. OBJETIVOS

5.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar la prevalencia de las translocaciones entre un cromosoma X y un autosoma en los pacientes con discapacidad intelectual con o sin malformaciones congénitas atendidos en el departamento de Genética del HIMFG y conocer las características clínicas, citogenéticas y moleculares implicadas, con revisión de un caso en particular con un der(X)t(X;8).

5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar en un periodo de 10 años, de 2008 a 2017, los casos de pacientes con discapacidad intelectual, con o sin malformaciones congénitas y alteración cromosómica del tipo translocación balanceada o no balanceada entre un cromosoma X y un autosoma.
- Determinar la prevalencia de las translocaciones entre un cromosoma X y un autosoma dentro de la población atendida en el servicio de Genética del HIMFG.
- Reportar el tipo de translocación, balanceada o no, presente en los pacientes y la causa por la cual se les solicitó un cariotipo, así como sus características clínicas.
- Describir y analizar clínica, citogenética y molecularmente el caso de una paciente con un derivativo del cromosoma X producto de una translocación *de novo* entre un cromosoma X y un autosoma 8.
- Comparar los datos obtenidos con lo reportado en la literatura.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

- Se revisaron las libretas de los registros de los resultados de los cariotipos realizados en el periodo de enero de 2008 a diciembre de 2017.
- Se registró el número total de cariotipos realizados en ese periodo, y se determinó el porcentaje de los mismos que presentó alguna aberración cromosómica.
- Se registraron los datos citogenéticos y clínicos, incluyendo causa por la que se les solicitó cariotipo, de las pacientes en cuyo cariotipo se encontró una translocación entre un cromosoma X y un autosoma.
- Se realizó cariotipo con bandas GTG (Anexo I) a los padres de los pacientes con t(X;A) para determinar si el rearrreglo presente ocurrió *de novo* o fue heredado de alguno de sus progenitores.
- Se analizó el caso particular de una paciente con translocación desbalanceada entre un cromosoma X y un cromosoma 8. Se realizó una nueva evaluación clínica y se completó el estudio citogenético con un análisis empleando FISH (Anexo II).

6.1. TIPO DE ESTUDIO

Descriptivo, transversal y retrospectivo. El tamaño de la muestra fue por conveniencia.

6.2. CRITERIOS

DE INCLUSIÓN

- Pacientes femeninos o masculinos con translocación balanceada o desbalanceada entre un cromosoma X y un autosoma.

DE EXCLUSIÓN

- Fórmulas no legibles.

DE ELIMINACIÓN

- Pacientes que no aceptaron participar en el estudio
- Muestra insuficiente para continuar los estudios moleculares.

7. RESULTADOS

7.1. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA BÚSQUEDA DE PACIENTES CON CARIOTIPOS CON TRANSLOCACIONES ENTRE UN CROMOSOMA X Y UN AUTOSOMA

En el periodo de 2008 a 2017 se realizaron un total de 6315 cariotipos en el Laboratorio de Citogenética del Departamento de Genética del HIMFG. En 25.8% de ellos (1630 casos) se reportó una aberración cromosómica; de estos, sólo en 0.4% (6 casos) se encontró una translocación entre un cromosoma X y un autosoma (ver tabla 1). No se encontró en el registro ningún paciente varón con translocación X;autosoma.

CASO	SEXO	DIAGNÓSTICO CLÍNICO	CARIOTIPO
1	Mujer	Retinoblastoma derecho, RGD, secuelas de PEVAC derecho, ectopia renal cruzada (2010).	45,X,der(X)t(X;13)(q28;q12),-13dn[25]
2.1	Mujer	Síndrome de Nance-Horan (2011).	46,X,t(X;1)(p22.13;q22)mat[25]
2.2	Mujer	Síndrome de Nance-Horan (madre) (2012).	46,X,t(X;1)(p22.13;q22)[25]
3	Mujer	RGD, atrofia óptica bilateral (2015).	46,X,t(X;1)(p11;q21)dn[15]
4	Mujer	Amenorrea primaria, retraso en el desarrollo puberal y antecedente de RGD (2015).	46,X,der(X)t(X;8)(q22;q21)dn[25]
5	Mujer	RGD y DDC (2017).	46,X,t(X;2)(q22;q31)dn[25]
6		Síndrome dismórfico, RGD y DDC (2017).	46,X,t(X;10)(p22.1;q22.1)dn[25]

Tabla 1. Pacientes en los que se encontró una translocación entre un cromosoma X y un autosoma en el periodo 2008 a 2017. Se ordenaron de acuerdo con el año en que se realizó el estudio citogenético. *DDC: displasia del desarrollo de la cadera. PEVAC: pie equinvaro aducto congénito. RDG: retraso global del desarrollo.*

Como parte del protocolo de estudio, a todos los padres de las pacientes se les realizó estudio citogenético con bandas GTG. Este resultó normal en 5 de los 6 casos, sólo el caso 2 resultó ser familiar, al estar presente el mismo rearrreglo en su madre. En cuatro de las pacientes las translocaciones fueron aparentemente balanceadas y sólo en dos pacientes se encontró un

der(X)t(X;A), casos 1 y 4. Esta última fue objeto de análisis detallado en esta tesis.

7.2. PRESENTACIÓN DEL CASO CLÍNICO

Se trata de paciente femenino de 16 años de edad originaria de Oaxaca, al igual que su ascendencia. No presenta antecedentes heredofamiliares de importancia (figura 3).

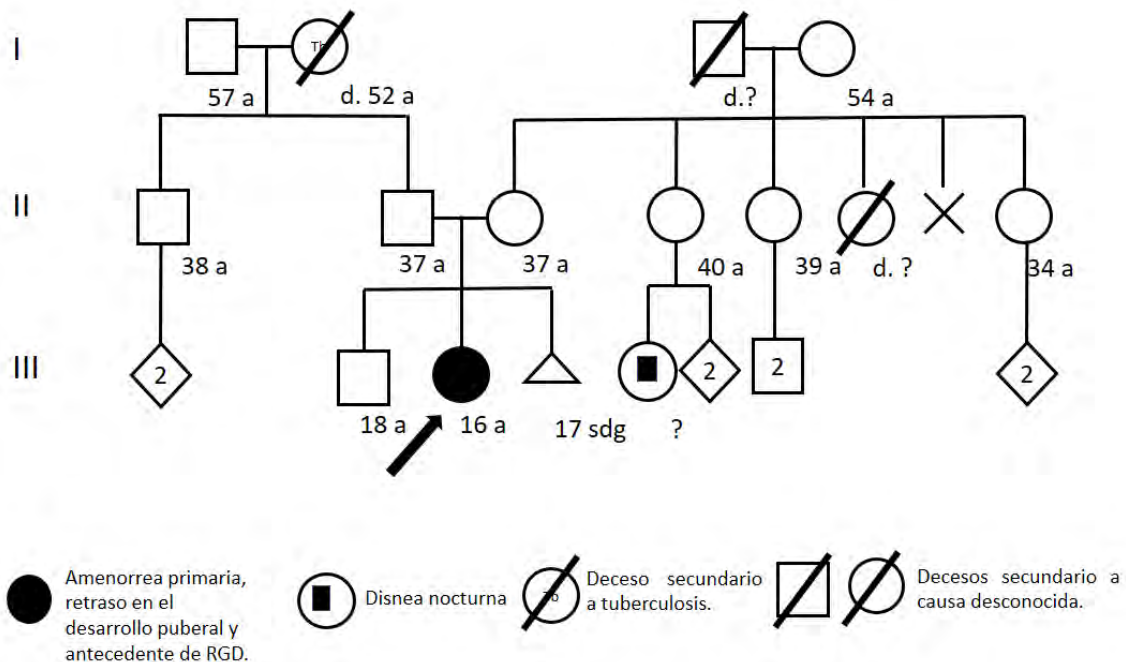


Figura 3. Árbol genealógico de la paciente.

Producto de la segunda gesta de padres jóvenes, no consanguíneos, sanos, sin control prenatal, sin ingesta de ningún tipo de medicamentos, ni de exposición a teratógenos; se desconoce edad gestacional, atendida en domicilio por partera. Desarrollo psicomotor inicial aparentemente retrasado, sin embargo, se refiere que terminó la escuela secundaria. En cuanto a los antecedentes personales patológicos: hospitalizada a los 2 años de edad por neumonía, presentó COMBE positivo. En abril de 2014 fue referida a Genética del HIMFG por retraso puberal, amenorrea primaria y algunas dismorfias, para descartar síndrome de Turner.

A la exploración física: somatometría peso 48kg (p10-25), talla 153cm (p3-p10). Adolescente aparentemente íntegra, sin facies característica, de edad biológica similar a la cronológica, con braquicefalia, frente amplia, hipertelorismo ocular, pabellones auriculares en retroposición y de implantación baja, línea folicular posterior de implantación baja, cuello corto, teletelia, Tanner mamario I, genitales externos femeninos Tanner I, fosetas sacras. Miembros superiores con *cubitus valgus* y clinodactilia bilateral y miembros inferiores con *hallux valgus*. Vello abundante en miembros superiores e inferiores (figuras 4, 5 y 6).

En su abordaje inicial, el servicio de Endocrinología solicitó: **perfil hormonal** (FSH y LH) el cual mostró datos compatibles con hipogonadismo primario; los paraclínicos solicitados por genética, fueron los siguientes: en el **estudio radiográfico** de columna vertebral se encontró escoliosis dextroconvexa lumbar y hemivértebra en T3. **Edad ósea** de 13 años. **USG pélvico**: útero de 23.3mm x 4.6mm x 8.9mm, no se identificaron ovarios.

Endocrinología inició terapia hormonal sustitutiva desde 2016 y en su última consulta de seguimiento se registró discreto crecimiento mamario, sin embargo, dejó de acudir a la institución ese mismo año.



Figura 4. Propósita en posición de pie frontal y dorsal. Se observa femenino sin desarrollo mamario, abundante tejido adiposo en abdomen; miembros torácicos con asimetría escapular y *cúbitus valgus*, los pélvicos con *genu valgo* bilateral.



Figura 5. Imagen frontal y lateral de cara. Se observan las características faciales de la paciente: braquicéfala, implantación anterior folicular adecuada, frente amplia, cejas delgadas, fisuras palpebrales horizontales, nariz amplia de raíz a base, filtrum corto, labios gruesos, cuello corto con implantación folicular posterior baja y pabellones auriculares de implantación baja.



Figura 6. Manos y pies de la propósita. A la izquierda se observan las manos con clinodactilia del 5º dedo bilateral; a la derecha se observan los pies con camptodactilia del 3er ortejo izquierdo y hallux valgus bilateral.

7.3. ANÁLISIS CITOGENÉTICO

Como parte del protocolo de estudio de amenorrea primaria y ante sospecha de síndrome de Turner, se realizó cariotipo con bandas GTG que detectó material adicional en el brazo largo de uno de los cromosomas X (figura 7).

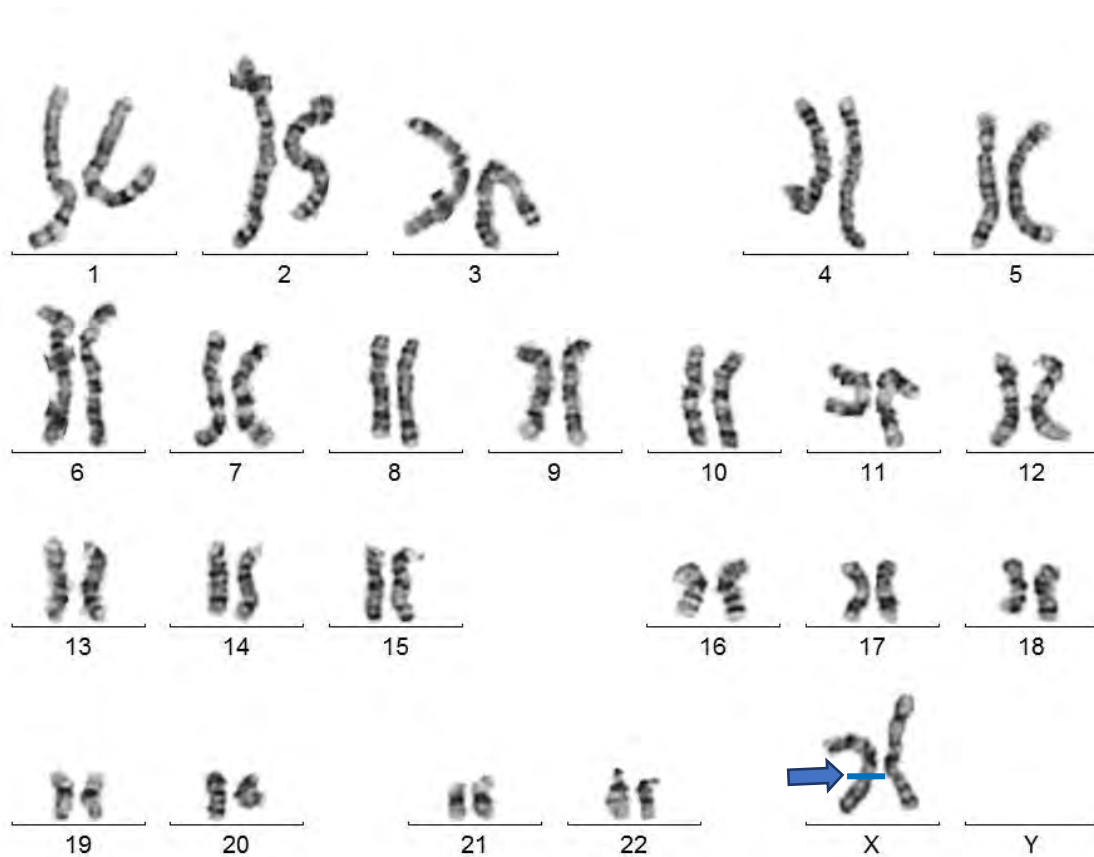


Figura 7. Cariotipo de la paciente: 46,X,add(X)(q22)[25]. Se señala el material adicional en uno de los cromosomas X (flecha). (QFB. Ana Yolotl Aparicio Onofre, Lab. de Citogenética, Depto. De Genética, HIMFG).

El cariotipo de los padres resultó ser:

- Madre: 46,XX[25] que corresponde a un femenino normal.
- Padre: 46,XY[25] que corresponde a un masculino normal.

El análisis del patrón de bandas GTG en el der(X) y su comparación con el resto de los cromosomas hizo sospechar que el material extra correspondía al cromosoma 8, por lo que se procedió a realizar FISH con sondas subteloméricas para ese cromosoma (mezcla 8, ToTelvysion, Vysis, Abbott, Abbott Park III, USA) y con sonda centromérica del cromosoma X.

El resultado final fue:

46,X,der(X)t(X;8)(q22;q21)dn.ish der(X)t(X;8)(TelXp+,DXZ1+,Tel8q+)[10]

que corresponde a un cariotipo femenino con un derivativo del cromosoma X resultado de una translocación entre el cromosoma X y el autosoma 8; con puntos de ruptura en el brazo largo del cromosoma X, región 2 banda 2 y en el brazo largo del cromosoma 8 región 2 banda 1. El estudio con FISH indicó que existía la translocación referida ya que el der(X) positivo para el centrómero del cromosoma X mostró la señal para la región subtelomérica del brazo q del cromosoma 8 en 10 metafases (Figura 8); por ello, la paciente presenta una monosomía de Xq22-Xqter y una trisomía de 8q21-8qter.

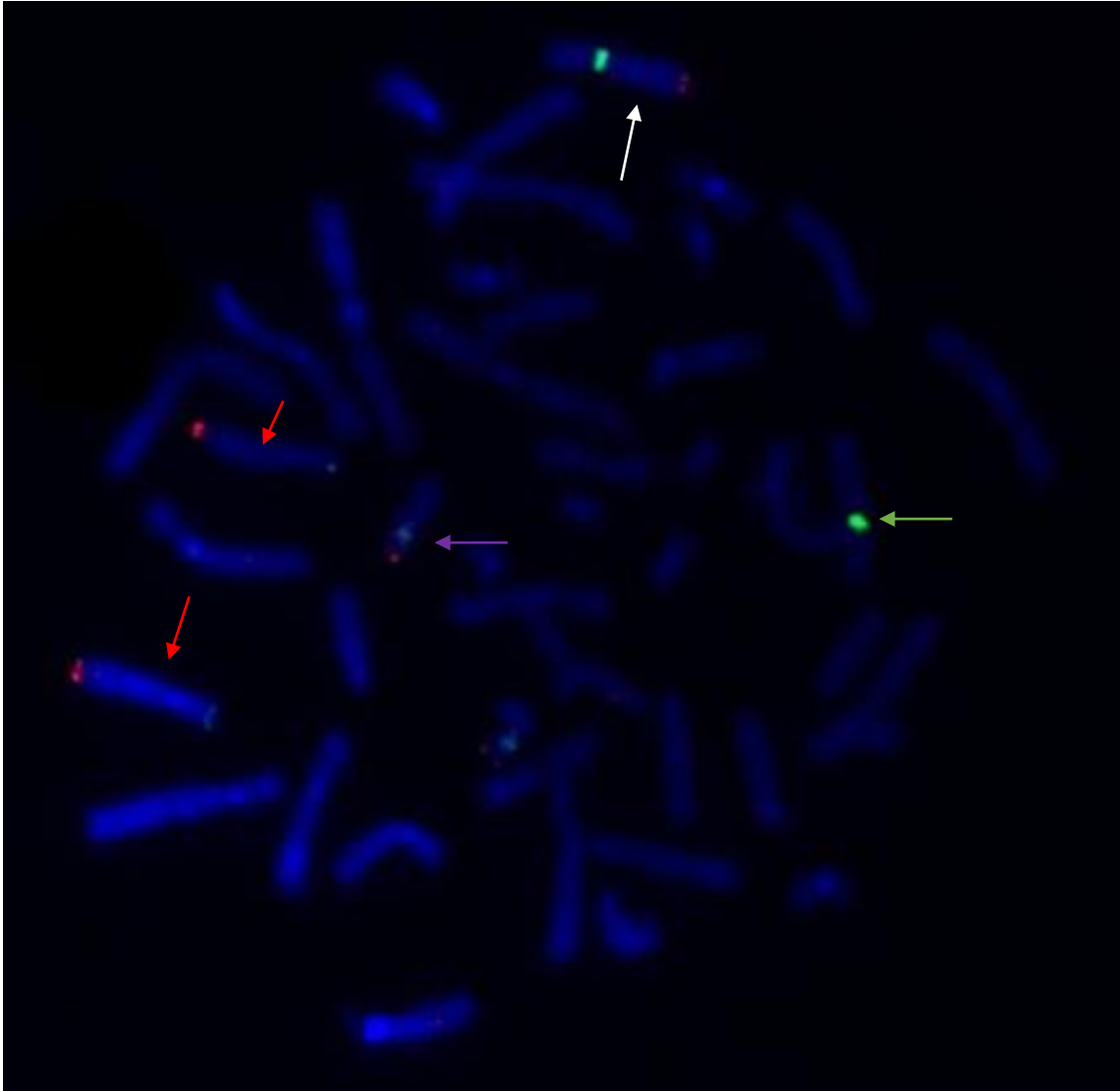


Figura 8. Metafase parcial con FISH de la paciente con sondas para región subtelomérica 8p en espectro verde, subtelomérica 8q en espectro naranja y región centromérica de cromosoma X en espectro verde (mezcla 8, ToTelvysion, Vysis, Abbott, Abbott Park III, USA). Se observan dos cromosomas 8 (flechas rojas) con ambas sondas subteloméricas y un cromosoma X normal con sonda de la región centromérica del cromosoma X (flecha verde); en el derivativo del cromosoma X (flecha blanca) se observa la señal de cen(X) en verde y la región subtél 8q en naranja. La flecha morada señala a uno de los cromosomas 17 con sonda para centrómero en Aqua y subtél 17p en naranja, sondas que forman parte de la mezcla 8 (Biol. Ariadna Berenice Morales Jiménez, Lab. de Citogenética, Depto. De Genética, HIMFG).

8. DISCUSIÓN

Las translocaciones entre un cromosoma X y un autosoma son infrecuentes, se estima que ocurren en 1 de cada 30 000 recién nacidos vivos y están asociadas con un fenotipo donde se incluye: amenorrea, hipogonadismo, anomalías congénitas múltiples y DI/RGD. Estas han sido de particular importancia para su estudio por parte de genetistas, ya que no sólo son raras y presentan una clínica muy heterogénea, sino que también son de especial interés debido a que proveen información sobre el patrón de inactivación del cromosoma X y los genes que contiene (Dhanlaxami L et al., 2014; Sills ES et al., 2012).

En la población atendida en la consulta externa del servicio de Genética del HIMFG durante el periodo de 2008 a 2017, se encontraron seis casos femeninos de translocación entre un cromosoma X y un autosoma, en donde el motivo de estudio varió y sólo un caso (que es de especial atención en esta tesis) se presentó por primera vez a la consulta por amenorrea primaria y retraso del desarrollo puberal para descartar síndrome de Turner.

En el caso 1, el cariotipo mostró una translocación entre el cromosoma X y el autosoma 13; se trató de un paciente femenino con un rearrreglo desbalanceado *de novo* en el que el punto de ruptura involucró una región cercana al gen *RB* (locus 13q14), que al presentar inactivación sesgada del cromosoma X derivativo, podría extenderse al gen *RB* y estar implicada con la presencia de retinoblastoma derecho, y que, además, presentó RGD y defectos congénitos (ectopia renal cruzada y pie equinovaro), las cuales son anomalías que podrían corresponder a la monosomía proximal de 13q11-q12 que presenta la paciente y que como se mencionó al inicio de esta sección se han reportado asociadas con las translocaciones X;autosoma (Sills ES et al., 2012).

El caso 2, es de especial importancia, ya que el fenotipo corresponde al de una enfermedad monogénica recesiva ligada al cromosoma X, el síndrome de Nance-Horan, que afecta sobretodo a varones. Aquí se trata de un caso caso

madre-hija portadoras de la misma translocación balanceada 46,X,t(X;1)(p22.13;q22) que presentaron el cuadro clínico completo de la enfermedad; el punto de ruptura comprometía al gen *NHS* (locus Xp22.13) y se demostró en la madre una inactivación preferencial del cromosoma X normal, lo que hace que en ellas no exista ninguna copia funcional del gen *NHS* y que presenten un fenotipo que normalmente no se observa en las mujeres heterocigotas. Este es un ejemplo de cómo las translocaciones balanceadas pueden producir cambios en la expresión de un gen si éste es interrumpido, aunque no haya ganancia ni pérdida de material genético (Gómez-Laguna L et al., 2017; Spielmann M et al., 2018).

El tercer caso se trata de un paciente femenino con una translocación balanceada *de novo* entre un cromosoma X y un autosoma 1, en el que el motivo de estudio fue RGD (rasgo compartido con el resto de las pacientes con una translocación X autosoma aparentemente balanceada) y atrofia óptica bilateral; si bien en el cromosoma 1 existen genes relacionados con patología ocular como *GLC1A* (locus1q24.3) o *USH2A* (locus 1q41), el cariotipo convencional no brinda información que permita explicar los padecimientos de la paciente (www.omim.org).

El caso 5 se trató de un paciente femenino con una translocación balanceada *de novo* entre un cromosoma X y un cromosoma 2 cuyo motivo de estudio fueron el retraso global del desarrollo y la displasia del desarrollo de cadera; si bien se ha asociado el primer diagnóstico al rearreglo X;autosoma, la DDC no parece estar asociada con esta anomalía cromosómica; lo mismo en cuanto al caso 6 que se trató también de otra translocación balanceada, *de novo*, entre un cromosoma X y en este caso el cromosoma 10. En este último caso se agrega al diagnóstico: síndrome dismórfico y llama la atención que el punto de ruptura en el cromosoma X parece estar en la misma región que en el caso 2; sin embargo, el punto de ruptura molecular debe ser diferente porque la paciente no presentaba datos sugestivos de Síndrome de Nance-Horan como catarata congénita, microftalmia, microcórnea o alteraciones dentales (Gómez-Laguna L et al., 2017).

Sólo uno de los 6 casos (caso2) se trató de un rearrreglo familiar, ya que, en el resto de ellos se les realizó estudio citogenético a los padres, como parte del protocolo de estudio, y se descartó que fueran heredados. En los otros 3 casos en que se trató de translocaciones aparentemente balanceadas, se debería complementar el estudio con cariotipo molecular por aCGH-microarreglos para descartar microdeleciones o microduplicaciones que pudieran explicar los cuadros clínicos, así como la secuenciación de los puntos de ruptura citogenéticos para ver si se interrumpen genes o hay un efecto de posición (Martin CL et al., 2015).

El caso 4, que recibió especial atención en esta tesis, se trató de una paciente cuyo motivo de presentación a la consulta fue amenorrea primaria, retraso en el desarrollo puberal y antecedente de RGD. Llamó la atención que, si bien no mostraba facies característica de síndrome de Turner ni talla baja, a la exploración física presentaba dismorfias menores que se encuentran en él, tales como: cuello corto con implantación folicular posterior baja y *cúbitus valgus* bilateral. El estudio citogenético mostró una **translocación no balanceada de novo** entre un cromosoma X y un cromosoma 8, por lo que presentó una monosomía de Xq22-Xqter y una trisomía de 8q21-8qter.

Entre la población general, la amenorrea se detecta en 2 a 5% de mujeres en edad fértil y las anomalías cromosómicas pueden ser hasta en 63% de ellas la causa de la amenorrea primaria. Las translocaciones entre un cromosoma X y un autosoma se relacionan frecuentemente con falla ovárica primaria o secundaria y, en algunos casos, sobre todo cuando está implicado el brazo corto del cromosoma X o la presencia de una línea celular 45,X pueden presentar rasgos similares a los del síndrome de Turner (Dhanlaxami L et al., 2014).

En cuanto a las mujeres con una translocación X; autosoma desbalanceada, los segmentos autosómicos adyacente pueden ser inactivados como resultado de ICX del derivativo del cromosoma X, mitigando cualquier potencial adverso fenotípico derivado del desbalance autosómico. A pesar de esta inactivación no al azar, en la mayoría de las heterocigotas para un der(X)t(X;A) se presentan

defectos congénitos, retraso global del desarrollo y/o disgenesia gonadal. Por otra parte, las portadoras de translocación desbalanceada entre un cromosoma X y un autosoma, usualmente presentan rasgos de síndrome de Turner debido a monosomía parcial del brazo corto del cromosoma X o por la presencia de un mosaico con una línea 45,X (Sills ES et al., 2012; Chen CP et al., 2014).

La translocación en este caso involucró una ruptura en el brazo largo del cromosoma X. Los genes esenciales para el desarrollo ovárico normal se localizan tanto en brazo corto como en el largo del cromosoma X. La paciente presentó amenorrea primaria debido a disgenesia gonadal, y debido a monosomía de la región Xq22-q27 donde se encuentran genes necesarios en doble dosis para la formación de los folículos y para la función ovárica adecuada (Venkateshwari, 2015). Existen genes como *PGRMC1* (OMIM 300435) localizado en Xq24 y que codifica para el componente 1 del receptor de membrana para progesterona que tiene un papel en el crecimiento del folículo ovárico. La disminución de la expresión de *PGRMC1* se ha asociado con falla ovárica prematura (FOP) y síndrome de ovario poliquístico; no obstante, la sobreexpresión de este mismo gen se ha asociado también con desarrollo folicular incompleto mediante la disrupción de la interacción del huso mitótico de las células de la granulosa e inhibiendo las mitosis de estas mismas (Chen CP et al., 2014; Mansouri et al., 2008).

En Xq27.3 se encuentra *FMR1* (OMIM 309550) que codifica para la proteína FMR1 que ha sido asociada con falla ovárica prematura. Chen, et al (2014) menciona que las deleciones terminales en Xq han sido asociadas con FOP y que las translocaciones desbalanceadas X-autosoma se relacionan con reserva ovárica disminuida (Chen CP et al., 2014).

Por otra parte, el caso de esta paciente es ejemplo de una alteración en la dosis y en la estructura del cromosoma X que resulta en la disrupción del proceso normal de la diferenciación del fenotipo sexual. Así, el fenotipo anormal es consecuencia de la haploinsuficiencia de genes críticos para la formación de ovario localizados en Xq (Cotton AM et al., 2014; Sills ES et al., 2012).

A pesar de presentar ciertas dismorfias relacionadas con síndrome de Turner, la paciente en cuestión no presenta talla baja, esto debido a que el brazo corto del cromosoma X está íntegro y con esto, el gen *SHOX* sí se encuentra en doble dosis, por lo que la talla es normal (www.omim.org). Los estigmas encontrados de síndrome de Turner podrían deberse a mosaicismo con una línea 45,X la cual en 25 metafases en linfocitos de sangre periférica no fue detectada (Sills ES et al., 2012)

Por otra parte, la paciente presentó trisomía parcial 8q21-qter. Los pacientes con duplicación de 8q tienen un espectro clínico amplio. Las manifestaciones comunes incluyen discapacidad intelectual, crisis convulsivas, talla baja, dismorfias faciales (cara amplia, fisuras palpebrales descendentes, hipertelorismo, puente nasal deprimido, narinas antevertidas, filtrum largo, micrognatia y pabellones auriculares largos), hipertrichosis, cardiopatías congénitas y criptorquidia (Concolino D et al., 2012). En nuestro caso la paciente presenta sólo las dismorfias faciales y la hipertichosis de los datos asociados a la duplicación 8q. La ausencia de malformaciones mayores en la paciente puede explicarse por una inactivación preferencial del der(X); este cromosoma debe estar inactivo en la mayoría de las células con extensión de la heterocromatización al segmento translocado del cromosoma 8 y por ello presentar un fenotipo leve. Durante la inactivación del cromosoma X, la inactivación de los genes autosómicos translocados en el der(X) puede que no sea completa, por ello, es posible que nuestra paciente presente anomalías fenotípicas menores asociadas con rearrreglos desbalanceados y que, de la misma manera, se explique el antecedente de RGD (Sills ES et al., 2012; Chen CP et al., 2014).

Después de revisar la literatura internacional, se encontraron 4 casos de translocación entre un cromosoma X y un autosoma 8 con puntos de ruptura diferentes en cada caso en ambos cromosomas (tabla 2); tres de los 4 casos corresponden a translocaciones aparentemente balanceadas por lo que no es posible hacer una comparación entre los datos clínicos en ellas y los presentes en nuestra paciente. En el caso reportado por Cox y colaboradores (2003) se

trató de un rearrreglo desbalanceado, ya que al realizar análisis molecular con FISH y PCR, se identificó una duplicación de aproximadamente 650 kb en el punto de ruptura; este caso se trató de un paciente femenino con una translocación 46,X,t(X;8)(q28;q12), estudiada por DI de origen desconocido, sin embargo, no se reportaron otros defectos congénitos y el punto de ruptura no afecta genes involucrados en el desarrollo ovárico, por lo que tampoco presenta datos de amenorrea primaria o retraso del desarrollo puberal como nuestra paciente (Cox J et al., 2003).

Llama la atención que en la revisión de los casos en que se una t(X;A) ninguno de los sujetos identificados fue hombre. Por lo general, los portadores masculinos de translocaciones balanceadas acuden a consulta por infertilidad (azoospermia) por problemas en la recombinación meiótica, sobretodo si no es posible la formación del cuerpo X-Y, debido a que el control de paquiteno durante la espermatogénesis es estricto. La interacción entre los derivados autosómicos y las vesículas sexuales llevan a errores meióticos con el consecuente arresto gametogénico (Perrin A et al., 2009; Szvetko A et al., 2012). Por otra parte, en los masculinos portadores de una translocación balanceada X;autosoma puede presentarse un síndrome monogénico recesivo ligado al X o autosómico, si hay interrupción de un gen o genes en los puntos de ruptura o efectos de posición. La presencia de derivativo del X de una translocación X;autosoma desbalanceada en un individuo masculino puede ser letal por la nulisomía de genes del cromosoma X, además del efecto de los genes autosómicos en estado trisómico. Si llegan a sobrevivir sus fenotipos son mucho más graves que los de una mujer con la misma alteración (Röpke A et al., 2017).

	Paciente	Bolton P et al., 1995.	Cox J et al., 2003.	Egemen A et al., 2005.	Di Gregorio et al., 2013.
Fórmula cromosómica	46,X,der(X)t(x;8)(q22;q21)dn	46,X,t(X;8)(p22.13;q22.1)	46,X,t(X;8)(q28;q12)	46,X,t(X;8)(p11.2;q24.3)	46,X,t(X;8)(q25;q24.3)
Género	Femenino	Femenino	Femenino	Femenino	Femenino
Motivo de estudio	Amenorrea primaria, retraso en el desarrollo puberal y antecedente de RGD.	Autismo, DI, exostosis múltiple y talla baja.	DI de origen desconocido	Síndrome de Cornelia de Lange	RGD e hipoplasia cerebelar

Tabla 2. Casos reportados de translocación entre un cromosoma X y un autosoma 8. No se pudo documentar el caso de Egemen a et al; 2005 ya que se discontinuó la revista. NR: no registrado.

9. CONCLUSIONES

En esta tesis se determinó la prevalencia de las translocaciones entre un cromosoma X y un autosoma en pacientes con discapacidad intelectual con o sin malformaciones congénitas atendidos en el departamento de Genética del HIMFG, los cuales fueron identificados mediante la revisión de libretas que contienen los resultados de los cariotipos para después revisar su expediente y hacer el análisis clínico, citogenético y molecular correspondiente.

En un periodo de 10 años (2008 a 2017), se encontraron 6 casos de translocación entre un cromosoma X y un autosoma, representaron el 0.095% de todos los cariotipos realizados en ese periodo y fueron el 0.4% de los cariotipos alterados; en relación al sexo, el 100% de los sujetos con $t(X;A)$ fueron femeninos.

De los 6 casos identificados, 5 fueron de novo, 4 fueron translocaciones aparentemente balanceadas y 2 desbalanceadas. Las indicaciones para realizar cariotipo fueron: retraso global del desarrollo aunado a defectos congénitos como ectopia renal cruzada y retinoblastoma (caso 1), presentación atípica de una enfermedad recesiva ligada al cromosoma X (caso 2), atrofia óptica bilateral (caso 3), amenorrea primaria y retraso en el desarrollo puberal (caso 4), DDC (casos 5 y 6) y síndrome dismórfico (caso 6).

El caso 4 fue de especial interés debido a su naturaleza infrecuente; la paciente tiene un cariotipo $46,X,der(X)t(X;8)(q22;q21)dn$, por lo que presenta una monosomía $Xq22-Xqter$ y una trisomía $8q21-8qter$. La ausencia de malformaciones mayores y de DI en ella, pueden explicarse por la inactivación preferencial del $der(X)$, el cual debe estar inactivo en la mayoría de las células con extensión de la heterocromatización al segmento translocado del cromosoma 8. Por otra parte, las dismorfias menores y la hipertriosis que presenta corresponden a las descritas en la trisomía 8q. La disgenesia gonadal, causa de la amenorrea primaria y retraso en el desarrollo puberal por los que acudió a consulta esta paciente, puede explicarse por la monosomía de $Xq22-Xqter$ que produce haploinsuficiencia de genes de la región crítica de Xq para el desarrollo ovárico.

En la literatura internacional, sólo se encontraron 4 casos de translocación entre un cromosoma X y un cromosoma 8 en pacientes femeninas; tres de ellos fueron translocaciones aparentemente balanceadas y sólo en una se identificó una microduplicación en el punto de ruptura del cromosoma X, por ello los datos clínicos reportados en ellas no pueden ser comparados con los presentes en nuestra paciente que presenta monosomía de Xq y trisomía de 8q.

En nuestra paciente fue posible integrar un diagnóstico citogenético mediante cariotipo con bandas GTG y FISH, lo que permitió establecer una correlación genotipo-fenotipo. Sin embargo, hubiera sido deseable comprobar el patrón de inactivación preferencial del cromosoma X anormal y la extensión de la heteroactivación al segmento trisómico del cromosoma 8, así como realizar cariotipo molecular (aCGH-microarreglos). Si bien éste último no fue necesario para identificar el rearrreglo cromosómico presente en la paciente, contribuiría a una caracterización más precisa de la cantidad de material perdido del cromosoma X y ganado del cromosoma 8.

El abordaje de todo paciente con discapacidad intelectual asociado o no a defectos congénitos se basa en una detallada anamnesis y exploración física ya que estos determinarán los estudios de laboratorio e imagen precisos para su protocolo de estudio. En ellos es esencial realizar estudio citogenético molecular o por técnicas de bandeado, según sea posible. En el caso de DI y malformaciones congénitas asociadas a rearrreglos cromosómicos del tipo translocación X;autosoma, es de especial interés debido a su presentación infrecuente y clínica muy heterogénea. En estos casos, se debe completar su estudio con métodos moleculares para poder establecer un diagnóstico más certero, investigar si son heredados o de novo y realizar estudios de replicación para determinar el patrón de inactivación del cromosoma X. Todo ello, con el objetivo de brindar al paciente y su familia el asesoramiento genético preciso y personalizado que requiera cada caso.

10. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

El cariotipo convencional presenta una tasa de rendimiento diagnóstico de 6%, en pacientes con discapacidad intelectual con o sin malformaciones congénitas, lo cual es bajo si se compara con aquella que se considera el estudio de primera línea (aCGH-microarreglos) que es de 15% aproximadamente. Asimismo, en los tres casos donde se encontró una translocación aparentemente balanceada, no se pudo descartar si tenían una variación estructural del tipo microdelección o microduplicación o la interrupción de un gen o un efecto de posición que pudiera explicar el origen de la patología.

11. BIBLIOGRAFÍA

- 1) Anazi, S., Maddirevula, S., Fageih, E., Alsedairy, H., Alzahrani, F., Shamseldin, H. E., Alkuraya, F. S. (2016). Clinical genomics expands the morbid genome of intellectual disability and offers a high diagnostic yield. *Molecular Psychiatry*, 22(4), 615–624. <https://doi.org/10.1038/mp.2016.113>
- 2) Aviña J, Tastekin A. Malformaciones congénitas: clasificación y bases morfogénicas, *Rev Mex Pediatr* 2008; 75(2); 71-74
- 3) Baronchelli S, Villa N, Redaelli S, Lissoni S, Saccheri F, Panzeri E, Conconi D, Bentivegna A, Crosti F, Sala E, Bertola F, Marozzi A, Pedicini A, Ventruto M, Adalgisa M, Dalprà L. Investigating the role of X-chromosome breakpoints in premature ovarian failure. Baronchelli et al. *Molecular Cytogenetics* 2012, 5:32.
- 4) Bonev, B., & Cavalli, G. (2016). Organization and function of the 3D genome. *Nature Reviews Genetics*, 17(11), 661–678. <https://doi.org/10.1038/nrg.2016.112>
- 5) Carvalho CMB, Zhanga F, Lupski JR. Genomic disorders: A window into human gene and genome evolution. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010 Jan 26;107 Suppl 1:1765-71.
- 6) Carvalho, CMB., & Lupski, J. R. (2016). Mechanisms underlying structural variant formation in genomic disorders. *Nature Reviews Genetics*, 17(4), 224–238. <https://doi.org/10.1038/nrg.2015.25>
- 7) Chen, C.-P., Lin, S.-P., Chern, S.-R., Kuo, Y.-L., Wu, P.-S., Chen, Y.-T., Wang, W. (2014). Array CGH characterization of an unbalanced X-autosome translocation associated with Xq27.2-qter deletion, 11q24.3-qter duplication and Xq22.3-q27.1 duplication in a girl with primary amenorrhea and mental retardation. *Gene*, 535(1), 88–92. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.11.026>
- 8) Concolino, D., Iembo, M. A., Moricca, M. T., Rapsomaniki, M., Marotta, R., Galesi, O., Strisciuglio, P. (2012). A de novo 8q22.2-24.3 duplication in a patient with mild phenotype. *European Journal of Medical Genetics*, 55(1), 67–70. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2011.09.001>

- 9) Cotton AM, Chen CY, Lam LL, Wasserman WW, Kobor MS, Brown CJ. Spread of X-chromosome inactivation into autosomal sequences: role for DNA elements, chromatin features and chromosomal domains. *Hum Mol Genet.* 2014 Mar 1;23(5):1211-23. doi: 10.1093/hmg/ddt513.
- 10) Cox, J. J., Holden, S. T., Dee, S., Burbridge, J. I., & Raymond, F. L. (2003). Identification of a 650 kb duplication at the X chromosome breakpoint in a patient with 46,X,t(X;8)(q28;q12) and non-syndromic mental retardation. *Journal of Medical Genetics*, 40(3), 169–174. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12624134>
- 11) Dhanlaxmi L. Shetty, Akshay P. Kadam, Neeraja T. Koppaka, Rupa C. Dalvi, Deepak S. Chavan, Bibu R. Das, and Swarna Mandava. X-autosome translocations in amenorrhoea: a report of a three way translocation from Indian Population. *Gynecol Endocrinol*, 2014; 30(4): 302–306.
- 12) Di Gregorio, E., Bianchi, F. T., Schiavi, A., Chiotto, A. M. A., Rolando, M., Verdun di Cantogno, L., Brusco, A. (2013). A *de novo* X;8 translocation creates a *PTK2 - THOC2* gene fusion with *THOC2* expression knockdown in a patient with psychomotor retardation and congenital cerebellar hypoplasia. *Journal of Medical Genetics*, 50(8), 543–551. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2013-101542>
- 13) Egemen, A., Ulger, Z., Ozkinay, F., Gulen, F., & Cogulu, O. (2005). A *de novo* t (X;8)(p11.2;q24.3) demonstrating Cornelia de Lange syndrome phenotype. *Genetic Counseling (Geneva, Switzerland)*, 16(1), 27–30. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15844775>
- 14) Ensembl project. Cromosoma 8 (Fecha de acceso 18-04-2018). Disponible en: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Location/Chromosome?r=8%3A1-1000
- 15) Ensembl project. Cromosoma X (Fecha de acceso 18-04-2018). Disponible en: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Location/Chromosome?r=X%3A1-1000
- 16) Finestra TR, Gribnau J. X chromosome inactivation: silencing, topology and reactivation. *Current Opinion in Cell Biology* 2017, 46:54–6.

- 17)Giraldo, G., Gómez, A. M., Mora, L., Suarez-Obando, F., & Moreno, O. (2016). Mosaic trisomy 8 detected by fibroblasts cultured of skin. *Colombia Medica (Cali, Colombia)*, 47(2), 100–104. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27546932>
- 18)Gómez-Laguna, L., Martínez-Herrera, A., Reyes-de la Rosa, A. D. P., García-Delgado, C., Nieto-Martínez, K., Fernández-Ramírez, F., ... Morán-Barroso, V. F. (2018). Nance-Horan syndrome in females due to a balanced X;1 translocation that disrupts the NHS gene: Familial case report and review of the literature. *Ophthalmic Genetics*, 39(1), 56–62. <https://doi.org/10.1080/13816810.2017.1363245>
- 19)Gonçalves W, Marques F, Menezes MC. Retrospective karyotype study in mentally retarded patients, *Rev Assoc Med Bras* 2016; 62(3):262-268.
- 20)Hastings, P. J., Lupski, J. R., Rosenberg, S. M., & Ira, G. (2009). Mechanisms of change in gene copy number. *Nature Reviews. Genetics*, 10(8), 551–564. <https://doi.org/10.1038/nrg2593>
- 21)Hennekam, R. C., Biesecker, L. G., Allanson, J. E., Hall, J. G., Opitz, J. M., Temple, I. K., Elements of Morphology Consortium. (2013). Elements of morphology: general terms for congenital anomalies. *American Journal of Medical Genetics. Part A*, 161A(11), 2726–2733. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.36249>
- 22)Khalifa, O. A., Walter, C. U., Rahbeeni, Z. A., & Verloes, A. (2011). Terminal 4q deletion and 8q duplication in a patient with CHARGE-like features. *European Journal of Medical Genetics*, 54(2), 173–176. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2010.11.007>
- 23)Krausz, C., Escamilla, A. R., & Chianese, C. (2015). Genetics of male infertility: from research to clinic. *Reproduction*, 150(5), R159–R174. <https://doi.org/10.1530/REP-15-0261>
- 24)Krogh BO, Symington LS. Recombination proteins in yeast. *Annu Rev Genet* 2004;38:233–271.
- 25)Lee, J. T., & Bartolomei, M. S. (2013). X-inactivation, imprinting, and long noncoding RNAs in health and disease. *Cell*, 152(6), 1308–1323. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.02.016>
- 26)Liu, G., Ma, D., Cheng, J., Zhang, J., Luo, C., Sun, Y., Xu, Z. (2018). Identification and characterization of a novel 43-bp deletion mutation of

- the ATP7B gene in a Chinese patient with Wilson's disease: a case report. *BMC Medical Genetics*, 19(1), 61. <https://doi.org/10.1186/s12881-018-0567-z>
- 27) Lupski, J. R., & Stankiewicz, P. (2005). Genomic disorders: molecular mechanisms for rearrangements and conveyed phenotypes. *PLoS Genetics*, 1(6), e49. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.0010049>
- 28) Luthardt, F. W., & Keitges, E. (2011). Chromosomal Syndromes and Genetic Disease. *Encyclopedia of Life Sciences*, 1-11.
- 29) Mansouri, M. R., Schuster, J., Badhai, J., Stattin, E.-L., Lösel, R., Wehling, M., Dahl, N. (2008). Alterations in the expression, structure and function of progesterone receptor membrane component-1 (PGRMC1) in premature ovarian failure. *Human Molecular Genetics*, 17(23), 3776–3783. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddn274>
- 30) Marsolier-Kergoat, M.-C., Khan, M. M., Schott, J., Zhu, X., & Llorente, B. (2018). Mechanistic View and Genetic Control of DNA Recombination during Meiosis. *Molecular Cell*, 70(1), 9–20.e6. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2018.02.032>
- 31) Martin, C. L., & Warburton, D. (2015). Detection of Chromosomal Aberrations in Clinical Practice: From Karyotype to Genome Sequence. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 16(1), 309–326. <https://doi.org/10.1146/annurev-genom-090413-025346>
- 32) Merel M.J. van den Berg, Merel C. van Maarle, Madelon van Wely, Mariëtte Goddijn. Genetics of early miscarriage, *Biochimica et Biophysica Acta* 1822 (2012) 1951–1959.
- 33) Miller, D. T., Adam, M. P., Aradhya, S., Biesecker, L. G., Brothman, A. R., Carter, N. P., Ledbetter, D. H. (2010). Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *American Journal of Human Genetics*, 86(5), 749–764. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2010.04.006>
- 34) Moeschler, J. B., Shevell, M., & Committee on Genetics. (2014). Comprehensive evaluation of the child with intellectual disability or global developmental delays. *Pediatrics*, 134(3), e903-18. <https://doi.org/10.1542/peds.2014-1839>

- 35) Navarrete E, Canún S, Reyes A, Sierra MC, Valdés J. Prevalencia de malformaciones congénitas registradas en el certificado de nacimiento y de muerte fetal. México, 2009-2010, Bol Med Hosp Infant Mex 2013;70(6):499-505.
- 36) NOM-173-SSA1-1998, Secretaría de Salud. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/173ssa18.html>
- 37) Nusbaum, C., Mikkelsen, T. S., Zody, M. C., Asakawa, S., Taudien, S., Garber, M., Lander, E. S. (2006). DNA sequence and analysis of human chromosome 8. *Nature*, 439(7074), 331–335. <https://doi.org/10.1038/nature04406>
- 38) Oldham, J. (2012). DSM-5 Draft Diagnostic Criteria for “Intellectual Developmental Disorder.” Retrieved from <http://aaidd.org/docs/default-source/comments/aaidd-dsm5-comment-letter.pdf>
- 39) OMS. (2010). Defectos congénitos. OMS.
- 40) Online Mendelian Inheritance in Man. An Online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders. Disponible en: <http://www.omim.org>
- 41) Özcan Ü, Ulus S, Alanay Y, Dinçer A, Yayla M. Mosaic trisomy 8: diagnostic approach with fetal MRI as a complement to ultrasonography. *Perinatal Journal* 2015;23(2):113–115.
- 42) Perrin, A., Vialard, F., Douet-Guilbert, N., Gomes, D. M., Guthauser, B., De Braekeleer, M., Morel, F. (2009). Meiotic segregation of X-autosome translocation in two carriers and implications for assisted
- 43) Pinheiro, I., & Heard, E. (2017). X chromosome inactivation: new players in the initiation of gene silencing. *F1000Research*, 6, 344. <https://doi.org/10.12688/f1000research.10707.1>
- 44) Pombo, A., & Dillon, N. (2015). Three-dimensional genome architecture: players and mechanisms. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 16(4), 245–257. <https://doi.org/10.1038/nrm3965>
- 45) Preston RJ, Reference Module in Biomedical Sciences, from Encyclopedia of Toxicology (Third Edition), 2014, Pages 955-958, Current as of 1 September 2014.
- 46) Puri, R. D., Tuteja, M., & Verma, I. C. (2016). Genetic Approach to Diagnosis of Intellectual Disability. *Indian Journal of Pediatrics*, 83(10), 1141–1149. <https://doi.org/10.1007/s12098-016-2205-0>

- 47) Röpke A, Tüttelmann F. MECHANISMS IN ENDOCRINOLOGY: Aberrations of the X chromosome as cause of male infertility. *Eur J Endocrinol*. 2017 Nov;177(5): R249-R259. doi: 10.1530/EJE-17-0246.
- 48) Ross, M. T., Grafham, D. V, Coffey, A. J., Scherer, S., McLay, K., Muzny, D., ... Bentley, D. R. (2005). The DNA sequence of the human X chromosome. *Nature*, 434(7031), 325–337. <https://doi.org/10.1038/nature03440>
- 49) Rotger, M., Saumoy, M., Zhang, K., Flepp, M., Sahli, R., Decosterd, L., Swiss HIV Cohort Study. (2007). Partial deletion of CYP2B6 owing to unequal crossover with CYP2B7. *Pharmacogenetics and Genomics*, 17(10), 885–890. <https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e3282ef5cd1>
- 50) Schluth, C., Cossée, M., Girard-Lemaire, F., Carelle, N., Dollfus, H., Jeandidier, E., & Flori, E. (2007). Phenotype in X chromosome rearrangements: pitfalls of X inactivation study. *Pathologie-Biologie*, 55(1), 29–36. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2006.04.003>
- 51) Shoukier, M., Klein, N., Auber, B., Wickert, J., Schröder, J., Zoll, B., Zirn, B. (2013). Array CGH in patients with developmental delay or intellectual disability: are there phenotypic clues to pathogenic copy number variants? *Clinical Genetics*, 83(1), 53–65. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2012.01850.x>
- 52) Sills, E. S., Cotter, P. D., Marron, K. D., Shkrobot, L. V, Walsh, H. M. A., & Salem, R. D. (2012). Ovarian dysgenesis associated with an unbalanced X;6 translocation: first characterisation of reproductive anatomy and cytogenetic evaluation in partial trisomy 6 with breakpoints at Xq22 and 6p23. *Molecular Medicine Reports*, 5(1), 29–31. <https://doi.org/10.3892/mmr.2011.589>
- 53) Sohn, Y. B., Yun, J. N., Park, S.-J., Park, M. S., Kim, S. H., & Lee, J. H. (2013). Clinical and cytogenetic features of a patient with partial trisomy 8q and partial monosomy 13q delineated by array comparative genomic hybridization. *Annals of Clinical and Laboratory Science*, 43(3), 332–336. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23884231>
- 54) Spielmann, M., Lupiáñez, D. G., & Mundlos, S. (2018). Structural variation in the 3D genome. *Nature Reviews Genetics*, 19(7), 453–467. <https://doi.org/10.1038/s41576-018-0007-0>

- 55) Startek, M., Szafranski, P., Gambin, T., Campbell, I. M., Hixson, P., Shaw, C. A., Gambin, A. (2015). Genome-wide analyses of LINE-LINE-mediated nonallelic homologous recombination. *Nucleic Acids Research*, 43(4), 2188–2198. <https://doi.org/10.1093/nar/gku1394>
- 56) Stringer, J. M., Winship, A., Liew, S. H., & Hutt, K. (2018). The capacity of oocytes for DNA repair. *Cellular and Molecular Life Sciences*. <https://doi.org/10.1007/s00018-018-2833-9>
- 57) Szczałuba, K., Nowakowska, B., Sobocka, K., Smyk, M., Castaneda, J., Klapecki, J., Demkow, U. (2016). Application of Array Comparative Genomic Hybridization in Newborns with Multiple Congenital Anomalies. In *Advances in experimental medicine and biology* (Vol. 912, pp. 1–9). https://doi.org/10.1007/5584_2016_235
- 58) Szvetko, A., Martin, N., Joy, C., Hayward, A., Watson, B., Cary, A., & Withers, S. (2012). Detection of chromosome x;18 breakpoints and translocation of the xq22.3;18q23 regions resulting in variable fer
- 59) Tabarés-Seisdedos, R., & Rubenstein, J. L. R. (2009). Chromosome 8p as a potential hub for developmental neuropsychiatric disorders: implications for schizophrenia, autism and cancer. *Molecular Psychiatry*, 14(6), 563–589. <https://doi.org/10.1038/mp.2009.2>
- 60) Tannan NB, Brahmachary M, Garg P, Borel C, Alnefaie R, Watson C, Simon N, Sharp A. DNA methylation profiling in X;autosome translocations supports a role for L1 repeats in the spread of X chromosome inactivation. *Human Molecular Genetics*, 2014, Vol. 23, No. 5.
- 61) Van Esch H, Fryns Jean-P, Dysmorphism: syndromes, *Encyclopedia of Life, Sciences*, 2005.
- 62) Venkateshwari, A., Srilekha, A., Veena, K., Sujatha, M., & Jyothy, A. (n.d.). A Rare De Novo Balanced X; 1 Translocation in an Indian Female with Primary Amenorrhea. *Journal of Reproduction & Infertility*, 16(3), 171–173. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26913237>
- 63) Vissers, L. E. L. M., Gilissen, C., & Veltman, J. A. (2016). Genetic studies in intellectual disability and related disorders. *Nature Reviews. Genetics*, 17(1), 9–18. <https://doi.org/10.1038/nrg3999>

64) Weischenfeldt, J., Symmons, O., Spitz, F., & Korbel, J. O. (2013). Phenotypic impact of genomic structural variation: insights from and for human disease. *Nature Reviews. Genetics*, 14(2), 125–138. <https://doi.org/10.1038/nrg3373>

ANEXOS

ANEXO I. CARIOTIPO CON BANDAS GTG

Procedimiento:

- 1) Se obtienen 1.5 ml de sangre periférica por punción directa, en jeringa previamente impregnada con 0.1 ml de heparina sódica de 1 000 UI.
- 2) Se agregan 700 µl de muestra en 2 tubos de ensayo Falcon desechables de polipropileno esterilizados.
- 3) Se agregan 5 ml de medio de cultivo PB-MAX (contiene RPMI 1640, fitohemaglutinina, suero bovino fetal, antibióticos estreptomycin y penicilina, L-glutamina).
- 4) Se incuba por 72 horas a 37-37.5° C
- 5) A las 72 horas se agregan 20 µl de colchicina, a una concentración de 0.5 gr, a cada tubo, se agita y se incuban a 30 min más a 37-37.5° C.
- 6) Se centrifuga por 10 minutos a 2 500 rpm.
- 7) Se decanta el sobrenadante y se resuspende agitando en vórtex y se agrega solución hipotónica para completar un volumen de 12 ml.
- 8) Se incuba 30 minutos a 37-37.5° C.
- 9) Centrifugar 10 minutos a 2 500 rpm.
- 10) Con pipeta se retira el sobrenadante y en agitación se agrega fijador frío o solución de Carnoy, gota a gota para completar un volumen de 80 ml.
- 11) Se refrigera por 20 minutos.
- 12) Se centrifuga y se retira sobrenadante, se lleva a un volumen de 8 ml para el primer lavado.
- 13) Se centrifuga nuevamente, se retira el sobrenadante y se lleva a un volumen de 6 ml para el segundo lavado.
- 14) Se gotea el cultivo en laminillas de vidrio y se revisa el material determinando la calidad y cantidad de metafases presentes.
- 15) Las laminillas obtenidas se incuban en una estufa a 60° c por espacio de 24 horas.
- 16) Sumergir de 10-30 segundos una laminilla en el primer coplin, (con tripsina para la digestión de proteínas).
- 17) Sacar la laminilla al término del tiempo y enjuagarla en el segundo coplin (con buffer a pH 7 para detener la actividad de la tripsina).

- 18) Sumergir la laminilla en el siguiente coplin 2 minutos (tinción con Wright).
- 19) Sumergir la laminilla en el siguiente coplin 2 minutos (tinción con Giemsa).
- 20) Sumergir y enjuagar la laminilla en el vaso de precipitados.
- 21) Secar.
- 22) Montar inmediatamente con 3 gotas de entellán y cubreobjetos.
- 23) Revisar la calidad de las bandas.
- 24) Dejar secar a temperatura ambiente.
- 25) Analizar al microscopio.

ANEXO II. FISH (HIBRIDACIÓN IN SITU CON FLUORESCENCIA)

Procedimiento:

- 1) Se realiza la técnica de cariotipo hasta la preparación de laminillas.
- 2) El ambiente de humedad relativa debe estar en un rango de 50 a 60% y la temperatura entre 24-26° C.
- 3) Se resuspende el botón con la cantidad de solución fijadora para tener la concentración de metafases adecuada.
- 4) Sobre una laminilla prelavada (FISHERbrand™) se gotea el material celular en un área de acuerdo a la cantidad de sonda que se va a hibridar.
- 5) Se verifica la calidad del material celular en un microscopio de contraste de fase, los cromosomas deben observar de color “gris rata” y libres de citoplasma para obtener una buena hibridación.
- 6) Se procede a la maduración de la muestra.
- 7) Las preparaciones celulares se incuban a 37° C en SSC 2X por 30 min, al término de ésta, se deshidratan en series de etanol al 70%, 85% y 100% por 2 minutos en cada uno y se deja secar.
- 8) Se procede a la co-desnaturalización.
- 9) Las sondas previamente mezcladas con el amortiguador se colocan sobre la laminilla madurada en el área de mejor calidad celular, se coloca un cubreobjetos limpio de 22x22 mm, se sella con cemento de goma. La co-desnaturalización se realiza en el HyBryte (casa comercial) a 71° C por 2 minutos, se realiza un control estricto de la temperatura y tiempo de desnaturalización.
- 10) Se procede a la hibridación.
- 11) Se colocan las laminillas en una cámara húmeda protegida de la luz a 37° C por 16 a 24 horas.
- 12) Veinticuatro horas después, se remueve con cuidado el sellador y se retira el cubreobjetos, las laminillas son lavadas en 40 ml de SSC 0.4X/NP-40 al 0.3% a 73° C por 2 minutos y posteriormente en 40 ml de SSC 2X/NP.40 al 0.1% a temperatura ambiente en un tiempo no mayor a 1 minuto, se deja secar la laminilla al aire en la oscuridad y se agrega como contratinción 8 µl de DAPI/Antifade, se coloca un cubreobjetos, se

sella con cemento de goma para su análisis en un microscopio de epifluorescencia con el programa Isis de Carl Zeiss ®.

ANEXO III. FORMATO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA TOMA DE FOTOGRAFÍAS



**HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO
FEDERICO GOMEZ**
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
DR. PARQUEER HOLMES COL. DOCTORES,
DELEGACIÓN CUAUHTÉMOC, S.S. 10770 MÉXICO, D.F.
INSTITUCIÓN DE SERVICIO MÉDICO, ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN
AFILIADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



México, D.F. a ____ de ____ de 20__

A QUIEN CORRESPONDA:

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

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

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

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

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

Nombre y firma

Paciente/tutor
Paciente con el paciente

Testigo 1

Testigo 2

ANEXO IV. FORMATO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA TOMA DE MUESTRA DE SANGRE

	FORMATO DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACION
CURSULO No. <input type="text"/>	FECHA <input style="width: 100px;" type="text"/> / <input style="width: 100px;" type="text"/> / <input style="width: 100px;" type="text"/>
EDAD <input style="width: 100px;" type="text"/> AÑOS	SEXO <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F
PROCEDIMIENTO PROPUESTO Y EXPLICACION DEL MISMO:	
Tema de estudio <input type="checkbox"/> SANGRE <input type="checkbox"/> ORINA <input style="width: 50px;" type="text"/> OTRO (especifica) <u>CARIOTIPO</u>	
Beneficio: DIAGNOSTICO OPORTUNO DE PADECIMIENTO Y/O SEGUIMIENTO AL TRATAMIENTO	
Riesgos y complicaciones: MINIMOS, SI SE PRESENTA ALGUNA CONTAMOS CON PERSONAL CAPACITADO EN ATENDER LA URGENCIA. EL MATERIAL ES NUEVO, ESTERIL Y DESECHABLE.	
Yo, <input style="width: 100px;" type="text"/> años de edad. Reconozco que se me explicó y entendí el procedimiento para realizar los exámenes, estoy enterado de los beneficios, sé de los riesgos y las probables complicaciones que se me pueden presentar. Consciente de que se busca un beneficio, doy mi consentimiento sin obligación y por decisión propia para que los exámenes se efectúen así mismo para realizar la atención de contingencias y urgencias derivadas del acto autorizado, con base al principio de libertad precepta.	
TESTIGO FAMILIAR (Nombre y Firma) _____	
TESTIGO SUPERVISOR (Nombre y Firma) _____	
NOMBRE Y FIRMA DEL FLEBOTOMISTA _____	
Este consentimiento deberá llenarse para todo procedimiento de Toma de Muestras en el Laboratorio a realizarse en todo paciente sin excepción alguna. El responsable de recibido es quien vaya a realizar el estudio. En la carta es responsable mientras no se cancela el procedimiento y no obligará al Clínico. Evitar a Médico a realizar o pedir un procedimiento cuando este existe un riesgo hacia el paciente.	
REFERENCIA: LEY GENERAL DE SALUD para IV, Art. 81, 81, 82, y 83, NOM-102-SSA1-1988.	