



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

Descripción clínica y citogenética de
alteraciones del cromosoma 5 en el
Hospital Infantil de México Federico
Gómez

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN :

GENÉTICA MÉDICA

P R E S E N T A:

Dr. Acatzin Jair Salgado Medina

TUTOR:

DR. H. Rodrigo Moreno Salgado



CIUDAD DE MÉXICO

FEBRERO 2021



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

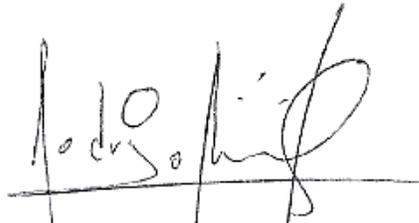
DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

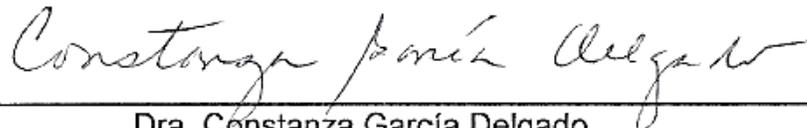
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

DR. SARBELIO MORENO ESPINOSA
Director De Enseñanza y Desarrollo Académico

DIRECTOR DE TESIS



Dr. H. Rodrigo Moreno Salgado
Jefe del Departamento de Genética.
Hospital Infantil de México Federico Gómez



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



Dra. Alejandra Del Pilar Reyes De La Rosa
Médico Adscrito al Departamento de Genética.
Hospital Infantil de México Federico Gómez

DEDICATORIA

A mi familia.

Ellos me han llevado a este punto de la vida. Gracias, por tanto.

A mis profesores.

En particular a la doctora Alejandra Reyes, por su enorme paciencia con
este trabajo aún con tantas horas de distancia.

Mis sinceros agradecimientos.

A Linda, Ari, Caro y Omar.

Por su compañía estos tres años, por su ayuda constante y por el apoyo
en este trabajo. Gracias.

ÍNDICE

1. Resumen	1
2. Introducción.....	4
3. Marco teórico.....	5
3.1. Introducción A Los Cromosomas.....	5
3.1.1. Núcleo	6
3.1.2. Ácidos nucleicos.....	8
3.1.3. DNA.....	9
3.1.4. Genoma humano.....	11
3.2. Cariotipo	11
3.2.1. Ordenamiento del cariotipo	14
3.3. Técnicas de hibridación molecular	16
3.4. Hibridación “In Situ” Con Fluorescencia (FISH).....	16
3.5. Hibridación genómica comparativa basada en microarreglos (aCGH)	18
3.6. Alteraciones Cromosómicas	19
3.7. El Cromosoma 5.....	20
3.7.1. Estructura del cromosoma 5	21
3.7.2. Genética del cromosoma 5	21
3.8. Síndromes Por Alteraciones Estructurales Del Cromosoma 5	31
3.8.1. Síndrome de delección 5p	31
3.8.2. Síndrome de duplicación 5p.....	34
3.8.3. Síndrome de delección 5q	37
3.8.4. Síndrome de microdelección 5q11.....	38
3.8.5. Síndrome de microdelección 5q12.....	38

3.8.6. Síndrome de microdeleción 5q14.3.....	39
3.8.7. Síndrome de microdeleción 5q31.3.....	39
3.8.8. Síndrome de cromosoma 5 en anillo.....	39
4. Planteamiento del problema.....	41
5. Pregunta de investigación	41
6. Justificación.....	42
7. Objetivos	42
7.1. Objetivo General.....	42
7.2. Objetivos Específicos	42
8. Material y métodos	43
8.1. Tipo De Estudio.....	43
8.1. Población.....	43
8.2. Lugar.....	43
8.3. Periodo De Realización.....	43
8.4. Criterios De Selección.....	43
8.4.1. Criterios de inclusión.....	43
8.4.2. Criterios de exclusión.....	43
9. Desarrollo general del estudio.....	45
10. Consideraciones éticas	46
11. Cronograma	47
12. Resultados	48
12.1. Presentación de casos clínicos	61
13. Discusión.....	66
14. Conclusiones.....	70
15. Bibliografía	71

16. Anexo 1	81
Cariotipo.....	81
Técnica cariotipo con bandas GTG en sangre periférica en el Hospital Infantil de México Federico Gómez	83
17. Anexo 2	91
Manual De Procedimientos Para El Estudio De FISH.....	91
18. Anexo 3	96

1. Resumen

INTRODUCCIÓN: Las alteraciones cromosómicas representan una causa común de consulta hospitalaria en el abordaje de niños con defectos congénitos, características dismórficas, retraso en el desarrollo y / o discapacidad intelectual. Se estima que la frecuencia de estas anomalías es de 1 en 150 a 1 en 200 nacimientos vivos, surgiendo a partir de cambios numéricos y/o estructurales en el genoma. El cromosoma 5 en frecuencia, representa una parte significativa de las alteraciones de tipo estructural, siendo la delección en el brazo corto del cromosoma (5p-) la causa de la mayoría de los casos reportados, mientras que otras aberraciones a lo largo de este cromosoma podrían ser subdiagnosticadas debido a su baja frecuencia en la población general, siendo esto relevante por las implicaciones para el manejo y seguimiento de los casos. En estos casos el análisis citogenético es esencial para la comprensión de la enfermedad, permitiendo establecer un asesoramiento detallado e individualizado del paciente. A pesar de que estos trastornos representan una de las principales causas de morbilidad y mortalidad infantil, no son adecuadamente reportados en nuestra población. Siendo necesaria una descripción detallada de las alteraciones citogenéticas del cromosoma 5, así como de su frecuencia en los pacientes del Hospital Infantil de México Federico Gómez. Por último, se describe un caso raro de delección 5q en un probando de nuestra institución.

JUSTIFICACIÓN: el Hospital Infantil de México Federico Gómez es un instituto de concentración y referencia de pacientes con malformaciones y déficit intelectual, muchos de los cuales poseen indicaciones claras para la realización de estudios citogenéticos. Describir alteraciones del cromosoma 5 en pacientes de nuestro instituto nos permitirá identificar casos que puedan beneficiarse de estudios complementarios que optimicen el abordaje médico. Reportando la frecuencia, las características clínicas y citogenéticas, así como citogenéticas moleculares se aporta conocimiento acerca del

perfil de la población mexicana que presenta estas alteraciones y promueve la investigación médica.

OBJETIVO GENERAL: Describir las características clínicas y citogenéticas de los pacientes con alteraciones del cromosoma 5, que han sido estudiados en el Hospital Infantil de México Federico Gómez.

MATERIAL Y MÉTODOS: Se trata de un estudio retrospectivo, observacional y transversal. Se revisaron los registros de estudios citogenéticos realizados en el laboratorio de Citogenética del Departamento de Genética del Hospital Infantil de México Federico Gómez entre el periodo de 2010 y 2020. Se incluyeron para análisis estadístico, pacientes de la consulta externa con diagnóstico clínico, citogenético y citogenético molecular con alteraciones del cromosoma 5.

RESULTADOS: Entre el periodo de 2010 a 2020, se obtuvieron un total de 6505 resultados de cariotipo de los cuales 2000 presentaron alteraciones cromosómicas, y 33 de ellos involucraron al cromosoma 5. Diez pacientes (30.3%, n=33) presentaron deleciones del brazo corto; todas deleciones terminales no asociadas a rearrreglos complejos, considerándose *de novo*. Tres casos (9%, n=33) mostraron material adicional en el brazo corto, uno de los cuales (3%, n=33) cuenta con estudio confirmatorio de la duplicación 5p mediante técnica de FISH y CGH-microarreglos. Se reportó además un caso de anillo en mosaico, así como un caso de deleción intersticial en el brazo largo (5q-). Se encontró que el 100% de los pacientes con deleción 5p y el 71.4% del resto de alteraciones en el cromosoma 5 presentaron algún grado de discapacidad intelectual o retraso global del desarrollo; así también, la talla baja (75% / 42.8%), la microcefalia (87.5% / 50%), y rasgos como la displasia de pabellones auriculares (87.5% / 42.8%) fueron los hallazgos más frecuentes en la población estudiada. La laringomalacia, la voz aguda y el llanto típico descritos en pacientes con síndrome de Cri du chat se encontraron solo en la mitad de los casos. Mientras que en otras alteraciones reportadas en este estudio el paladar hendido y hallazgos variables en resonancia magnética estuvieron presentes en el 28.5% y 57.1% respectivamente,

siendo estos distintivos de las deleciones del brazo corto del cromosoma 5. Se describe un caso con dismorfias menores y seguimiento por oncología dada la pérdida de un alelo del gen APC debido a una deleción intersticial del brazo largo del cromosoma 5, así como un caso de discapacidad intelectual moderada y talla baja por una duplicación terminal del brazo corto del cromosoma 5 delimitada por microarreglos.

DISCUSIÓN: De los pacientes a quienes se les realizó estudio citogenético, y se obtuvo resultado, entre el periodo de enero 2010 y marzo 2020, el 0.5% (n=6505) de los casos presentó alteraciones del cromosoma 5, siendo los casos más frecuentes las deleciones del brazo corto. El 80% de los casos con 5p-, tenían un diagnóstico clínico con probable síndrome de Cri du Chat previo a la realización del estudio citogenético y no requirieron de citogenética molecular para complementar el diagnóstico. La frecuencia de pacientes con 5p- resultante de esta cohorte fue similar a la reportada en población europea, pero distó de otras poblaciones latinas. Las características fenotípicas de los pacientes con síndrome de deleción 5p en este estudio, coinciden con los hallazgos en otras descripciones a nivel mundial, excepto por la baja frecuencia del llanto típico o laringomalacia descrita, siendo un hallazgo que varía de acuerdo con la edad de abordaje de los pacientes. Actualmente es recomendable establecer con certeza los sitios de corte para las pérdidas o ganancias de material genómico para así entablar una correlación genotipo-fenotipo, y optimizar el manejo y recursos de los pacientes en estudio.

CONCLUSIONES: Se demuestra que la muestra poblacional de nuestro instituto correlaciona con lo reportado en la literatura a nivel mundial. La deleción 5p es la patología del cromosoma 5 más frecuente, mostrando signos clínicos distintivos de otros padecimientos de este cromosoma. Para el diagnóstico de los pacientes con cuadro clásico de síndrome de Cri du chat, el cariotipo es el método de elección idóneo. Las técnicas de citogenética molecular deberán reservarse para otras alteraciones del cromosoma 5 o para fines de investigación. Este trabajo amplía las bases de datos de alteraciones cromosómicas con información en población mexicana, permitiendo su uso para futuras investigaciones.

2. Introducción

Las aberraciones cromosómicas se producen a partir de cambios tanto numéricos como estructurales en autosomas o cromosomas sexuales producto de errores en la recombinación o segregación de las células. Estas variantes en el genoma se asocian con alrededor de 1000 síndromes previamente descritos y poseen una frecuencia estimada de entre 1 en 150 a 1 en 200 nacimientos vivos. Dada la necesidad de un abordaje multidisciplinario continuo, las cromosopatías son una de las principales causas de atención institucional por defectos congénitos y / o discapacidad intelectual. Donde el análisis citogenético toma un rol esencial en el diagnóstico de la enfermedad y precisión en el asesoramiento genético.

Las alteraciones cromosómicas estructurales son la segunda causa en frecuencia, solo detrás de las aneuploidías, de hallazgos patológicos en el diagnóstico cromosómico aplicado. Estas aberraciones pueden considerarse equilibradas o desequilibradas dependiendo de si conservan la totalidad de su genoma, y se dividen por localización, en intracromosómicas e intercromosómicas. Haciendo énfasis en los reordenamientos intracromosómicos la causa más común de enfermedad son las deleciones parciales puras. Es aquí donde el cromosoma 5 toma un papel fundamental como una de las causas más frecuente y conocida de trastornos por estos mecanismos. La caracterización de las alteraciones citogenéticas permite aumentar la comprensión de las enfermedades cromosómicas. Recopilar información sobre las alteraciones específicas del cromosoma 5 a nivel institucional, dará paso a una mejor descripción y conocimiento de la población Mexicana que acude a consulta de especialidad.

3. Marco teórico

3.1. INTRODUCCIÓN A LOS CROMOSOMAS

La célula es la unidad básica de vida, la estructura más simple capaz de una existencia independiente. El organismo más simple consiste en una sola célula. Los organismos mayores están compuestos por complejas colonias de células interdependientes, cada colonia con una función especializada necesaria para la supervivencia del organismo. Las células que tienen la misma función a menudo son agrupadas en conjunto para formar tejidos, como son el músculo, hueso, y tejido conectivo. Los tejidos pueden estar combinados en largas unidades funcionales llamadas órganos, como son los riñones, piel, y corazón. Los órganos pueden a su vez ser agrupados por función en sistemas de órganos, como son el sistema respiratorio y circulatorio. (Arsham et al., 2017)

Las células varían ampliamente en tamaño, pero todas ellas deben ser capaces de sobrevivir y reproducirse para ser organismos exitosos. La membrana celular que envuelve su contenido debe ser capaz de controlar el movimiento de nutrientes dentro de la células, así como la excreción de iones, moléculas, y proteínas. La energía es convertida de alimento y es usada para sintetizar componentes internos. La información para la reproducción de las estructuras celulares es codificada dentro de su contenido genético, este provee a la célula con su propia capacidad de autosuficiencia para autorreproducirse para sustento propio de necesidades y reparación de daño celular requerida. Cuando funciona adecuadamente, la célula contiene todos los elementos necesarios para sobrevivir (Strachan y Andrew, 2019).

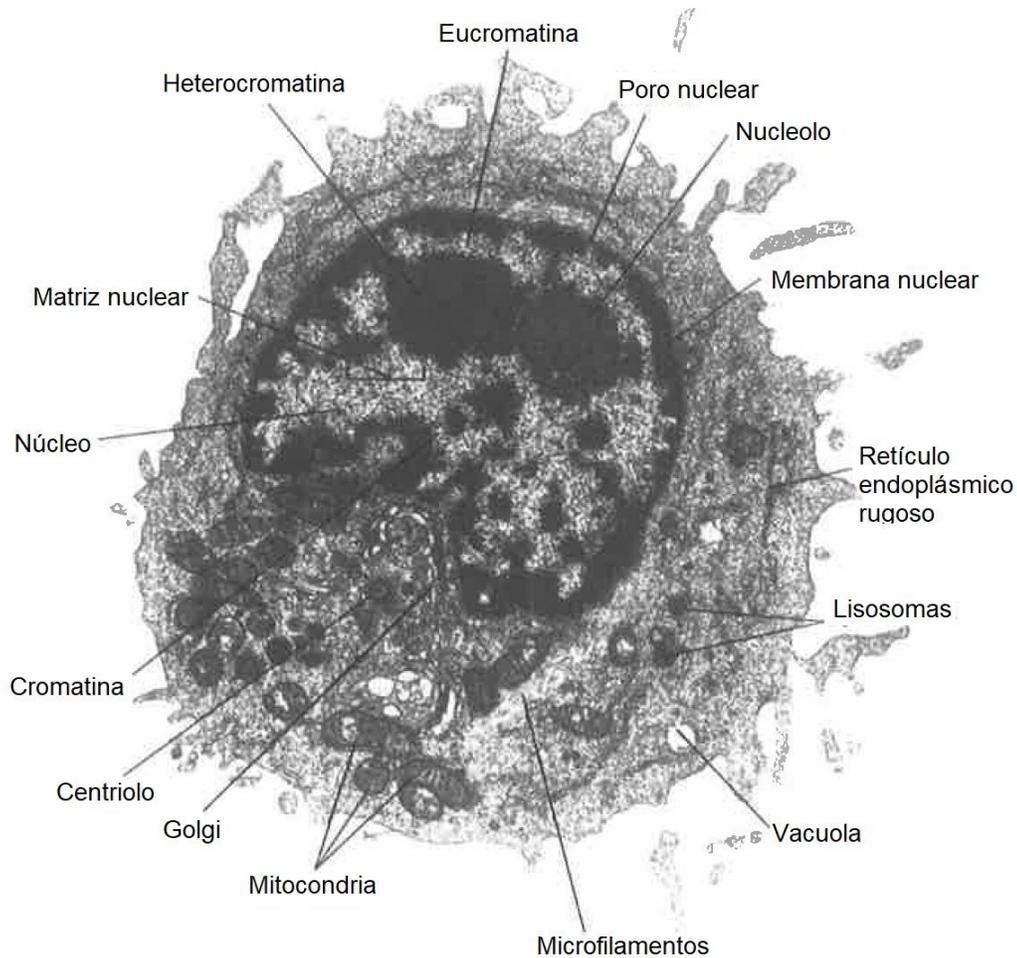


Figura 1. Una microscopía electrónica mostrando varios componentes de las células eucariotas humanas (modificado de Arsham et al., 2017).

3.1.1. NÚCLEO

El núcleo es el centro de información de la célula. Distinto de las procariontes, como son las bacterias y las algas aguamarinas que portan su material en el citoplasma, otros organismos más complejos confinan su información genética, el ácido desoxirribonucleico (DNA), dentro de un núcleo. Estos organismos más evolucionados en plantas y animales, incluyendo a los humanos, son denominados eucariontes (*eu* = verdad; *Karyon* = núcleo). Cada célula eucariota tiene un núcleo en algún estadio de su existencia. Algunas células tienen más de un núcleo, y algunas, como son los eritrocitos y plaquetas, pierden su núcleo durante su maduración. Las células carentes

de núcleo, sin embargo, son gravemente limitadas en sus actividades metabólicas (Arsham et al., 2017).

El núcleo contiene una membrana nuclear, cromatina, y un nucleolo (ver figura 1). Este es también el sitio precursor del ensamblaje de los ribosomas. El término matriz nuclear se refiere al material fibroso restante si la cromatina y el nucleolo son extraídos. El DNA dentro del núcleo determina las características morfológicas, bioquímica, y metabólicas de la célula.

La apariencia del núcleo es marcadamente diferente en células en interfase (no división) de en mitosis (en división). Primeramente, notado por Brown en células de plantas en 1831, el núcleo en interfase es de conformación esférica en el interior de la célula. Por microscopía de luz, aparenta una red amorfa de fibras variablemente condensadas, llamada cromatina, la cual no es distinguible como una entidad individual. Las bandas de cromatina altamente condensadas con cadenas nucleares son conocidas como *heterocromatina*; la cromatina más dispersa, con bandas más claras, es llamada *eucromatina*. En la división celular, la cromatina se condensa en tinción profunda, formando estructuras en forma de hilos o bastones llamadas cromosomas (*chromo* = color; *soma* = cuerpo), que están presentes en un número específico en cada célula dependiendo de la especie. Este proceso de condensación de la cromatina para formar cromosomas durante la división celular es necesario para el reparto equitativo de la información genética a las células hijas (Dasso, 2011).

El núcleo está espacialmente organizado con cada cromosoma en una región específica. Esto sirve para prevenir que los cromosomas se enreden entre sí. Los telómeros están unidos a la membrana nuclear. Entre los subcompartimientos cromosómicos hay dominios intercromosómicos libres de cromatina. Aquí residen moléculas de ácido ribonucleico (RNA) siendo procesadas para exportarse al citoplasma. Las regiones de los cromosomas altamente transcritas son posicionadas cerca de los dominios intercromosómicos ya que diferentes genes son transcritos en

diferentes tipos celulares; los arreglos pueden variar de forma de célula a célula (Arsham et al., 2017).

Bajo microscopía electrónica, la cromatina y los cromosomas parecen estructuras fibrosas. Esto es entendible al comprender que las moléculas de DNA son filamentos por sí mismos. Las fibras de DNA están asociadas a proteínas de alrededor de 30 nanómetros (nm) de diámetro, pero las regiones de filamentos libres de proteínas tienen solo cerca de 10 nm de diámetro. Las fibras de cromatina con un diámetro mayor a 30 nm son ocasionalmente observadas y se cree que representan el enrollado o plegado de estas fibras (Dasso, 2011).

3.1.2. **ÁCIDOS NUCLEICOS**

El núcleo contiene los ácidos nucleicos DNA y RNA a lo largo de proteínas estructurales y regulatorias. Los ácidos nucleicos están involucrados con la síntesis de proteínas y el almacenamiento de la información genética. Hay dos tipos de ácidos nucleicos: ácido desoxirribonucleico (DNA) y ácido ribonucleico (RNA), cada uno un polímero de nucleótidos. Los nucleótidos consisten en una purina o pirimidina, un azúcar de cinco carbonos, y un grupo fosfato. El azúcar en el DNA es desoxirribosa; en el RNA es ribosa.

El DNA es el material genético, y el RNA es responsable de llevar fuera del núcleo las instrucciones codificadas por el DNA. Las funciones primarias de los ácidos nucleicos son la *replicación*, es decir, el proceso de copiado de secuencias de DNA (genes) para su distribución a las células hijas, y la *transcripción de genes*, es decir, el proceso de copiado de secuencias de DNA a sus cadenas complementarias de RNA. Esta transcripción de RNA puede ser traducida en sus secuencias correspondientes de aminoácidos durante la síntesis de polipéptidos (proteínas). La síntesis de proteínas ocurre en ribosomas citoplasmáticos (Frank-Kamenetskii, 2014).

3.1.3. DNA

Watson y Crick determinaron la estructura de doble hélice del DNA en los años 60's usando modelos de imágenes de difracción de rayos X. Las dos hebras de polinucleótidos tienen una polaridad opuesta. Las bases mantienen las dos hebras unidas entre sí por enlaces de hidrógeno. Ambas cadenas están enrolladas en la misma dirección, entonces no pueden ser separadas sin desenrollarse. Bases menores de DNA presentes en mamíferos incluyen 6-metil adenina y 5 metil citosina; este último se encuentra a través del genoma humano, pero a menudo se concentra en áreas de heterocromatina, como es en los cromosomas 1, 9, 15, 16 y (Watson y Crick, 2003)

La historia de cómo los científicos investigaron el material de la herencia y eventualmente establecieron el DNA es el material genético en la mayoría de los organismos es fascinante. Los "factores de la herencia" de Gregorio Mendel, los hilos cromosómicos de Walther Flemming, y la teoría de la herencia de los cromosomas de Walter Sutton lideran el camino. Johan Miescher descubrió el DNA en 1869, llamándolo nucleína. La belleza de su estructura y la lógica del proceso de codificación aún inspira a quienes lo estudian hoy en día (Dahm, 2008).

Estudios con el intercambio de cromátidas hermanas, microscopía electrónica, y otras técnicas han demostrado que una cromátida, uno de los pares de cromosomas teñidos en metafase, contiene una sola, ininterrumpida, y altamente plegada molécula de DNA. El DNA por sí solo es una doble hélice formada de dos hebras. Cada hebra está constituida de nucleótidos, los cuales consisten en una molécula de azúcar, un grupo fosfato, y una de cuatro bases: adenina (A), guanina (G), timina (T), o citosina (C). Los nucleótidos son organizados lado a lado, donde cada dos bases forman un peldaño de esta doble hélice, y el fosfato y el azúcar forman la estructura exterior (figura 2). El azúcar en el DNA, la desoxirribosa, tiene cinco átomos de carbono, el tercero y el quinto los cuales se unen entre sí por un enlace fosfato (fosfodiéster). Así, una hebra simple de DNA es un polímero de desoxirribonucleótidos unidos entre sí por un enlace fosfato en dirección 3'-5' entre sus azúcares. Esto es denominado la columna vertebral azúcar-fosfato de la molécula de DNA, y se encuentra en el exterior de la fibra

de DNA; las bases se extienden hacia el interior de la columna vertebral. Los extremos 3' y 5' libres proporcionan a la molécula una polaridad, o dirección (Arsham et al., 2017).

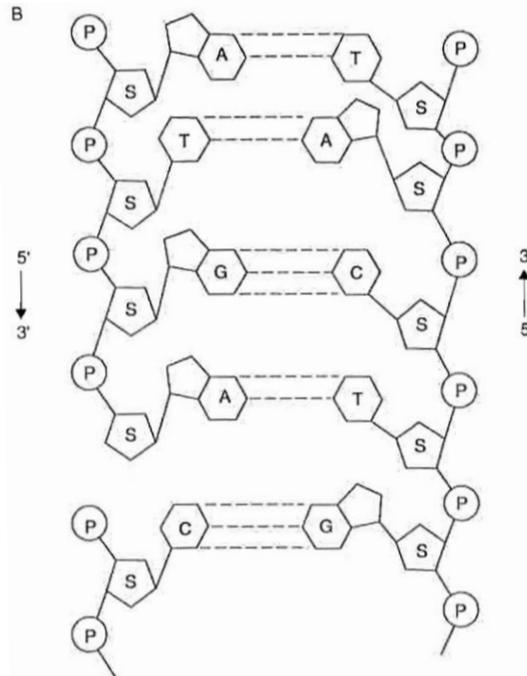


Figura 2. Estructura química donde A es adenina, T es timina, G es guanina, C es citosina, S es azúcar, y P es fosfato. La hebra izquierda con polaridad de la base 5' a la base 3', y la hebra derecha que tiene una polaridad opuesta en dirección 3' a 5'. (modificado de Arsham, 2017).

Las bases en el DNA son moléculas planas que se pueden apilar una sobre otra. La doble naturaleza helicoidal es la principal afectada por estas fuerzas de apilamiento y por los enlaces de hidrógeno entre las bases. La regularidad de la doble hélice a lo largo del eje es posible debido a que el apareamiento AT es del mismo tamaño y forma que el apareamiento GC.

Previo a la división celular, el nuevo DNA debe ser sintetizado con gran fidelidad. Esto se logra por la separación de sus dos cadenas, de manera que cada una actúe como plantilla para el ensamble de la cadena complementaria. Así, dos cadenas, copias idénticas del DNA original son producidas, cada una compuesta de una cadena

original y una cadena nueva sintetizada (replicación semiconservativa). Este mecanismo para producir una copia fiel de la información genética para cada célula hija es fundamental para entender técnicas como el intercambio de cromátidas hermanas. De las cuatro bases, dos son purinas (A y G), y dos son pirimidinas (T y C). La precisa replicación del DNA es posible debido a que el apareamiento de bases es específico: A aparea con T, y G aparea con C. Así, la secuencia de bases en una cadena especifica las bases y su orden en la cadena complementaria (Frank-Kamenetskii, 2014 ; Del Ruíz et al., 2019).

3.1.4. GENOMA HUMANO

Se define como el contenido genético de una célula, o un virus, en términos de (a) el contenido de información (codificación) o (b) el contenido físico de ácido nucleico (es decir, el DNA de una célula, o DNA o RNA en un virus), forma parte del genoma (junto con el DNA cromosómico). No obstante, se utilizan frases como "el genoma mitocondrial" para referirse específicamente a un tipo determinado de DNA dentro de la célula (Singleton, 2012).

El Proyecto del Genoma Humano no es más que el último incremento en un notable programa científico cuyos orígenes se remontan a cien años hasta el redescubrimiento de las leyes de Mendel y cuyo final no está a la vista. En cierto sentido, proporciona un punto culminante para los esfuerzos en el siglo pasado para descubrir información genética y una base para los esfuerzos en el siglo próximo para comprenderla. (Lander et al., 2001).

3.2. CARIOTIPO

La citogenética es el estudio de la morfología, estructura, patología, función y comportamiento de los cromosomas. El campo ha evolucionado para abarcar los cambios citogenéticos moleculares, ahora denominados citogenómica.

Existe una variedad de procedimientos para investigar el complemento completo de cromosomas y / o una región objetivo dentro de un cromosoma específico en metafase o interfase. Las herramientas incluyen análisis de rutina de cromosomas con banda G, tinciones especializadas que abordan estructuras cromosómicas específicas y sondas moleculares, como la hibridación fluorescente *in situ* (FISH) y el análisis de microarreglos, que emplean una variedad de métodos para resaltar una región tan pequeña como 5 a 10 Mb, 0.5 a menos de 5 Mb o incluso de una base respectivamente (Bayani y Squire, 2004).

Ya desde principios del 1900 se aceptaba la idea de que el material hereditario estaba contenido en los cromosomas; esta hipótesis fue confirmada por los experimentos de Boveri en erizo de mar y de Sutton en saltamontes en 1902. Desde entonces el campo de la citogenética animal y vegetal fue desarrollándose hasta alcanzar la caracterización morfológica del juego de cromosomas completo de diversas especies. Sin embargo, las metodologías utilizadas en el estudio cromosómico no eran adecuadas para describir el cariotipo humano. Pero se puede considerar, en 1956 cuando Tjio y Levan, a partir de cultivos de células embrionarias humanas, pudieron establecer que el hombre poseía 46 cromosomas en las células somáticas normales.

En 1959 Lejeune publica la primera aberración cromosómica, con la presencia de un pequeño cromosoma supernumerario (identificado años después como +21) en niños afectados con el síndrome de Down. Ese mismo año se identificaron los primeros casos de aneuploidías de los cromosomas sexuales en los síndromes de Turner (Ford, 1959) y Klinefelter (Jacobs, 1981).

Al año siguiente se identificaron otros síndromes con malformaciones congénitas y presencia de cromosomas adicionales en el grupo D (Patau, 1960) o en el grupo E (Edwards, 1960), identificados posteriormente como trisomía 13 o 18 respectivamente. En 1960 se publica la técnica del cultivo de leucocitos de sangre periférica (Morrhead, 1960), revolucionando el modo de obtener células en división mitótica, lo cual facilitó enormemente los estudios citogenéticos.

En el año 1968 Casperson y Col. descubrieron la capacidad de los colorantes fluorescentes como los derivados de la quinacrina para producir zonas pálidas y brillantes a lo largo del cromosoma metafásico. A partir de este hallazgo en el año 1970, el mismo grupo de investigación pública (Casperson, 1970) el patrón de bandeo con fluorescencia de los cromosomas humanos (bandas Q, por quinacrina), rápidamente surgieron numerosas técnicas de bandeo utilizando enzimas proteolíticas, tales como la tripsina (Seabright, 1971) o realizando pretratamiento con una solución salina a 60°C (Sumner, 1971). En ambos casos se obtenía un patrón de bandeo, luego de la tinción con Giemsa (bandas G), que era equivalente al patrón de bandas Q. La introducción de las técnicas de bandas cromosómicas dio la posibilidad de identificar cromosomas individuales, que se definieron mediante un patrón de bandas único.

En 1971 se realiza la Conferencia de París donde se establece un Sistema Internacional de Nomenclatura para los cromosomas humanos en base a su patrón de bandas G. Estas normas, hoy conocidas como ISCN (International System of Chromosome Nomenclature) se han ido actualizando en los años sucesivos: 1975, 1978, 1981, 1985, 1991, 1995, 2005, 2009, 2013 siendo la última en 2016. En la década de 1980, el advenimiento de las técnicas de genética molecular dio la oportunidad de caracterizar los puntos de ruptura cromosómicos a nivel molecular. El desarrollo de la citogenética molecular envió el campo rápidamente cambiante a otra revolución, descubriendo por primera vez la naturaleza de los reordenamientos o cambios crípticos, a menudo visibles solo a nivel molecular. Los nuevos métodos FISH incluyeron sondas de cromosomas completos, sondas de copia única y sondas específicas de centrómeros, ¿solo existen esas sondas? lo que permitió responder a muchos tipos diferentes de preguntas, a veces en ausencia de células metafásicas. Durante la década de 1990 y principios de la década de 2000, las sondas FISH se comercializaron para muchas enfermedades constitucionales y adquiridas diferentes (Bayani y Squire, 2004).

3.2.1. **ORDENAMIENTO DEL CARIOTIPO**

Es el estudio organizado y sistematizado de acuerdo con el tamaño, posición de centrómero, de los cromosomas.

La capacidad de identificar críticamente cromosomas normales y reconocer anomalías cromosómicas es fundamental para el análisis citogenético de alta calidad. Antes del desarrollo de las técnicas de bandeo, los cromosomas humanos se aparearon utilizando las características distintivas del tamaño y la localización del centrómero.

En la conferencia de Londres (Nijenhuis, 1964), fue aceptada de manera oficial la propuesta de Klaus Patau, quien sugiere la clasificación de los cromosomas en siete grupos (A-G). Desde el desarrollo de técnicas de bandas G, cada par de cromosomas homólogos se puede identificar por puntos de referencia específicos, regiones y bandas. La técnica de bandeo G también facilitó el reconocimiento de los cromosomas sexuales X y Y, permitiendo su distinción de autosomas de los grupos C y G respectivamente (Paris Conference, 1971).

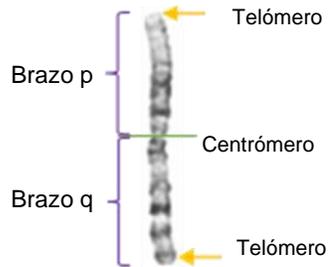
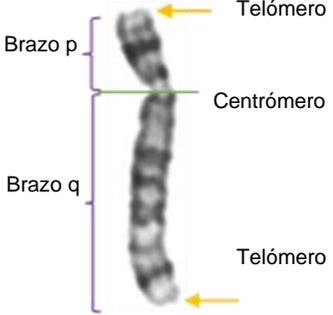
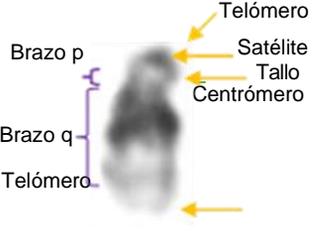
La terminología básica para el bandeo cromosómico establecida en Paris Conference (1971) permitió el diseño del primer ideograma con las bandas típicas de cada cromosoma a distintos niveles de resolución. En sucesivas reuniones internacionales se fueron actualizando los criterios de la nomenclatura cromosómica. La última fue en 1995 y el informe del International System for Human Cytogenetic Nomenclature (ISCN). Las regiones y las bandas se enumeran a partir del centrómero y hacia los telómeros.

Banda: parte de un cromosoma que es claramente distinguible de los segmentos adyacentes al aparecer obscuro o claro por medio de una o más técnicas de bandeo. En el humanos existen 23 pares de cromosomas: los 22 autosomas y el par sexual el X y el Y. Estos se pueden clasificar en 7 grupos, A, B, C, D, E, F y G, de acuerdo con su posición de centrómero y su tamaño de mayor a menor. Las bandas más reconocidas

de cada cromosoma se describen a continuación, destacan en la imagen de cromosomas y el ideograma correspondiente (Strickfaden et al., 2011). La posición del centrómero permite clasificar a los cromosomas en tres tipos principales en humanos:

Tabla 1

Clasificación de los cromosomas de acuerdo con la distribución de sus tamaños.

Posición del centrómero	Grupos	Componentes
Metacéntricos: el centrómero está situado cerca de la mitad de los cromosomas con una relación de brazo largo a brazo corto de 1:1 a 1:1.3.	A – 1, 2, 3 F – 19, 20 E – 16	
Submetacéntricos: Centrómero situado más a un extremo del cromosoma que el otro con una relación de brazo largo a brazo corto de 1:1.3 a 1:7.	B – 4, 5 C – 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, X E – 17, 18	
Acrocéntricos: Centrómero situado cerca del extremo del cromosoma con una relación de largo brazo a brazo corto > 1:7. Los cromosomas acrocéntricos humanos tienen satélites unidos por un tallo, excepto el Y. Dichos satélites están constituidos por heterocromatina.	D – 13, 14, 15 G – 21, 22, Y	

Adaptada de Shaffer (2006)

3.3. TÉCNICAS DE HIBRIDACIÓN MOLECULAR

Debido a su papel fundamental en la biología, el principio de complementariedad juega un papel crucial en la biotecnología. Todas las técnicas principales que son responsables de la revolución biotecnológica actual (secuenciación de DNA, amplificación de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), hibridación (incluidos los conjuntos y chips de DNA)) se basan en el principio de complementariedad. (Frank-Kamenetskii, 2014).

3.4. HIBRIDACIÓN “IN SITU” CON FLUORESCENCIA (FISH)

La hibridación “in situ” con fluorescencia o FISH consiste en el marcaje de genes, cromosomas o partes de ellos con fluorocromos que se evidencian con un microscopio de luz ultravioleta (epifluorescencia) utilizando filtros adecuados. La hibridación fluorescente in situ (FISH) es una forma particular de hibridación en la que el marcador es un fluoróforo. (Singleton, 2012).

Un procedimiento basado en una sonda para detectar una secuencia diana in situ, en una ubicación normal o aberrante dentro de células o tejidos, o p. dentro de una preparación in vitro de cromosomas. Una sonda utilizada para ISH, o un conjugado que se une posteriormente a una sonda hibridada, puede exhibir cualquiera de varios tipos de etiqueta. Las etiquetas radiactivas fueron ampliamente utilizadas en los primeros protocolos; Las etiquetas fluorescentes son actualmente populares. ISH tiene varias aplicaciones en el estudio de la estructura y la función en las ciencias biológicas. En medicina se puede usar p. para detectar ciertos patógenos en muestras clínicas mediante el uso de sondas que se unen a secuencias específicas de patógenos. En ciertos casos (por ejemplo, Mycobacterium tuberculosis), el ISH puede detectar un patógeno significativamente antes de lo que podría ser detectado por el cultivo (Singleton, 2012).

Esta técnica se basa en abrir las cadenas de la doble hélice del DNA en estudio, utilizando formamida y así mismo hacerlo con la sonda marcada, la cual se coloca a temperatura de 75° para este efecto, ambas sonda y blanco se unen por

complementariedad de bases. Actualmente se cohibida, es decir, se abren las cadenas de DNA de ambos al mismo tiempo, sonda y blanco (Stanyon, 2017).

Existen diferentes tipos de sondas:

LSI: Locus específicas, son secuencias de DNA homólogas a regiones específicas de genes, marcadas con fluorocromo, incluidas en la sonda hay secuencias bloqueadoras para suprimir secuencias contenidas en el loci y que son comunes a otros cromosomas. Se pueden utilizar en interfase.

CEP: Son sondas que marcan DNA satélite altamente repetitivo de los centrómeros, son utilizadas para la identificación y enumeración de los cromosomas, con una brillantez tanto en metafases como en núcleos interfásicos, dependiendo del estadio del ciclo celular, de la condensación del DNA y la relativa distancia entre las cromátidas, algunas veces pueden aparecer difusas o partidas o rotas llamadas Split, la marca puede variar en tamaño debido al polimorfismo de estas regiones entre individuos. Son utilizadas para estudiar cuerpos polares, blastómeros, muestras prenatales, tumores y procesos malignos hematológicos.

WCP: Estas sondas van a marcar el cromosoma entero y aplicables para detectar translocaciones, análisis de rearrreglos cromosómicos múltiples, rearrreglos mutágenos, radiaciones, cromosomas marcadores, etc.

TEL: Sondas que marcan las regiones teloméricas de los cromosomas.

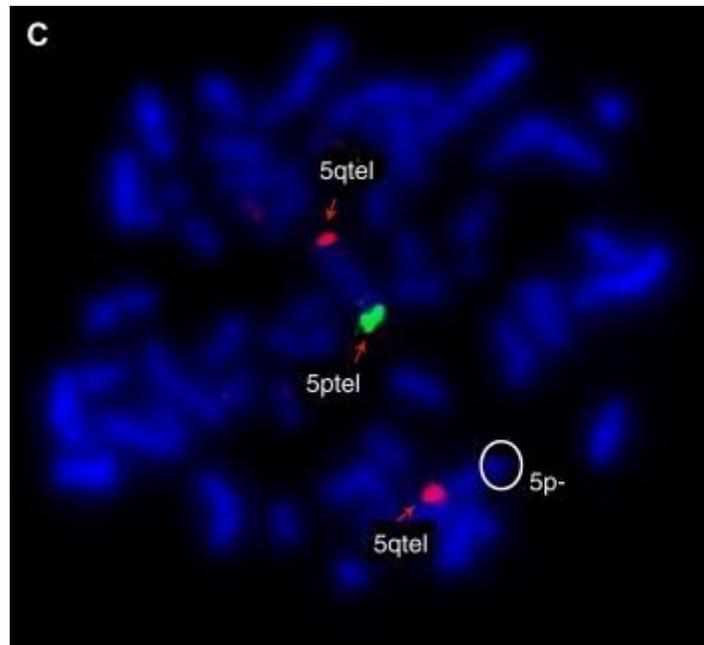


Figura 1. Células en división positivas para una deleción de 5p.

Hibridación por fluorescencia in situ significa utilizar sondas marcadas por fluorescencia para hibridar preparaciones citogenéticas de células (Stanyon, 2017).

3.5. HIBRIDACIÓN GENÓMICA COMPARATIVA BASADA EN MICROARREGLOS (ACGH)

Un desarrollo del método original CGH en el que, en lugar de utilizar cromosomas metafásicos como objetivo de hibridación, el objetivo de hibridación es una matriz de clones de secuencias genómicas específicas que puede ser en forma de p. ej. cósmidos, cDNA o BAC de inserción grande.

Al igual que en el método CGH original, se aplican a la matriz fragmentos marcados con fluoróforo de preparaciones de genoma completo, tanto de fuentes experimentales como de referencia. Después de dejar tiempo para la hibridación, el número relativo de copias de una secuencia dada en la preparación experimental se indica mediante el nivel comparativo de fluorescencia de los fluoróforos experimentales y de referencia con respecto a esa secuencia particular en la matriz. Como cada uno de los clones en

la matriz representa una región conocida del genoma, un cambio en el número de copias registrado en un clon particular identificará los genes específicos cuyo número de copias ha cambiado.

aCGH tiene un nivel de resolución mucho mejor en comparación con el protocolo original CGH; es decir, CGH es bastante insensible a las aberraciones estrechamente espaciadas en un cromosoma porque tiene un límite de resolución que, en el mejor de los casos, es de aproximadamente 10 Mb. Por el contrario, el nivel de resolución en aCGH es ajustable, ya que depende de cómo se separen los clones a lo largo del genoma. (Singleton, 2012).

3.6. ALTERACIONES CROMOSÓMICAS

Tijo y Levan encontraron en 1956 que el complemento cromosómico normal en cada célula humana consiste en 46 cromosomas. Desde entonces, varios tipos de anomalías cromosómicas han sido descubiertas como causas subyacentes de numerosos síndromes clínicos y de estados de enfermedad en humanos (Thillainathan, et al., 2015). Los cromosomas transportan información genética que se codifica como secuencias de DNA, y esta información se decodifica a través de las actividades de proteínas y RNA que se unen a secuencias específicas en elementos de DNA. Los cromosomas también son entidades físicas que obedecen las leyes físicas de la mecánica y la física estadística. Una célula humana contiene cromosomas que suman 7 Gb en total (diploides), que, si se extienden completamente, tendrían una longitud de 2 m (0.34 nm/pb). Para encajar este largo DNA en el núcleo, las proteínas histonas se unen al genoma del DNA y luego lo organizan en una estructura empaquetada llamada cromatina. El volumen total de los cromosomas / cromatinas puede ocupar hasta aproximadamente el 30% del volumen nuclear. Así, los cromosomas están confinados en un espacio abarrotado. La fracción de volumen de los cromosomas dentro del núcleo se ve afectada en gran medida por el tamaño nuclear. Cuando el radio de un núcleo se reduce a la mitad, la fracción de volumen ocupada por los cromosomas aumentará en 8 veces. Durante el curso del desarrollo, aparecen células con varios

tamaños nucleares, y los tamaños nucleares son generalmente diversos entre los tipos de células. Por lo tanto, la fracción de volumen ocupada por los cromosomas debe ser diversa entre las diferentes etapas de desarrollo y los tipos de células. Según los principios de la química, la eficacia de la reacción depende de la concentración de las moléculas, en este caso las proteínas y las secuencias específicas de los cromosomas. Además, la estructura de los hilos cromosómicos también debería depender de la fracción de volumen nuclear ocupada por los cromosomas. Por lo tanto, los cambios en los parámetros físicos (como el tamaño nuclear) durante el desarrollo pueden afectar la transcripción y otras reacciones que ocurren en los cromosomas. (Sugawara y Kimura, 2017).

Los trastornos cromosómicos pueden surgir a partir de cambios numéricos y / o estructurales. Se han reportado aproximadamente 1000 síndromes cromosómicos diferentes. Se estima que la frecuencia de las anomalías cromosómicas es de 1 en 150 a 1 en 200 nacidos vivos (Thillainathan, et al., 2015). El análisis citogenético es esencial en el diagnóstico y evaluación de niños con anomalías congénitas, características dismórficas, retraso en el desarrollo y / o discapacidad intelectual.

3.7. EL CROMOSOMA 5

El cromosoma 5 humano es un cromosoma submetacéntrico que contiene alrededor del 6% del material genético en el genoma. Se caracteriza por muchos grupos de genes, incluidos los que codifican interleucinas, protocadherinas y proteínas del complemento. (Cheng, 2006). El primer esfuerzo organizado para mapear y secuenciar este cromosoma fue lanzado en 1996 por el Centro del Genoma Humano del Laboratorio Nacional Lawrence Berkeley, miembro del Joint Genome Institute (JGI). A principios de 2002, el cromosoma 5 en el GenBank consistía en más de 2600 clones secuenciados de insertos grandes, la mayoría de ellos derivados de las bibliotecas de cromosomas artificiales bacterianos (BAC) Caltech D y RPCI-11. El mapa de mosaico del cromosoma 5 (DOE Joint Genome Institute) ha sido continuamente refinado y utilizado como base para el ensamblaje público de secuencias (Cheng, 2006).

3.7.1. ESTRUCTURA DEL CROMOSOMA 5

El cromosoma 5 contiene aproximadamente 1700 genes, que corresponden a una región de alrededor de 180.9 millones de pares de bases, de los cuales, más del 95% han sido determinados. El brazo corto tiene aproximadamente 38 millones de pares de bases, mientras que el largo corresponde al resto de los 143 millones. El centrómero del cromosoma 5 consta de al menos tres tipos de repeticiones alfoides. Estas repeticiones abarcan aproximadamente 3–4 Mb de DNA dispuesto de p a q como D5Z12 – D5Z2 – D5Z1 (Puechberty et al., 1999).

Más del 88% de la secuencia eucromática de 190 Mb ha sido determinada y utilizada en el análisis. La distribución génica de este cromosoma no es aleatoria. Las bandas 5q31 – q35 representan aproximadamente el 27% del cromosoma, pero contienen el 40% de los genes y el 39% de las islas CpG. Curiosamente, esta región también contiene una densidad más alta de elementos nucleares intercalados cortos (SINE) (15.9%) y una densidad más baja de elementos nucleares intercalados largos (LINE) (17.0%) que el promedio de cromosomas (11.0% y 21.3% respectivamente).

Una característica estructural interesante del cromosoma 5 es que contiene al menos una gran duplicación. La duplicación invertida de aproximadamente 500 kilobases (kb) que contiene los genes centroméricos de supervivencia de la neurona motora 1 telomérica (*SMN1*) y de supervivencia de la neurona motora 2 (*SMN2*) se encontró en 5q13. El DNA duplicado está altamente conservado, con una divergencia de secuencia global que varía de 0.15% a 0.34%, lo que sugiere que la duplicación es un evento evolutivo reciente. Rochette et al. (2001) comparó las secuencias de humanos y chimpancés y sugirió que la duplicación de SMN ocurrió hace unos 5-7 millones de años antes de la separación de chimpancés y humanos.

3.7.2. GENÉTICA DEL CROMOSOMA 5

Se estima que el cromosoma 5 representa el 6.05% del genoma, y que el 3.49% (6.26 Mb) del cromosoma consiste en duplicaciones segmentarias, los cuales muestran

un grado alto de identidad de secuencia ($\geq 97.5\%$); producto de duplicaciones relativamente recientes o eventos de conversión génica que surgieron durante la separación de los humanos y los grandes simios (Schmutz et al., 2004). Esta similitud de secuencia tiene implicaciones en los eventos de recombinación y explica la asociación a desórdenes cromosómicos. Hay muchos grupos de genes en el cromosoma 5 que permiten demostrar el uso de información genómica estructural (secuencia y organización) al abordar importantes cuestiones biológicas (Cheng, 2006).

Tabla 2
Enfermedades y fenotipos asociados con el cromosoma 5 humano.

Localización cromosómica	Gene	Proteína	OMIM	Enfermedad / fenotipo
5p15.33	<i>SDHA</i>	Complejo de deshidrogenasa de succinato, subunidad A, flavoproteína (Fp)	600857	Síndrome de Leigh
5p15.31	<i>MTRR</i>	Metionina sintasa reductasa	602568	Homocistinuria-anemia megaloblástica, tipo Cbl E
5p15.3	<i>SLC6A3</i>	Portador de solutos familia 6, miembro 3	126455	desorden hiperactivo y deficit de atencion
5p15.2	<i>ANKH</i>	Una proteína transmembrana multipaso involucrada en el transporte de pirofosfato	123000	Displasia craneometafisaria
5p15 – p14	<i>DNAH5</i>	Dinaína, cadena pesada axonemal 5	603335	Discinesia ciliar primaria
5p13.3	<i>NPR3</i>	Receptor de péptido natriurético C / guanilato ciclasa C (receptor de péptido atrionatriurético C)	108962	Hipertensión, resistente a la sal.
5p13.2	<i>AMACR</i>	Alfa-metilacil-CoA racemasa	604489	Deficiencia de alfa-metilacil-CoA racemasa
5p13.2	<i>GDNF</i>	Precursor del factor neurotrófico derivado de células gliales	600837	Enfermedad de Hirschsprung
5p13	<i>OXCT</i>	Succinyl-CoA: 3-oxoácido CoA transferasa	245050	Cetoacidosis
5p13	<i>IL7R</i>	Receptor de interleucina-7, involucrado en la regulación de la linfopoyesis	600802	Inmunodeficiencia combinada severa, tipo T – B + NK +

5p12	<i>C6</i>	Complemento péptido precursor componente C6	217050	Deficiencia de C6; deficiencia combinada de C6 / C7
5p12	<i>C7</i>	Complemento péptido precursor componente C7	217070	Deficiencia de C7
5p12	<i>C9</i>	Complemento péptido precursor del componente C9	120940	Deficiencia de C9
5p12	<i>GHR</i>	Receptor de la hormona del crecimiento (proteína de unión al suero), mutaciones en el dominio extracelular	600946	Enanismo de Laron
5p12	<i>GHR</i>	Receptor de la hormona del crecimiento (proteína de unión al suero), mutaciones en el dominio intracelular	245590	Enanismo de Laron, tipo II, con proteína de unión a la hormona del crecimiento sérica elevada
5p12	<i>GHR</i>	Receptor de la hormona del crecimiento (proteína de unión al suero), señalización anormal del receptor de GH	600946	Estatura baja, proteína de unión a la hormona de crecimiento sérica idiopática y baja
5p	<i>MATP</i>	Proteína transportadora asociada a la membrana	606202	Albinismo oculocutáneo, tipo IV
5q11	<i>MOCS2</i>	Cofactor de molibdeno síntesis 2	603708	Deficiencia de cofactor de molibdeno, tipo B
5q11.2	<i>NDUFS4</i>	NADH deshidrogenasa (ubiquinona) Fe - S proteína 4 (18 kD) (NADH - coenzima Q reductasa)	602694	Deficiencia del complejo I
5q11.2	<i>ITGA2</i>	Integrina, alfa 2 (CD49B, subunidad alfa 2 del receptor VLA-2) (receptor de colágeno)	192974	Deficiencia de glicoproteína la

5q11.2	<i>ITGA2</i>	Integrina, alfa 2 (CD49B, subunidad alfa 2 del receptor VLA-2) (receptor de colágeno)	192974	Trombocitopenia aloinmune neonatal
5q11.2	<i>FST</i>	Folistatina, una proteína de unión a activina	184700	Síndrome de Ovario poliquístico
5q11.2 – q13.2	<i>DHFR</i>	Dihidrofolato reductasa	126060	Anemia, megaloblástica, por deficiencia de DHFR
5q12 – q13	<i>MCCC2</i>	3-metilcotonil-CoA carboxilasa 2	210210	3-metilcrotonilglicinuria
5q12.1	<i>CKN1</i>	Síndrome de Cockayne 1 (clásico), una proteína WD repetida	216400	Síndrome de Cockayne
5q12.2 – q12.3	<i>DMGDH</i>	Dimetilglicina deshidrogenasa	605849	Deficiencia de dimetilglicina deshidrogenasa
5q13.2	<i>SMA1</i>	-	253300	Atrofia muscular espinal - 1 o enfermedad de Werdnig-Hoffmann
5q13.2	<i>SMN1</i>	Neurona motora de supervivencia 1	600354	Atrofia muscular espinal - 2
5q13.2	<i>SMN1</i>	Neurona motora de supervivencia 1	600354	Atrofia muscular espinal - 3
5q13.3	<i>HEXB</i>	Hexosaminidasa B (polipéptido beta)	268800	Enfermedad de Sandhoff, formas infantiles, juveniles y adultas.
5q13.3	<i>HEXB</i>	Hexosaminidasa B (polipéptido beta)	268800	Atrofia muscular espinal, juvenil
5q14	<i>AP3B1</i>	Beta-3A-adaptin (probablemente involucrado en la clasificación de proteínas en las vías exocíticas / endocíticas)	603401	Síndrome de Hermansky-Pudlak

5q14.1	<i>ARSB</i>	Arilsulfatasa B (implicada en la degradación de la sustancia de anafilaxia de reacción lenta)	253200	Síndrome de Maroteaux-Lamy
5q14.1	<i>MSH3</i>	Proteína de reparación de falta de coincidencia de DNA Msh3 (proteína corriente arriba divergente, DUP; proteína de reparación de falta de coincidencia 1, MRP1)	600887	Carcinoma endometrial
5q14.3	<i>RASA1</i>	Activador de proteína R21 p21 (proteína activadora de GTPasa) 1	139150	Carcinoma de células basales
5q15 – q21	<i>PCSK1</i>	Proproteína convertasa subtilisina / kexina tipo 1	162150	Obesidad con procesamiento de prohormona deteriorado
5q21	<i>MCC</i>	Mutado en cánceres colorrectales	159350	Cáncer colonrectal
5q22.2	<i>APC</i>	Poliposis coli adenomatosa	175100	Poliposis coli adenomatosa
5q22.2	<i>APC</i>	Poliposis coli adenomatosa	175100	Cáncer colonrectal
5q22.2	<i>APC</i>	Poliposis coli adenomatosa	175100	Enfermedad desmoide, hereditaria
5q22.2	<i>APC</i>	Poliposis coli adenomatosa	175100	Síndrome de Gardner
5q22.2	<i>APC</i>	Poliposis coli adenomatosa	175100	Síndrome de Turcot
5q23	<i>ADAMTS2</i>	Procolágeno IN-proteinasa (NPI)	225410	Síndrome de Ehlers-Danlos, tipo VII
5q23	<i>DTR</i>	Receptor de toxina diftérica	126150	Difteria, susceptibilidad a
5q23.1	<i>LOX</i>	Lisil oxidasa (precursor de la proteína-lisina 6-oxidasa)	153455	Cutis laxa, recesiva, tipo I
5q23.1	<i>HSD17B4</i>	Hidroxiesteroide (17-beta) deshidrogenasa 4	601860	D -deficiencia de proteína bifuncional

5q23.2	<i>FBN2</i>	Fibrilina 2 (aracnodactilia contractural congénita)	121050	Aracnodactilia contractural, congénita
5q31	<i>SLC22A5</i>	Transportador de carnitina dependiente de iones de sodio	212140	Deficiencia de carnitina
5q31	<i>TTID</i>	Miotilina, una proteína del citoesqueleto, que interactúa directamente con la α -actinina	159000	Distrofia muscular de la cintura escapular, tipo 1A
5q31	<i>FACL6</i>	Ácido graso CoA ligasa, cadena larga 6	604443	Síndrome mielodisplásico
5q31	<i>GRAF</i>	Regulador de GTPasa asociado con la quinasa de adhesión focal pp125	605370	Leucemia mielomonocítica juvenil
5q31	<i>IL13</i>	Interleucina 13	147683	Asma, susceptibilidad a
5q31 – q32	<i>PDGFRB</i>	Receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas, polipéptido beta	173410	Trastorno mieloproliferativo con eosinofilia.
5q31 – q33	<i>SCA12</i>	Una expansión de una repetición de CAG en una subunidad reguladora específica del cerebro de la proteína fosfatasa PP2A (PPP2R2B)	604326	Ataxia espinocerebelosa 12
5q31 – q34	<i>SCGB3A2</i>	Secretoglobulina, familia 3A, miembro 2	606531	Asma, susceptibilidad a
5q31.1	<i>IRF1</i>	Factor regulador de interferón - 1	147575	Anemia macrocítica
5q31.1	<i>TGFBI</i>	Proteína inducida por factor de crecimiento transformante	601692	Distrofia corneal, tipo Avellino
5q31.1	<i>TGFBI</i>	Proteína inducida por factor	601692	Distrofia corneal, Groenouw

		de crecimiento transformante		tipo I
5q31.1	<i>TGFBI</i>	Proteína inducida por factor de crecimiento transformante	601692	Distrofia corneal, retícula tipo I
5q31.1	<i>TGFBI</i>	Proteína inducida por factor de crecimiento transformante	601692	Distrofia corneal de Reis-Bucklers
5q31.1	<i>UBE2B</i>	Enzima conjugadora de ubiquitina E2B (homólogo de RAD6) (proteína transportadora de ubiquitina)	179095	Infertilidad masculina
5q31.1 – q33.1	<i>GABRG2</i>	Receptor del ácido gamma-aminobutírico A, gamma-2	137160	Epilepsia, mioclónica juvenil
5q31.3	<i>DIAPH1</i>	Homólogo diáfano 1 (Drosophila)	602121	Sordera, neurosensorial no sindrómica autosómica dominante
5q31.3	<i>NR3C1</i>	Receptor de glucocorticoides (GRL)	138040	Resistencia al cortisol
5q32	<i>ADRB2</i>	Adrenérgico, beta - 2-, receptor, superficie	109690	Asma nocturna, susceptibilidad a
5q32	<i>ADRB2</i>	Adrenérgico, beta - 2-, receptor, superficie	109690	Obesidad con procesamiento de prohormona deteriorado
5q32	<i>POU4F3</i>	Dominio POU, clase 4, factor de transcripción 3	602460	Sordera, autosómica dominante
5q32	<i>SPINK5</i>	Inhibidor de la serina proteasa LEKTI	256500	Síndrome de Netherton
5q32	<i>SPINK1</i>	Inhibidor de la serina proteasa, Kazal tipo 1	167800	Pancreatitis hereditaria
5q32	<i>GLRA1</i>	Receptor de glicina, alfa 1	138491	Enfermedad de sobresalto,

		(enfermedad de sobresalto / hiperekplexia, síndrome del hombre rígido)		autosómica dominante y recesiva
5q32 – q33.1	<i>SLC26A2</i>	Transportador de sulfato de displasia diástrófica	600972	Acondrogénesis, tipo IB
5q32 – q33.1	<i>SLC26A2</i>	Familia de portadores de solutos 26 (transportador de sulfato), miembro 2	256050	Atelosteogénesis, tipo II
5q32 – q33.1	<i>SLC26A2</i>	Familia de portadores de solutos 26 (transportador de sulfato), miembro 2	222600	Displasia diastrofica
5q32 – q33.1	<i>SLC26A1</i>	Familia portadora de solutos 26 (transportador de sulfato), miembro 1	226900	Displasia epifisaria, múltiple
5q32 – q33.1	<i>TCOF1</i>	Proteína de melaza, una supuesta fosfoproteína nucleolar	154500	Síndrome de Treacher – Collins – Franceschetti
5q33	<i>SGCD</i>	Sarcoglicano, delta, una glucoproteína asociada a la distrofina de 35 kDa	601287	Distrofia muscular de la cintura escapular, autosómica dominante, tipo 2F
5q33.1	<i>GM2A</i>	Proteína activadora de gangliósidos GM2 (proteína activadora de sulfato de cerebrósido, proteína activadora de esfingolípidos 3)	272750	Gangliosidosis GM2, variante AB
5q33.1	<i>CSF1R</i>	Receptor del factor 1 estimulante de colonias, anteriormente homólogo de oncogén de sarcoma felino viral de McDonough (v-fms)	164770	Malignidad mieloide, predisposición a
5q33.1	<i>PDE6A</i>	Fosfodiesterasa 6A,	180071	Retinosis pigmentaria,

		específica de cGMP, varilla, alfa		autosómica recesiva
5q35	<i>NPM1</i>	Nucleofosmina 1	164040	Leucemia promielocítica aguda
5q35	<i>NSD1</i>	Proteína de dominio de serie de unión al receptor nuclear, potenciador de la proteína 1 del dominio zeste y trithorax	606681	Síndrome de Sotos
5q35.2	<i>NKX2E</i>	Factor de transcripción NK2 homólogo E (<i>Drosophila</i>)	600584	Defecto del tabique auricular con defectos de conducción auriculoventricular
5q35.2	<i>MSX2</i>	Msh homeobox homolog 2 (<i>Drosophila</i>)	123101	Craneosinostosis, tipo 2 (agujeros parietales)
5q35.2	<i>F12</i>	Factor de coagulación XII (factor de Hageman)	234000	Deficiencia del factor XII
5q35.2	<i>PROP1</i>	Profeta de Pit1, factor de transcripción de homeodominio pareado	601538	Deficiencia hormonal hipofisaria, combinada
5q35.2 – q35.3	<i>B4GALT7</i>	Proteína Xilosilproteína 4-beta-galactosiltransferasa polipéptido 7	604327	Síndrome de Ehlers-Danlos, forma de progeroid
5q35.3	<i>LTC4S</i>	Leucotrieno C4 sintasa	246530	Deficiencia de leucotrienos C4 sintasa
5q35.3	<i>FLT4</i>	Tirosina quinasa 4 relacionada con Fms (receptor 3 del factor de crecimiento endotelial vascular)	153100	Linfedema hereditario

Adaptado de Cheng (2006).

3.8. SÍNDROMES POR ALTERACIONES ESTRUCTURALES DEL CROMOSOMA 5

3.8.1. SÍNDROME DE DELECIÓN 5p

El síndrome de Cri Du Chat (5p-) fue descrito por Lejeune et al. (1963) como un trastorno asociado a la deleción del brazo corto del cromosoma 5, típicamente referido como “la maladie du cri du chat” o enfermedad del maullido de gato, por el tono clásico de voz en los pacientes. Se ha reportado una incidencia variable de entre 1 en 15,000 nacimientos a 1 en 50,000 nacimientos vivos en población asiática y europea respectivamente (Higurashi et al., 1990 ; Niebuhr, 1978 ; Polani, 1969), así como una prevalencia de 1 en 300 a 1 en 650 pacientes con discapacidad intelectual (Duarte et al., 2004 ; Niebuhr, 1978), siendo una de las aberraciones estructurales más frecuentes.

3.8.1.1.1. DESCRIPCIÓN MOLECULAR

Se han reportado tanto uno (deleción terminal) o dos puntos de ruptura (deleción intersticial) dentro del síndrome de deleción 5p, siendo las deleciones terminales el principal mecanismo que lleva a la producción de Cri Du Chat en alrededor del 80% de los casos (Mainardi, 2006 ; Niebuhr, 1978 ; Zhang et al., 2005). Así también, los estudios de Marinardi (2001) y Overhauser (1990) han demostrado que entre el 80% a 90% son producto de eventos de novo de origen paterno. Aunque infrecuentes, también se reportan casos familiares, producto de mosaicismos parentales, y en su mayoría, de eventos de recombinación que llevan a translocaciones en 10-15% e inversiones balanceadas en los padres y a aberraciones complejas en los pacientes (Niebuhr, 1978; Zhang et al., 2005).

Algunos estudios han asociado el tamaño y sitio de la deleción con características fenotípicas distintivas, atribuyendo la deleción distal cercana a 5p15.3 el llanto agudo característico, la microcefalia, las dismorfias faciales de la infancia y los trastornos del lenguaje, así como a la región 5p15.2 la gravedad de la discapacidad intelectual e hipotonía (Elmakky et al., 2014 ; Mainardi, 2006 ; Zhang et al., 2015). La falta de pacientes con límites de deleción más proximales que 33 Mb de 5pter puede indicar

que tales deleciones son letales durante el desarrollo. (Zhang et al., 2005). Describiendo específicamente al llanto agudo, una de las hipótesis (Nguyen et al., 2015) atribuye el efecto haploinsuficiente de *MARCH6* a la etiología, mientras que Wu y col. (2005) propusieron a *FLJ25076* luego de mapearlo a una posible región crítica y definir su expresión en perfiles torácicos, esta propuesta se ve reforzada por la participación de este gen en la señalización de *MARCH6* (Chehimi et al., 2020). Pese a que la haploinsuficiencia de los genes propuesta por Nguyen y col. (2015) parece ser responsable del fenotipo clásico de los pacientes con Cri Du Chat, aún queda por dilucidar con certeza la causa de la variabilidad en la expresión del fenotipo de los pacientes con puntos de ruptura semejantes (Fang et al., 2008). Estudios recientes se han enfocado en la caracterización bioinformática de las vías moleculares alteradas por de los genes implicados (Corrêa et al., 2019), lo cual podrá ayudar a mejorar el entendimiento de la enfermedad.

3.8.1.1.2. CARACTERIZACIÓN CLÍNICA

Los rasgos clínicos comunes en 5p- se engloban dentro de un fenotipo “clásico” del síndrome, estos incluyen un llanto de tono agudo y estridente distintivo, el cual se ha asociado de manera histórica con el maullido de un gato angustiado (Lejeune et al., 1963 ; Polani, 1968), siendo la característica más llamativa de la enfermedad y , y que está presente al nacimiento y evoluciona cambiando de frecuencia a tonos más graves de forma gradual a lo largo de unos cuantos meses a años de vida.

La mayoría de los casos estos pacientes presentan al nacer un peso menor a la percentil 50, así como talla menor a la media en hasta dos tercios de ellos para edad gestacional. El perímetro cefálico tiende a estar por debajo de la percentil 10 en más del 50% de los pacientes, y se mantiene por debajo de la percentil 50 en la mayoría de los casos aún en edad adulta. La discapacidad intelectual es un rasgo *sine qua non* en los pacientes con Cri Du Chat, que suele ser moderada, menor a 50 puntos de

coeficiente intelectual, a grave en los niños, limitando su lenguaje a no más de unas cuantas palabras (Niebuhr, 1978).

Mainardi (2006) aclara que algunas de las características se desarrollan con la edad, pudiendo pasar desapercibidas dependiendo de la edad del diagnóstico, entre las que describe que la cara se vuelve larga y estrecha, el arco supraorbitario prominente, el filtrum corto, el vermellón del labio inferior pleno, maloclusión dental, las fisuras palpebrales tienden a volverse horizontales, el estrabismo divergente es frecuente, el metacarpo y metatarso son cortos, resultando en manos y pies pequeños, y prematuramente se puede observar canas.

Tabla 3
Características fenotípicas de la delección 5p

Neonato	% media	Adulto	%
Peso bajo	2614g	Cara larga estrecha	70.8%
Microcefalia	31.8cm	Arco supraorbitario prominente	31%
Llanto similar al maullido de gato	95.9 %	Fisuras palpebrales horizontales	79.2%
Cara redonda	83.5%	Estrabismo divergente	44.7%
Fisuras palpebrales hacia abajo	56.9%	Filtrum corto	87.8%
Epicanto	90.2%	Labio inferior grueso	45.2%
Hipertelorismo	81.4%	Maloclusión dental (mordida abierta)	75%
Puente nasal ancho	87.2%	Metacarpianos cortos (manos pequeñas)	82.6%
Pabellones auriculares de baja implantación	69.8%	Metatarsianos cortos (pies pequeños)	75%

Comisuras labiales hacia abajo	81%	Canas prematuras	30.4%
Micrognatia	96.7%		
Dermatoglifos anormales	92%		

Adaptado de Mainardi (2006).

3.8.2. SÍNDROME DE DUPLICACIÓN 5p

La trisomía 5p es una entidad conocida con más de 40 casos reportados. Puede ser parcial o completa, como resultado de diferentes mecanismos citogenéticos, como duplicaciones, inserciones, isocromosomas o reordenamientos complejos. Se han descrito menos de una docena de pacientes con marcadores supranumerarios (sSMC) que resultan en trisomía 5p; sin embargo, se postuló una región crítica entre 5p10 y 5p13.1 comparando datos de pacientes con duplicaciones parciales de 5p (Lorda-Sánchez et al., 1997). A pesar de todo, el fenotipo resultante de la trisomía parcial 5p que involucra esta región crítica está pobremente delineado, principalmente debido a muy pocos casos descritos en el seguimiento y la frecuente participación de otras anomalías cromosómicas asociadas con la duplicación de la región 5p. Agregando una mayor complejidad, la mayoría de los sSMC son mosaicos, lo que hace que el análisis de microarreglos cromosómicos no siempre sea factible y difícil de caracterizar, mientras que los puntos de interrupción a menudo muestran heterogeneidad (Starke et al., 2003).

Los pacientes con trisomía parcial 5p que involucra la banda p13 son importantes para la investigación, aunque solo se informan pocos pacientes adultos con un fenotipo detallado. En consecuencia, el fenotipo es difícil de predecir, especialmente en términos de manifestaciones neurocognitivas, lo que dificulta el asesoramiento genético, particularmente en términos de diagnóstico prenatal (Leite et al., 2006).

A pesar de que la trisomía 5p se informa en casi 40 pacientes, las correlaciones genotipo-fenotipo se ven obstaculizadas por informes de cuadros clínicos altamente heterogéneos asociados con tamaños extremadamente variables de segmentos

duplicados y diferentes mecanismos patogénicos, incluidos los cromosomas der (5) raros. La variabilidad clínica se observa con respecto al dismorfismo craneofacial, la afectación de órganos multisistémicos, las manifestaciones esqueléticas y, lo más relevante, las capacidades cognitivas, lo que llevó a varios autores a tratar de delinear una región cromosómica relevante para el fenotipo a 5p. En 1987, Chia et al. Esbozó las diferencias entre los pacientes con duplicaciones de p14pter en comparación con las duplicaciones de p11p13, siendo este último más gravemente afectado. Esta región crítica fue respaldada por informes de pacientes con fenotipo de trisomía 5p y reordenamientos 5p10p13 (Lorda-Sánchez et al., 1997). Además, el síndrome de microduplicación 5p13 (OMIM 613174) se describió recientemente principalmente con retraso del desarrollo y discapacidad del aprendizaje, así como problemas de comportamiento y dismorfismo facial.

Todos los pacientes adultos muestran una cara distintiva, que es desproporcionadamente grande, redonda y alargada. Los dismorfismos típicos, presentes también a una edad muy temprana, incluyen ojos hundidos con fisuras palpebrales significativamente pequeñas y elevadas, además de hipertelorismo y epicanto. Otras características comunes son orejas pequeñas y bajas, un puente nasal ancho, microrretrognatia, bermellón grueso del labio inferior, así como un cuello corto, cabello grueso, rayita baja y cejas pobladas.

La segunda característica más destacada observada en pacientes con trisomía proximal 5p es el sobrepeso / obesidad. Es poco probable que esta característica esté relacionada con trastornos alimenticios, afecciones médicas subyacentes u otras causas secundarias. Curiosamente, el sobrepeso se observa con frecuencia no solo en pacientes con cromosomas der (5), sino también en más de la mitad de los individuos con microduplicaciones 5p11p13.3 y 5p13.1p13.2. En general, la edad de inicio varía desde la infancia hasta la adolescencia, en presencia de peso normal al nacer; con un rango final de IMC de 26 a 40.

Las anomalías esqueléticas, como la aracnodactilia y el talino equinvaro, también se describen con frecuencia en la mitad de los casos. Una cuarta parte muestra defectos cardíacos congénitos, típicamente defectos septales. Los hallazgos más raros incluyen convulsiones y anomalías cerebrales, como la alteración del cuerpo calloso y la ventriculomegalia.

El fenotipo neuroconductual merece especial atención en el síndrome 5p proximal. Mostrando disfunciones ejecutivas, caracterizadas por un déficit de planificación, memoria verbal a corto plazo, memoria de trabajo y atención selectiva y dividida. Además, de afección en las habilidades motoras con movimientos de desbordamiento, disritmia y lentitud motora. Entre los pacientes con síndrome de microduplicación 5p13, todos muestran deterioro cognitivo, mientras que un número alto tiene anomalías de comportamiento, incluyendo trastornos del sueño; comportamiento autolesivo, obsesivo compulsivo; ansiedad y trastorno generalizado, y 2 de ellos fueron descritos como autistas (Oexle et al., 2011). Tal variabilidad con respecto a la función cognitiva y el comportamiento puede reflejar el diferente grado de mosaicismo y distribución tisular de los sSMC, así como la presencia de otros factores modificadores. Entre los pacientes con síndrome de microduplicación 5p13, todos mostraron deterioro cognitivo, mientras que un número alto tenía anomalías de comportamiento, incluyendo trastornos del sueño; comportamiento autolesivo, obsesivo compulsivo; ansiedad y trastorno generalizado, y 2 de ellos fueron descritos como autistas (Oexle et al., 2011). Tal variabilidad con respecto a la función cognitiva y el comportamiento puede reflejar el diferente grado de mosaicismo y distribución tisular de los sSMC, así como la presencia de otros factores modificadores. Entre los pacientes con síndrome de microduplicación 5p13, todos mostraron deterioro cognitivo, mientras que un número alto tenía anomalías de comportamiento, incluyendo trastornos del sueño; comportamiento autolesivo, obsesivo compulsivo; ansiedad y trastorno generalizado, y 2 de ellos fueron descritos como autistas (Oexle et al., 2011). Tal variabilidad con respecto a la función cognitiva y el comportamiento puede reflejar el diferente grado de mosaicismo y distribución tisular de los sSMC, así como la presencia de otros factores modificadores.

El síndrome de microduplicación 5p13 involucra varios genes en el cromosoma 5p13, incluido el gen *NIPBL*, considerado un determinante principal del fenotipo. Aunque las duplicaciones de *NIPBL* parecen causar un efecto más leve que las eliminaciones de la misma región que resultan en el síndrome de Cornelia de Lange, es interesante notar que el autismo y los trastornos relacionados también son frecuentes en el síndrome de Cornelia de Lange. En conjunto, estos datos sugieren que las alteraciones de la dosis del gen *NIPBL* (ya sea deleciones o duplicaciones) pueden desempeñar un papel como factor de riesgo en los trastornos del espectro autista (Camerota et al., 2017).

3.8.3. SÍNDROME DE DELECIÓN 5q

La pérdida completa o parcial del brazo largo del cromosoma 5 (5q-) es una alteración recurrente en trastornos mielodisplásicos (SMD), de entre los que destacan, la anemia refractaria 5q, t-LMA y leucemia mieloide aguda (LMA). Con un punto de ruptura proximal comúnmente en q13-q15 y un punto de ruptura distal dentro de la región q3, en las bandas q31-35, Zhao et al. (1997) identificó la región común de deleción entre los loci D5S479 y D5S500 de una longitud de ~1.5 Mb.; su participación se encuentra en el 40% de los trastornos mieloides relacionados con la terapia (t-LMA y t-SMD), así como en 5-7% de las LMA de novo (Royer-Pokora et al., 2006). Siendo un indicador de progresión rápida a leucemia y mal pronóstico. Cuando el material genómico involucrado es un gen supresor tumoral, resulta en un riesgo aumentado para susceptibilidad a tumores.

El mapeo genómico ha reducido la región eliminada común para un supuesto gen supresor de tumores a un intervalo de 1.5 Mb entre D5S479 y D5S500 (Zhao et al., 1997). El síndrome 5q- es una forma distinta de síndrome mielodisplásico, en el que los linajes eritroides y megacariocíticos están predominantemente afectados. FISH y el análisis de dosis de genes han mapeado la región crítica de pérdida de genes dentro de 5q32 que es distal al locus *AML* (Boulwood et al., 2000). El síndrome 5q- contiene

40 genes. Es importante destacar que la pérdida de *RPS14* conduce a anomalías en los glóbulos rojos, y la pérdida de *MIR145* causa disfunción plaquetaria.

3.8.4. SÍNDROME DE MICRODELECIÓN 5q11

Las microdeleciones de la región 5q11.2 son raras; en la literatura solo se han reportado hasta el momento 13 casos de microdelección 5q11.2. Sin embargo, el fenotipo no está delineado con precisión. Las características descritas hasta ahora son discapacidad intelectual, dismorfismo, anomalías oculares inespecíficas, inmunodeficiencia, asimetría esquelética, laxitud articular, fosas nasales hipoplásicas, agenesia del cuerpo calloso y defectos cardíacos. En algunos casos el fenotipo que se ha reportado asemeja al síndrome de CHARGE. Se ha definido una región crítica común que abarca 1,4 Mb (54-55.4) e involucra 14 genes para todos los casos publicados. *DHX29* es el gen causante del retraso del desarrollo, el dismorfismo y los defectos cardíacos. Codifica para una RNA helicasa dependiente de ATP, que participa en el inicio de la traducción. Así también se propone que la haploinsuficiencia de *IL6ST* explica la inmunodeficiencia observada en estos pacientes, ya que juega un papel crítico tanto en la inmunidad innata como en la adaptativa (Arora et al., 2019).

3.8.5. SÍNDROME DE MICRODELECIÓN 5q12

Descrito como un síndrome de deleción génica contigua del cromosoma 5q12. Raramente se han informado microdeleciones cromosómicas que abarcan la región 5q12, y se asocian con diferentes fenotipos clínicos que no siempre son consistentes, destacando la restricción del crecimiento postnatal, discapacidad intelectual, ataques epilépticos, hiperactividad y anomalías oculares.

Hasta ahora, solo se han informado 9 pacientes esporádicos con microdelección en 5q12. Compartieron algunas características clínicas, como el retraso del crecimiento postnatal, la ID, las anomalías conductuales (hiperactividad), los defectos oculares inespecíficos y el dismorfismo facial. Solo 3 pacientes mostraron epilepsia como un hallazgo clínico adicional (Gnan et al., 2017).

3.8.6. SÍNDROME DE MICRODELECIÓN 5q14.3

Las deleciones dentro de la región cromosómica 5q14.3q15 se han asociado con un espectro de trastornos que incluyen retraso del desarrollo, hipotonía, falta de habla, dismorfismo facial leve, convulsiones y anomalías cerebrales. Se han informado algunos casos de anomalías neurológicas concomitantes y malformación vascular cutánea asociada con la deleción 5q14.3. Las malformaciones capilares hereditarias (CM) con o sin malformaciones arteriovenosas (AVM) están asociadas con mutaciones en *RASA1*, que se encuentra en el cromosoma 5q14.3. Se han informado casos de microdeleción 5q14.3 con discapacidad intelectual, epilepsia, malformaciones cerebrales y anormalidades dermatológicas asociadas (Park et al., 2017).

3.8.7. SÍNDROME DE MICRODELECIÓN 5q31.3

El síndrome de microdeleción 5q31.3 es un trastorno complejo caracterizado por un tono muscular débil, dificultades para tragar y respirar, desarrollo severo del habla y habilidades motoras. Además, hay características estructurales distintas, como una frente estrecha, ojos espaciados, boca abierta con labio superior con carpa y falta de expresión facial. Estos pueden atribuirse a la debilidad del tono muscular (hipotonía). Además, las convulsiones (epilepsia) también son comunes.

Como su nombre indica, esta condición es causada por una pequeña deleción en el brazo largo (q) del cromosoma 5 (en el locus q13.1). La deleción puede causar la pérdida de varios miles de pares de bases de DNA. En esta región, hay 3 genes clave, siendo la pérdida del gen *PURA* el más significativo. *PURA* participa en el desarrollo del cerebro al permitir que las neuronas crezcan y se dividan, además de participar en la mielinización (proteger los nervios) (Cheng, 2006).

3.8.8. SÍNDROME DE CROMOSOMA 5 EN ANILLO

El cromosoma en anillo constitucional es una anormalidad muy rara que se puede encontrar en 1 de cada 25,000 fetos. El mecanismo más frecuente de formación de anillos implica una ruptura en cada brazo seguido de fusión, lo que resulta en la pérdida de material genético de los segmentos distales del cromosoma.

El cromosoma 5 en anillo (r(5)) es una anomalía citogenética que rara vez se ha informado. Aunque se ha observado variabilidad fenotípica en estos pacientes, generalmente presentan un síndrome de "Cri du chat" debido a una deleción contigua de genes ubicada en la banda 5p15.2-15.3. Las características fenotípicas más llamativas asociadas con el r(5) son las anomalías cardíacas congénitas, en particular el defecto del tabique auricular y ventricular y la aorta hipoplásica; que se han informado con frecuencia en las deleciones de la parte distal del brazo largo del cromosoma 5 y en los anillos que conducen a una deleción 5q35-5qter que puede estar relacionado con el gen *NKX2-5* (Basinko et al., 2012).

4. Planteamiento del problema

Existen diversas alteraciones ampliamente descritas del cromosoma 5.

En muchos casos las manifestaciones clínicas dependerán del tipo y tamaño de la alteración, siendo necesario un abordaje citogenético para optimizar el manejo y gasto de recursos de acuerdo con lo descrito previamente, así como con las recomendaciones para cada enfermedad.

En la población mexicana existen pocos reportes relacionados a alteraciones del cromosoma 5, por otro lado, pese a haber cohortes grandes de pacientes con aberraciones cromosómicas en mexicanos, estas no profundizan en la descripción de las características clínicas y citogenéticas específicas de este subgrupo de trastornos, esto lleva a mayor tiempo invertido en el abordaje de los pacientes y dificulta el diagnóstico oportuno.

5. Pregunta de investigación

¿Cuál es la frecuencia y cuáles son las características clínicas y citogenéticas de pacientes con alteraciones del cromosoma 5 en el Hospital Infantil de México Federico Gómez?

6. Justificación

El estudio de pacientes con alteraciones del cromosoma 5 en el HIMFG nos permitirá conocer el espectro clínico y citogenético de estas anomalías, con la finalidad de optimizar el tiempo de demora en el diagnóstico oportuno, y reducir recursos implementados en el abordaje multidisciplinario necesario para la pesquisa diagnóstica y el manejo específico dependiente de la clínica asociada a casos específicos.

7. Objetivos

7.1. OBJETIVO GENERAL

Identificar y describir las características clínicas y citogenéticas de los pacientes con alteraciones del cromosoma 5, que han sido estudiados en el Hospital Infantil de México Federico Gómez, entre el periodo de enero de 2010 y marzo 2020.

7.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Establecer la frecuencia de estas alteraciones en el instituto.
- Comparar la frecuencia de las alteraciones citogenéticas en el cromosoma 5 encontrada en nuestra institución con la reportada en la literatura.
- Describir dos casos representativos y comparar con la literatura.

8. Material y métodos

8.1. TIPO DE ESTUDIO.

Retrospectivo, observacional y transversal.

8.1. POBLACIÓN.

Pacientes con estudio citogenético realizado por el departamento de Genética del Hospital Infantil de México Federico Gómez entre el periodo de 2010-2020 identificados en el registro de estudios citogenéticos.

8.2. LUGAR.

Laboratorio de citogenética del departamento de Genética y consulta externa del departamento de Genética del Hospital Infantil de México Federico Gómez.

8.3. PERIODO DE REALIZACIÓN.

Enero 2010 a marzo 2020.

8.4. CRITERIOS DE SELECCIÓN.

8.4.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN.

- Pacientes con estudio citogenético realizado entre el periodo de enero de 2010 a Marzo de 2020.
- Pacientes con estudio citogenético con alteraciones en el cromosoma 5.
- Pacientes con estudio citogenético molecular para cromosoma 5.

8.4.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.

- Pacientes con estudios externos a la institución.
- Pacientes con antecedentes de exposición a agentes teratogénicos.
- Pacientes con estudio citogenético sin crecimiento.
- Pacientes con estudio citogenético duplicado.

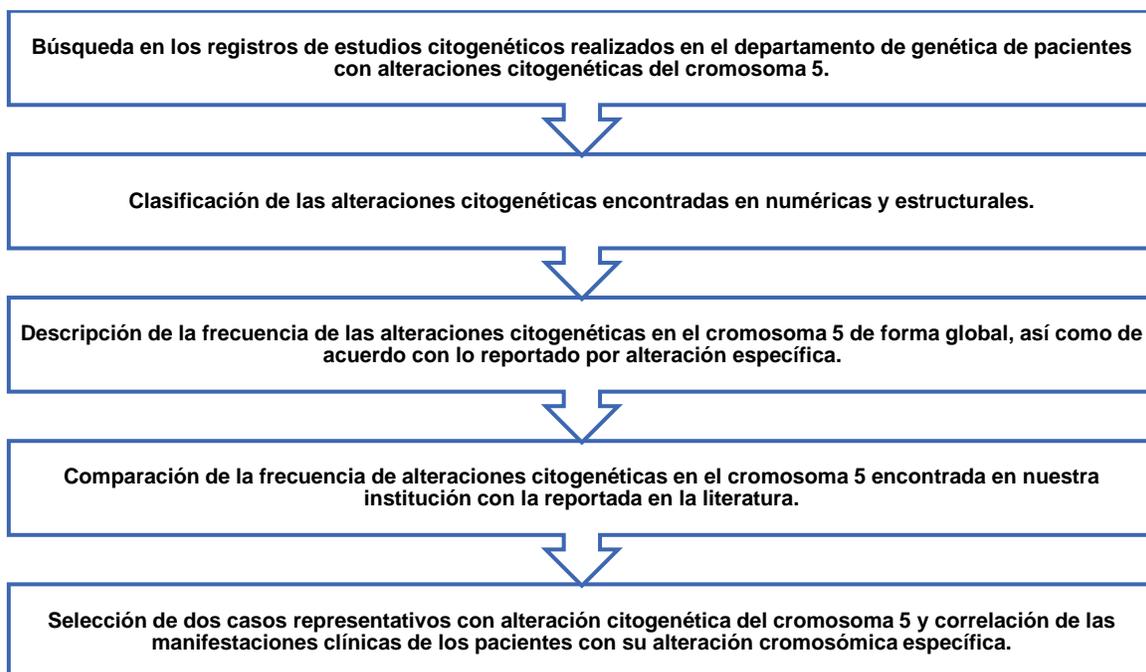
8.4.3. CRITERIOS DE ELIMINACIÓN.

- Pacientes con expediente clínico no disponible para revisión.

El cultivo de linfocitos se estableció a partir de sangre periférica y el análisis de bandas GTG, así como la hibridación in situ se realizaron de acuerdo con técnicas estándar referidas en anexo 1 y 2.

9. Desarrollo general del estudio

Se realizó una búsqueda en los registros de estudios citogenéticos del Departamento de Genética del Hospital Infantil de México Federico Gómez de pacientes con alteraciones en el cromosoma 5 durante el periodo de 2010-2020. Posteriormente se clasificaron las alteraciones citogenéticas encontradas en numéricas y estructurales. Una vez realizado se describió la frecuencia de las alteraciones citogenéticas en el cromosoma 5 de forma global, así como de acuerdo con lo reportado por alteración específica. Se comparó la frecuencia de las alteraciones citogenéticas en el cromosoma 5 encontrada en nuestra institución con la reportada en la literatura. Finalmente, se seleccionaron dos casos representativos con alteración citogenética del cromosoma 5 y se compararon las manifestaciones clínicas de los pacientes con su alteración cromosómica específica. Las manifestaciones clínicas del paciente se obtuvieron del expediente clínico, y las alteraciones citogenéticas analizadas en este proyecto fueron las previamente descritas por el estudio ya realizado en el paciente. Por lo que no se tomaron nuevas muestras de sangre para estudio.



10. Consideraciones éticas

Este proyecto tiene un riesgo menor al mínimo, ya que solo se extraerán datos de registros de estudios cromosómicos del departamento de genética del Hospital Infantil de México Federico Gómez, dichos estudios fueron realizados con autorización de los pacientes, los padres o tutores.

11. Cronograma

ACTIVIDADES	2018		2019		2020	
	Sem1	Sem2	Sem1	Sem2	Sem1	Sem2
Elaboración de protocolo						
Identificación de los casos familiares y recolección de datos						
Revisión de literatura						
Análisis de resultados						
Elaboración de tesis						
Correcciones y conclusiones						
Entrega de versión final						
Publicación de resultados						

12. Resultados

En el Laboratorio de Citogenética del Departamento de Genética del Hospital Infantil de México Federico Gómez, en el periodo de enero 2010 a marzo 2020, se obtuvieron un total de 6505 resultados de cariotipo con técnica de bandas GTG. De estos, 2000 cariotipos (31%) presentaron alteraciones cromosómicas numéricas o estructurales (Figura 3).

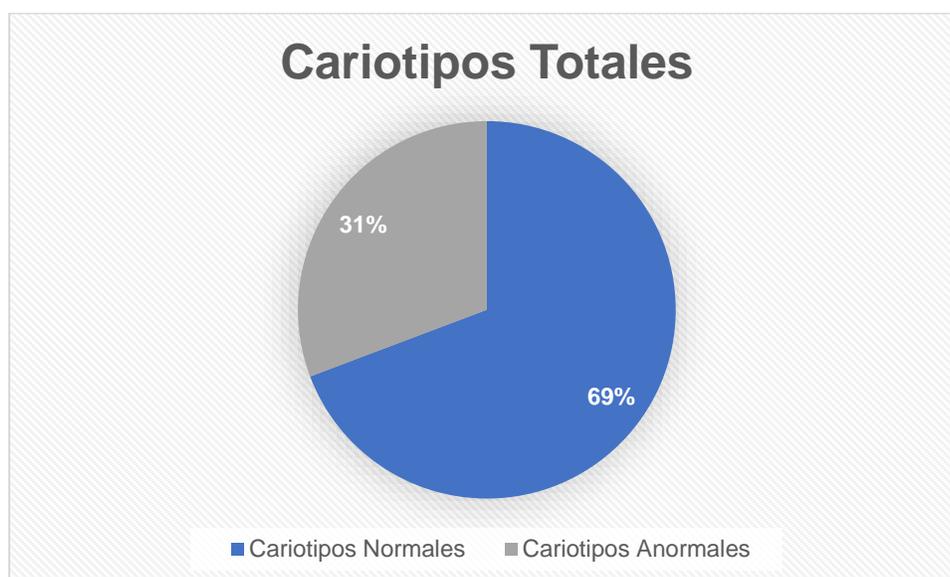


Figura 3. Reporte de resultados de cariotipo totales realizados del periodo enero 2010 – marzo 2020.

Enfocando la búsqueda a las alteraciones específicas para el cromosoma 5 se encontraron 33 casos (Tablas 4 y 5, Figura 4), lo que correspondió al 1.6% de los casos de cariotipos anormales. Esto significa que, en promedio, por cada 197 cariotipos realizados, 61 resultaron en anomalías cromosómicas (Figura 3), y solo un resultado de cariotipo se asociaría a anomalías del cromosoma 5 (Figura 4).



Figura 4. Cariotipos con alteraciones cromosómicas. Comparativa con anomalías del cromosoma 5 del periodo enero 2010 – marzo 2020.

Tabla 4

Casos reportados con alteraciones del cromosoma 5 del periodo enero 2010 – marzo 2020. Distribución por porcentajes y sexo.

Alteración	Casos totales	Porcentaje (n=33)	M	F
Delección 5p	10	30.30%	6	4
Delección 5q	1	3.03%	0	1
Inversión 5p	2	6.06%	1	1
Anillo del 5	1	3.03%	1	0
Dup 5p / Add 5p	3	9.09%	0	3
Add 5q	2	6.06%	0	2
Translocación 5p	6	18.18%	4	2
Translocación 5q	8	24.24%	5	3
Totales	33	100%	17	16

Datos recopilados de expedientes (Fuente: Elaboración propia).

Dentro de los cariotipos con alteraciones del cromosoma 5 (Tabla 5), 9 casos corresponden a estudios de extensión a familiares de pacientes con algún antecedente de cromosomopatía, todos ellos, sin síntomas clínicos descritos, considerándose sanos, estos se descartan en las tablas 5 y 6. En cuanto a los hallazgos reportados, la variante citogenética más frecuente correspondió a la deleción del brazo corto del cromosoma 5, con un total de 10 pacientes (30.3%), todas fueron deleciones terminales no asociadas a rearrreglos complejos. Con una distribución entre sexos en relación 1:1.5 (4 mujeres y 6 hombres), le siguen en frecuencia las translocaciones de brazo largo y corto en ese orden, siendo que la suma de estos dos rearrreglos representa el 42.4% del total (Figura 5).

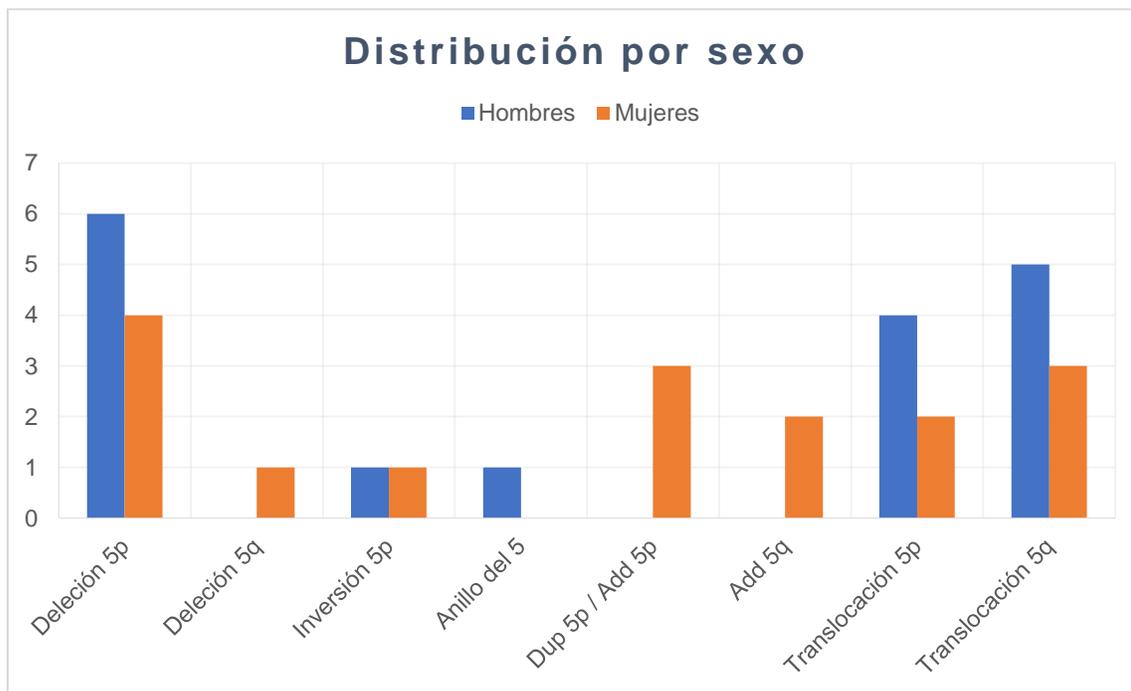


Figura 5. Distribución de alteraciones del cromosoma 5 por sexo.

Uno de los pacientes (3%) presentó mosaico celular que incluyó una línea celular asociada a anillo cromosómico (Tabla 5, caso 8). Se incluyen además dentro de los reportes 3 casos (9%) de material adicional en el brazo corto del cromosoma 5, en uno de los cuales (3%) se cuenta con estudio confirmatorio de la duplicación 5p mediante técnica de hibridación in situ y definición de la región involucrada por CGH-

microarreglos. Otras variantes citogenéticas y porcentajes se muestran en las tablas 3 y 4, y figura 6.

Tabla 5

Casos reportados con alteraciones del cromosoma 5 del periodo enero 2010 – marzo 2020. Distribución por número de cariotipo y diagnóstico.

Número de caso	Fórmula cromosómica	Edad	Sexo	Diagnóstico de solicitud
1	46,XY,t(5;15)(q22;q22)[25]	3a	M	Sx hipereosinofílico idiopático
2	47,XX,+der(12)t(5;7;12)(p?12;q?35;q12)mat[20]	7d	F	Probable Patau
3	46,XX,t(5;7;12)(p?12;q?35;q12)[20]	36a	F	Hija con múltiples malformaciones
4	46,XY,t(2;5)(p21;p15)[25]	28a	M	Caso familiar
5	46,XX,del(5)(p13)[25]	1a	F	Cri du chat
6	46,XY,del(5)(p14)[25]	5m	M	Cri du chat
7	46,XX,der(3)t(3;5)(p25;q33)pat[25]	1a	F	Dismorfias faciales, cardiopatía
8	mos 46,XY,r(5)(p15.3q35.1)[32]/45,XY,-5[3]/46,XY[18]	12a	M	Talla baja, microcefalia, crisis convulsivas, dismorfias
9	46,XX,1qh+,add(5)(q33)[25]	6a	F	RDPM, microftalmia
10	46,XY,t(3;5)(q27;q31)[25]	26a	M	Hijo fallecido por tumor de lóbulo frontal
11	46,XY,t(5;20)(p14;q13.2)[25]	1d	M	Atresia de esófago
12	46,XX,del(5)(p13)[25]	3m	F	Cri du chat
13	46,XY,t(3;5)(p25;q33)[25]	31a	M	Padre de paciente 7
14	46,XY,del(5)(p15)[25]	9m	M	Síndrome 1er y 2do arco
15	46,XY,del(5)(p15.1)[25]	2m	M	Cri du chat
16	46,XY,t(5;7)(q11.1;p15)pat[25]	7m	M	Atresia tricuspídea, dismorfias menores
17	46,XY,del(5)(p14)[25]	10a	M	Cri du chat
18	46,XY,t(5;7)(q11.1;p15)[25]	37a	M	Padre de paciente 16

19	46,XY,t(5;12)(p15;q15)[25].ish t(5;12)(p15;q15)(D5S23+,D5S721+)[10]	16a	M	Crisis convulsivas, Discapacidad intelectual
20	46,XX,dup(5)(p15.2).ish dup(5)(p15.2)(D5S23++,D5S721++)[10]	10a	F	DI, talla alta, estrabismo
21	46,XX,add(5)(p15.3),22pstk+[25]	7a	F	CIV, RGD, talla baja
22	46,XX,t(5;12)(q35;q24.1)mat,22ps+[30]	4a	F	Microtia GI, dismorfias menores, peso bajo, RGD
23	46,XX,t(5;12)(q35;q24.1)[100]	41a	F	Madre de paciente 22
24	46,XX,del(5)(q22q23.3)[25]	1a	F	RDPM, dismorfias menores
25	46,XY,t(1;5)(q21;q13)[25]	2a	F	Síndrome dismórfico, RGD
26	46,XX,del(5)(p15)[25].ish der(5)t(5;?)(p15;?)mat(D5S23- ,D5S721-)[15].nuc ish(D5S23,D5S721)x1[250]	3a	F	Cri du chat
27	46,XX,inv(5)(p14p15.3)pat[25]	9a	F	Encefalopatía, epilepsia, discapacidad intelectual
28	46,XY,inv(5)(p14p15.3)[25]	43a	M	Padre de paciente 27
29	46,XY,del(5)(p14)[25]	5a	M	Cri du chat
30	46,XX,t(5;?)(p15;?)pat[25].ish t(5;?)(D5S23+,D5S721+)[15].nuc ish(D5S23,D5S721)x2[250]	34a	F	Madre de paciente 26
31	46,XY,t(5;?)(p15;?)[25]	64a	M	Padre de paciente 30
32	46,XX,del(5)(p14)[25]	6a	F	RCIU, hipotonía, microcefalia
33	46,XY,del(5)(p13),22ps+[25]	1a	M	Cri du chat vs del 22q11.2, CIV

Datos recopilados de expediente clínico (Fuente: Elaboración propia).

No se obtuvo información clínica de los pacientes 5 y 17 (Tabla 5) al no localizar los expedientes, por lo que su análisis será excluido de las tablas 6 y 7. Las fórmulas de los casos 2, 7, 16, 22 y 26 fueron corregidas luego de los hallazgos en los cariotipos de ambos padres, añadiendo el origen parental. En el caso particular de la fórmula para el paciente 26, la imagen observada a través del cariotipo convencional mostraba la aparente deleción del brazo corto del cromosoma 5, el cariotipo inicial fue reportado con la fórmula 46,XX,del(5)(p15).ish del(5p15.2)(D5S23-,D5S721-), luego de la realización del cariotipo y FISH de la madre (Tabla 5, caso 30) en quien se observó la translocación de la región 5p15 con otro cromosoma correspondiente al grupo C se modificó basado en el posible derivativo resultante de la enfermedad del paciente.

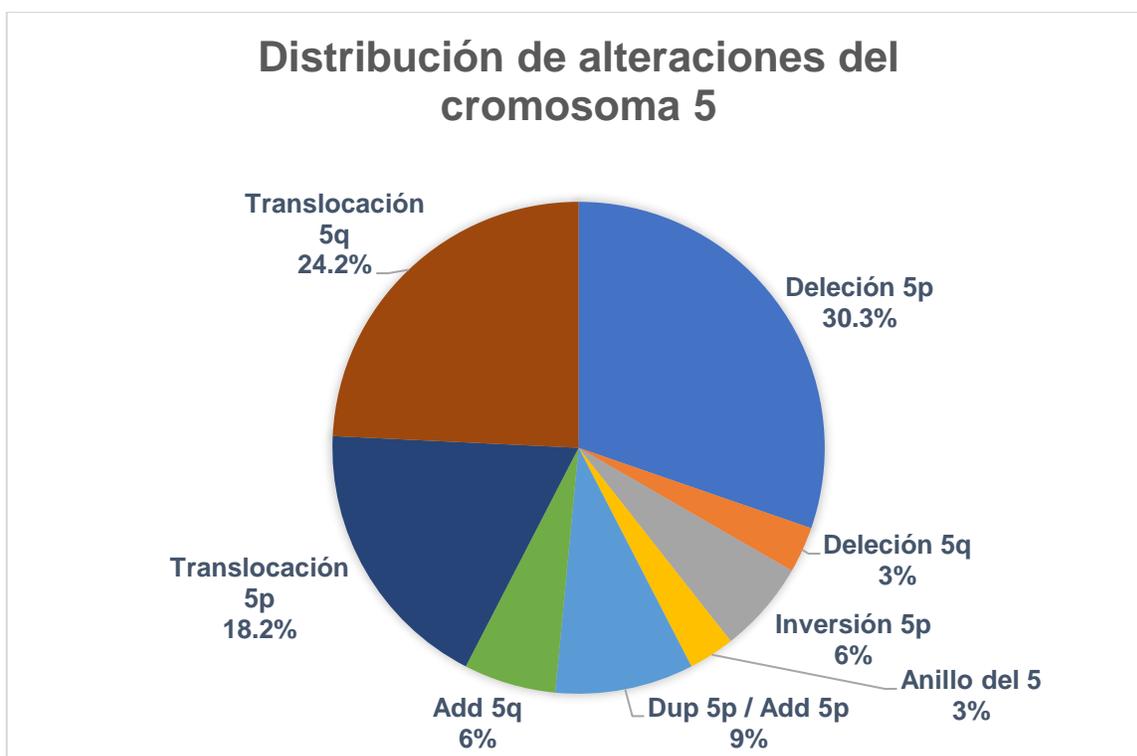


Figura 6. Distribución de alteraciones del cromosoma 5 por porcentaje reportado.

En la tabla 6 se presentan los resultados de las principales características clínicas de los pacientes con diagnóstico de síndrome de Cri du Chat.

Tabla 6
Características fenotípicas de los pacientes con síndrome de Cri du chat.

Características clínicas del síndrome de Cri du chat ^a	Casos analizados con diagnóstico de 5p-							
	6	12	14	15	26	29	32	33
DI / RGD	+	+	+	+	+	+	+	+
Talla baja	+	+	-	-	+	+	+	+
Voz aguda	+	+	-	+	+	-	-	-
Llanto típico / laringomalacia	+ / -	- / +	-	- / +	+ / -	-	+ / +	- / +
Microcefalia	+	+	ND	+	+	+	+	+
HRM	ND	ACC	ND	ACC	ACC	-	ND	-
Asimetría facial	-	+	+	+	-	-	+	+
Cara redonda / micrognatia	+ / -	+ / -	- / +	- / +	-	-	- / +	- / +
Frente prominente	-	-	-	+	-	-	-	+
Hipertelorismo y/o telecanto	+	+	-	+	+	+	-	+
Epicanto	+	+	-	+	+	+	+	+
Fisuras palpebrales oblicuas	-	+	-	+	+	+	+	-
Anomalías oculares	-	ET	-	CT	-	-	-	ET
Puente nasal ancho	+	-	-	-	+	+	-	-
IBPA / DPA	- / +	-	- / +	+ / +	- / +	- / +	+ / +	- / +
Hipoacusia	+	-	+	+	-	+	-	-
Apéndices preauriculares	-	+	-	+	-	+	+	-
Paladar alto / LPH	+ / -	+ / -	+ / -	+ / -	-	-	+ / -	+ / -
Cuello corto	-	-	-	+	-	-	-	-
Defectos cardiacos	-	-	+	-	-	+	+	+
Alteración Renal	ND	-	+	+	-	ND	ND	-
Pliegues palmares anormales	+	+	-	+	-	+	+	-
Clinodactilia	+	+	-	-	-	+	+	-
Otros	PEV	HI	HF	-	EEG	EEG	HF	-

Datos recopilados de expediente clínico. ^a Hallazgos clínicos tomados de Niebuhr (1978).

Abreviaturas: DI, discapacidad intelectual; RGD, retraso global del desarrollo; HRM, hallazgos en resonancia magnética; ACC, adelgazamiento de cuerpo calloso; ET, estrabismo; CT, cataratas; IBPA, implantación baja de pabellones auriculares; DPA, displasia de pabellones auriculares; LPH, labio y/o paladar hendido; PEV, pie equino varo; HI, hernia inguinal; HF, hemangioma frontal; EEG, electroencefalograma anormal; + (símbolo positivo), indicación de la presencia de la característica; - (símbolo negativo), indicación de la ausencia de la característica; ND, no determinado.

En nuestra cohorte de pacientes con síndrome de Cri du chat (Tabla 7), el 100% de los pacientes presentaron discapacidad intelectual y retraso global del desarrollo. Así mismo, siete de los ocho pacientes fueron reportados con microcefalia; sin embargo, en el caso restante no se encontró registro del perímetro cefálico en el expediente. Mientras que el 75% de los pacientes tuvieron talla baja y paladar alto. En cuanto a las dismorfias faciales, el epicanto, el hipertelorismo, las fisuras palpebrales oblicuas, la alteraciones de pabellones auriculares, y la asimetría facial fueron las manifestaciones más frecuentes. El llanto característico y la laringomalacia sólo se encontraron en el 37.5% y 50% de los casos respectivamente.

Tabla 7

Distribución en la cohorte de las manifestaciones clínicas del síndrome de Cri du chat.

Características clínicas del síndrome de Cri du chat ^a	Porcentaje de presentación (n=8)
DI / RGD	100%
Talla baja	75%
Voz aguda	50%
Llanto típico	37.5%
Laringomalacia	50%
Microcefalia	87.5%
ACC	37.5%
Asimetría facial	62.5%
Cara redonda / micrognatia	75%
Frente prominente	25%
Hipertelorismo y/o telecanto	75%
Epicanto	87.5%
Fisuras palpebrales oblicuas	62.5%
Anomalías oculares	37.5%
Puente nasal ancho	37.5%
IBPA / DPA	87.5%
Hipoacusia	50%
Apéndices preauriculares	50%
Paladar alto	75%

Cuello corto	12.5%
Defectos cardiacos	50%
Alteración Renal	25%
Pliegues palmares anormales	62.5%
Clinodactilia	50%

Datos recopilados de expediente clínico, casos 5 y 17 no recabados en base de datos. ^a Hallazgos clínicos tomados de Niebuhr (1978).

Abreviaturas: DI, discapacidad intelectual; RGD, retraso global del desarrollo; ACC, adelgazamiento de cuerpo calloso; IBPA, implantación baja de pabellones auriculares; DPA, displasia de pabellones auriculares.

En la tabla 8 se reportan las manifestaciones clínicas presentadas en los pacientes con otras alteraciones del cromosoma 5. La discapacidad intelectual y el retraso global del desarrollo representan también los hallazgos más frecuentes, distinguiéndose por una mayor cantidad, así como variedad en anomalías cerebrales y alteraciones del paladar como labio y paladar hendido o paladar hendido submucoso, estas últimas no reportadas en la cohorte de pacientes con Cri du chat. La microcefalia y la talla baja son también reconocidas en alrededor de la mitad de los pacientes (Tabla 9).

Tabla 8

Comparación de las características fenotípicas de los pacientes con síndrome de Cri du chat con otras variantes citogenéticas en el cromosoma 5.

Manifestaciones clínicas	Casos analizados con otros diagnósticos citogenéticos													
	1	2	7	8	9	11	16	19	20	21	22	24	25	27
Diagnóstico	t(5;15)	der(12)	der(3)	r(5)	Add5q	t(5;20)	t(5;7)	t(5;12)	Dup5p	Add5p	t(5;12)	5q-	t(1;5)	Inv5p
DI / RGD	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+
Talla baja	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-
Voz aguda	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Microcefalia	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-
Epilepsia	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
ARM	-	ACC	+	+	+	-	-	ND	+	ACC	ND	-	+	+
Asimetría facial	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Cara redonda	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Frente prominente	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-
HT	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-
Epicanto	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-
FPO	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-
Anomalías oculares	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+
Puente nasal ancho	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-
IBPA / DPA	-	- / +	+ / -	-	- / +	-	-	+ / -	-	-	- / +	-	+ / -	-
Hipoacusia	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
Paladar alto / LPH	-	- / +	+ / PHS	+ / -	-	-	-	-	-	-	+ / PHS	-	- / +	-
Cuello corto	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-
Defectos cardiacos	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-
Alteración Renal	-	-	+	+	-	-	ND	+	ND	ND	+	-	ND	ND
Hernia inguinal	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PPA	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Clinodactilia	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

PEV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Escoliosis	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-

Datos recopilados de expediente clínico.

Abreviaturas: DI, discapacidad intelectual; RGD, retraso global del desarrollo; ARM, alteraciones en resonancia magnética; ACC, adelgazamiento de cuerpo calloso; HT, hipertelorismo y/o telecanto; FPO, fisuras palpebrales oblicuas; IBPA, implantación baja de pabellones auriculares; DPA, displasia de pabellones auriculares; LPH, labio y/o paladar hendido; PHS, paladar hendido submucoso; PPA, pliegues palmares anormales; PEV, pie equino varo; + (símbolo positivo), indicación de la presencia de la característica; - (símbolo negativo), indicación de la ausencia de la característica; ND, no determinado.

Tabla 9

Distribución en la cohorte de las manifestaciones clínicas en otras variantes citogenéticas del cromosoma 5.

Características clínicas del síndrome de Cri du chat ^a	Porcentaje de presentación (n=8)
DI / RGD	71.4%
Talla baja	42.8%
Voz aguda	7.1%
Microcefalia	50%
Epilepsia	28.5%
ARM	57.1%
Asimetría facial	21.4%
Cara redonda	7.1%
Frente prominente	42.8%
Hipertelorismo y/o telecanto	21.4%
Epicanto	28.5%
Fisuras palpebrales oblicuas	35.7%
Anomalías oculares	35.7%
Puente nasal ancho	35.7%
IBPA / DPA	42.8%
Hipoacusia	28.5%
Paladar alto	21.4%
LPH / PHS	28.5%
Cuello corto	28.5%
Defectos cardiacos	28.5%
Alteración Renal	28.5%
Pliegues palmares anormales	28.5%
Clinodactilia	7.1%
PEV	7.1%
Escoliosis	21.4%

Datos recopilados de expediente clínico. ^a Hallazgos clínicos tomados de Niebuhr (1978).

Abreviaturas: DI, discapacidad intelectual; RGD, retraso global del desarrollo; ARM, alteraciones en resonancia magnética; IBPA, implantación baja de pabellones auriculares; DPA, displasia de pabellones auriculares; LPH, labio y/o paladar hendido; PHS, paladar hendido submucoso; PEV, pie equino varo.

12.2. PRESENTACIÓN DE CASOS CLÍNICOS

Se describen dos casos representativos, de un paciente con delección intersticial del brazo largo y un paciente con duplicación del brazo corto del cromosoma 5 en el Hospital Infantil de México Federico Gómez. Los datos clínicos se obtuvieron del expediente.

Caso 1

Femenino referido a los 5 meses de edad por retraso en el desarrollo psicomotor y síndrome dismórfico. Sin antecedentes heredofamiliares de importancia. Producto de la gesta 2 de 2, sin abortos previos, hija de padres jóvenes, sanos, no consanguíneos, provenientes de comunidad endogámica. Obtenida por vía abdominal a las 39 semanas de gestación (SDG), peso 2300 gr (<p3), talla 47 cm (p10), Apgar 8/8. Antecedente de displasia de cadera derecha a los 3 meses manejada con arnés de Pavlik. Desarrollo psicomotor: paciente con fijación de la mirada al mes, sonrisa social a los 2 meses, rodamiento a los 5 meses, balbuceo a los 6 meses, sostén cefálico a los 8 meses, sedestación a los 10 meses, bisílabos a los 14 meses, bipedestación a los 17 meses. Exploración física realizada los 6 meses de edad: paciente activa con tono muscular conservado, peso 6.350 gr en (p11), talla 64.5 cm (p24), índice de masa corporal 15.3 (p13), perímetro cefálico 42.4 cm (p52). Cráneo normocéfalo, suturas normotensas, frente amplia y abombada, cejas arqueadas, fisuras palpebrales oblicuas ascendentes, epicanto bilateral, endotropía izquierda, puente nasal ancho y deprimido, narinas antevertidas, paladar íntegro, retrognatía. Tórax normolíneo, área cardíaca sin soplos, pulmonar sin compromiso, abdomen blando, sin visceromegalias, extremidades íntegras y simétricas. Valorada por el servicio de neurología desde los 10 meses, con progresión gradual de los hitos del desarrollo motor. Resonancia magnética nuclear de cerebro y ultrasonido renal sin alteraciones, potenciales evocados auditivos con reporte de audición normal bilateral.

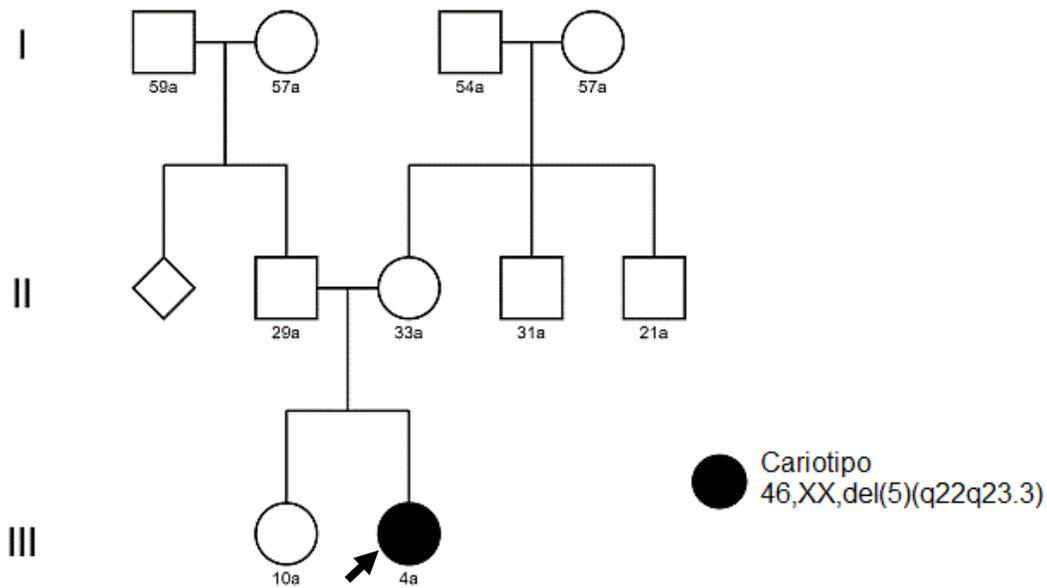


Figura 8. Árbol genealógico de 3 generaciones de la probando.

Se reporta resultado de cariotipo con bandas GTG, 46,XX,del(5)(q22q23.3) (Tablas 5 y 7, caso 24, Figura 9), el cariotipo de los padres con resultado normal.

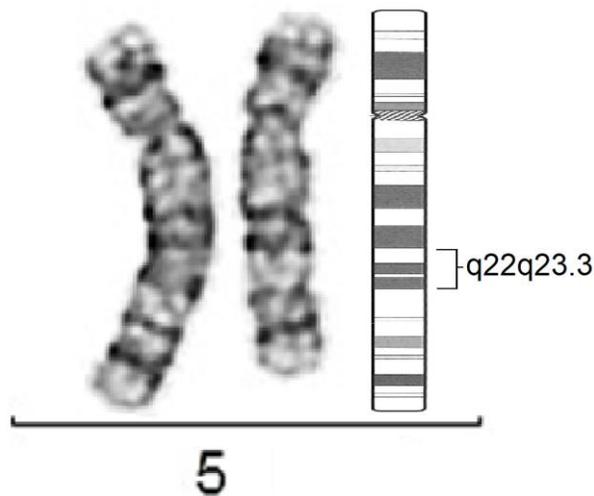


Figura 9. Cariotipo parcial del paciente. Se observa deleción en 5q22-q23.3 señalada en el idiograma (Proporcionado por bióloga Linda B. Muñoz Martínez, Laboratorio de Citogenética, Departamento de Genética, Hospital Infantil de México Federico Gómez).

Caso 2

Femenino referido a los 9 años 6 meses de edad por retraso global del desarrollo y síndrome dismórfico. Antecedente de dos primos hermanos paterno con distrofia muscular tipo Becker. Producto de la gesta 5 de 6, dos antecedentes de aborto en la madre, hija de madre de 38 años y de padre de 39 años, sanos, no consanguíneos, provenientes de comunidad endogámica. Obtenida por vía vaginal a las 38 SDG, peso 2300 gr (p3-10), desconoce talla y Apgar. Antecedente de luxación de hombro a los 5 años manejado con férula sin complicaciones. Desarrollo psicomotor: paciente con fijación de la mirada a los 3 meses, sonrisa social a los 12 meses, sostén cefálico a los 6 meses, sedestación a los 9 meses, bisílabos a los 20 meses, bipedestación a los 14 meses, deambulación a los 24 meses. Exploración física realizada los 10 años de edad: paciente consciente y cooperadora, con tono muscular conservado, peso 42 kg (p87), talla 140.5 cm (p64), índice de masa corporal 21.3 (p90), perímetro cefálico 55 cm (p96). Macrocefalia, frente amplia, cejas pobladas, fisuras palpebrales horizontales, endotropía izquierda, puente nasal ancho, paladar íntegro, maloclusión dental, prognatismo, cuello corto. Tórax normolíneo, área cardiaca sin soplos, pulmonar sin compromiso, abdomen blando, sin visceromegalias, extremidades íntegras y simétricas. Valorada por el servicio de neurología a los 10 años, con diagnóstico de discapacidad intelectual moderada. Tomografía de cráneo desde los 7 años con atrofia cortico-subcortical importante y atrofia cerebelosa. Revalorada a los 14 años con peso de 60.6 kilos en percentil 79, talla de 148 cm en percentil 2, índice de masa corporal de 27.7 en percentil 95, perímetro cefálico de 57 cm en percentil 96, integrando talla baja por detención en el crecimiento y sobrepeso.

Se reportó resultado de cariotipo con bandas GTG, 46,XX,dup(5)(p15.2).ish dup(5)(p15.2)(D5S23++,D5S721++)[10] (Tablas 5 y 7, caso 20, Figura 10), con FISH positivo para duplicación de la región 5p15.2 en cromosoma 5 (Figura 11), el cariotipo de los padres con resultado normal.

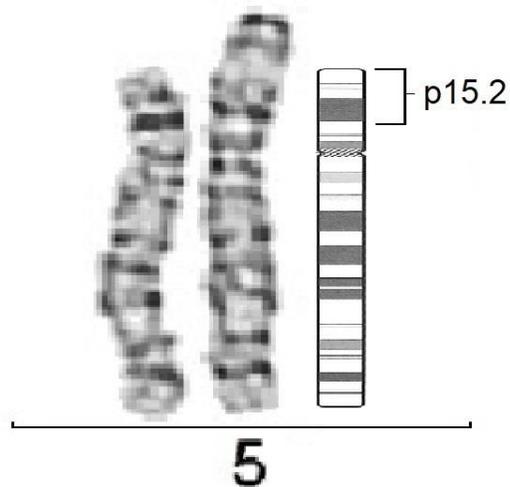


Figura 10. Cariotipo parcial del paciente. Se observa duplicación de región 5p15.2 señalada en el idiograma (Proporcionado por bióloga Linda B. Muñoz Martínez, Laboratorio de Citogenética, Departamento de Genética, Hospital Infantil de México Federico Gómez).

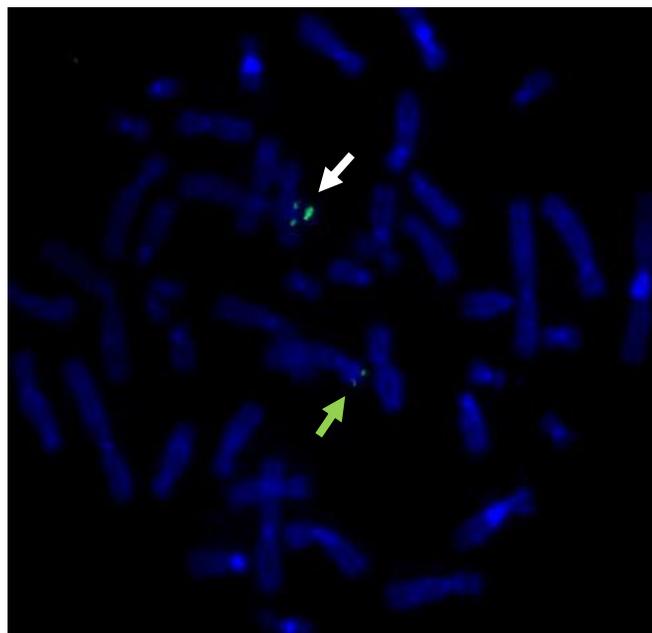


Figura 11. FISH en metafases del paciente. Se observa doble señal de sonda Vysis® LSI D5S23, D5S721 en cromosoma 5, indicada en la flecha blanca, y señal única de sonda Vysis® LSI D5S23, D5S721 en cromosoma par, indicada en la flecha

verde (Proporcionado por bióloga Ariadna B. Morales Jiménez, Laboratorio de Citogenética, Departamento de Genética, Hospital Infantil de México Federico Gómez).

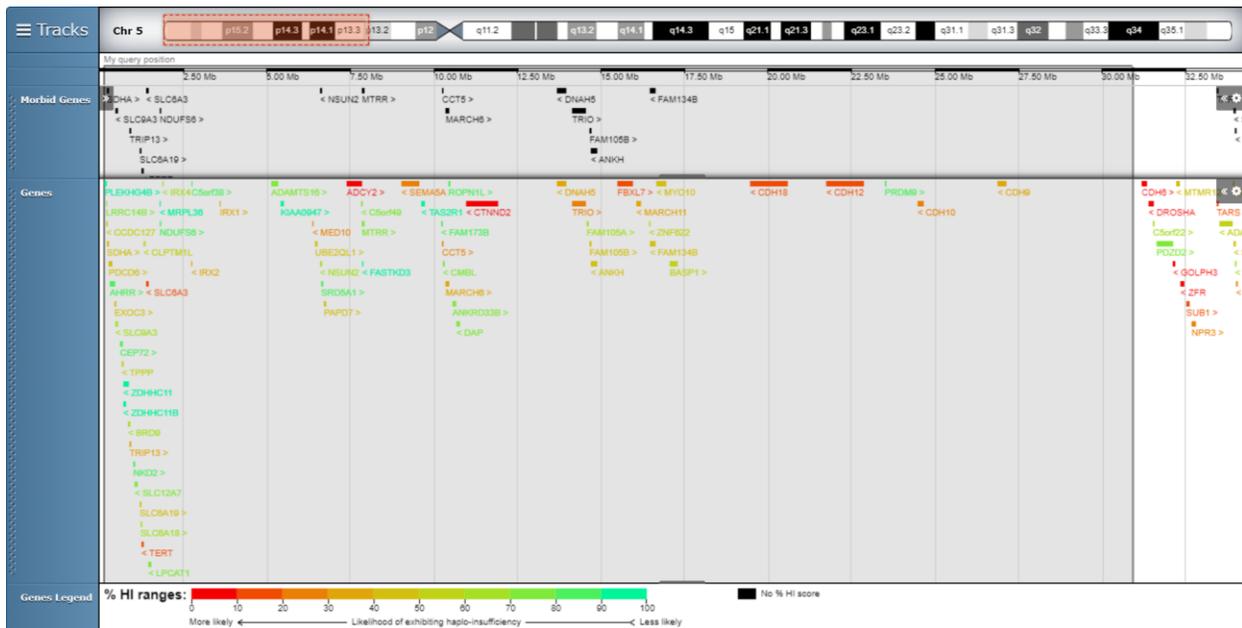


Figura 13. Esquema extraído de DECIPHER® del paciente. Se delimita región de duplicación terminal en la localización genómica 5:120415-30886302 que comprende la región 5p15.2p13.3 de 30.76 Mb, incluyendo genes codificantes susceptibles a dosis en la región.

Se realizó estudio de CGH-microarreglos que reportó ganancia de 30.76 Mb que abarca 84 genes entre los loci 5p15.33 a p13.3 (Figura 13), la cual delimita una región terminal del brazo corto del cromosoma 5. Se reportó además la delección de 223 kb de 19q13.2-q13.31, descrita en la literatura como variante de significado incierto (VUS), así como una ganancia de 5 kb de Xq27.1, reportada previamente como variante benigna.

13. Discusión

De la totalidad de pacientes a quienes se les realizó estudio citogenético entre el periodo de enero 2010 y marzo 2020, el 0.5% de estos estudios presentó alteraciones del cromosoma 5. Si se compara el total de cromosomopatías con las alteraciones del cromosoma 5, éstas representan el 1.6% de las alteraciones cromosómicas diagnosticables por cariotipo convencional.

En cuanto a las deleciones específicas del brazo corto del cromosoma 5, estas mostraron una frecuencia en nuestro estudio de 1 caso por cada 200 cariotipos alterados, siendo semejante a lo descrito por Wellesley et al. (2012) en población europea (1:295), pero menor a la reportada por Duarte et al. (2004) en población brasileña de 1 en cada 86 cariotipos anormales (ver tabla 10). Esta diferencia entre cohortes puede tener relación con el tamaño de la muestra más allá de representar una asociación con el origen étnico.

Tabla 10

Comparación de la frecuencia de las alteraciones del brazo corto del cromosoma 5 en distintas cohortes.

	Duarte et al. (2004)	Wellesley et al. (2012)	Estudio actual (2020)
Total de cariotipos con resultado	905	ND	6 505
Cariotipos con alteraciones cromosómicas	259	10 323	2 000
Deleción 5p	3	35	10

Datos tomados de referencias 25 y 75, y resultados de este estudio.
Abreviaturas: ND, no determinado.

La mayoría de los casos con deleción del brazo corto del cromosoma 5 (30.3% de los casos con alteraciones del cromosoma 5) tenían un diagnóstico clínico altamente sospechoso de síndrome de Cri du chat previo a la realización del estudio (80%), todos

confirmados por cariotipo convencional, en uno de estos pacientes se abordó de manera simultánea el diagnóstico mediante técnica de FISH sin cambios en el resultado, lo cual correlaciona con otros estudios donde se aclara que los principales rasgos clínicos, como la microcefalia, el retraso global en el desarrollo y el llanto característico en la primera infancia tienen una alta sensibilidad para el diagnóstico del síndrome de delección 5p (Mainardi et al., 2001 ; Marinescu et al., 1999 ; Niebuhr, 1978). Además, comparamos las características fenotípicas de nuestros pacientes con las asociadas al síndrome de delección 5p en la literatura, siendo coincidente con la mayoría de las frecuencias descritas previamente (Tabla 11), compartiendo similitudes con las descripciones a nivel mundial. Llama la atención la baja frecuencia de dos de los datos clínicos más comunes (voz aguda y llanto típico o laringomalacia), esto podría deberse probablemente a la edad de referencia de los pacientes a nuestra institución, siendo hallazgos que mejoran de manera progresiva con la edad (Mainardi et al., 2006), indicando un posible retraso en el inicio del abordaje diagnóstico en los pacientes de nuestra población.

Tabla 11

Distribución en la cohorte de las manifestaciones clínicas del síndrome de Cri du chat.

Características clínicas del síndrome de Cri du chat ^a	Niebuhr (1978)	Mainardi et al. (2006)	Estudio actual (2020)
DI / RGD	99.7%	+	100%
Talla baja	52%	+	75%
Voz aguda	94%	95.9%	50%
Llanto típico / laringomalacia	60.4%	95.9%	75%
Microcefalia	82.1%	+	87.5%
Asimetría facial	35.5%	35.6%	62.5%
Cara redonda / micrognatia	67.8%	83.5%	75%
Hipertelorismo y/o telecanto	77.8%	81.4%	75%
Epicanto	88.5%	90.2%	87.5%
Fisuras palpebrales oblicuas	69.2%	56.9%	62.5%
Estrabismo	55.8%	47.5%	37.5%
Puente nasal ancho	95%	87.2%	37.5%
IBPA / DPA	82.1%	69.8%	87.5%
Apéndices preauriculares	21.1%	ND	50%
Paladar alto	55.8%	83.8%	75%

Pliegues palmares anormales	83.3%	92%	62.5%
Clinodactilia	50.7%	19.5%	50%

Datos recopilados de resultados de este estudio, comparativa con referencias 47 y 51.

Abreviaturas: DI, discapacidad intelectual; RGD, retraso global del desarrollo; ACC, adelgazamiento de cuerpo caloso; IBPA, implantación baja de pabellones auriculares; DPA, displasia de pabellones auriculares; ND, no determinado; +, presente sin descripción de porcentaje.

En la literatura existen diversas metodologías para el estudio de cohortes con diagnóstico de Cri du chat (Church et al., 1995 ; Mainardi et al., 2001 ; Niebuhr, 1978 ; Yu et al., 2019 ; Zhang et al., 2005), a pesar esto, el estándar de oro para el diagnóstico sigue siendo el cariotipo convencional con un rendimiento entre 91 a 98% (Mainardi et al., 2001 ; Marinescu et al., 1999), siendo los menos casos aquellos con pérdidas de material genómico menor a 10 Mb (Zhang et al., 2005) que puedan beneficiarse del abordaje molecular. En el presente estudio no se reportaron resultados de FISH positivos para la deleción 5p que presentaran previamente un cariotipo normal, esto puede deberse a la correlación directa del tamaño de la deleción con la gravedad en la expresión clínica (Mainardi et al., 2001, 2006 ; Zhang et al., 2005, 2015), pudiendo ser infradiagnosticados aquellos con deleciones pequeñas tal como lo describen Marinescu et al. (1999) en un estudio de 110 pacientes. A su vez aquellos resultados con estudio de FISH negativo no descartan la totalidad de las deleciones considerando que la sonda Vysis® LSI D5S23, D5S721 abarca una región de ~561kb sobre 5p15.2, lo que permite la omisión de deleciones intersticiales proximales como las descritas por Church et al. (1995).

Este estudio reportó un caso de un rearrreglo cromosómico complejo debido a un mosaico con una línea celular en anillo del cromosoma 5 (Tabla 5 y 7, caso 8) quien comparte a su vez las características clínicas antes mencionadas relacionadas con el síndrome de cri du chat, por otro lado, dicho mosaico cuenta con una línea celular que lleva a la deleción completa de un cromosoma 5, explicado por la inestabilidad del anillo al momento de la segregación, lo que lleva a un mosaicismo dinámico (Flannery, 1998).

Con un total de 10 pacientes 5p- (30.3%), 3 casos (9%) de material adicional en el brazo corto del cromosoma 5, entre los que se reportan una inversión pericéntrica familiar (6%), así como algunas translocaciones entre autosomas, de quienes haría falta realizar estudios moleculares de extensión (microarreglos) para definir correctamente los puntos de ruptura y descartar pérdidas de material genómico no valorables por la resolución del cariotipo. El caso 11 en la tabla 4 correspondería a una translocación balanceada no asociada al fenotipo dada la frecuencia de atresia esofágica en población general y su asociación con una herencia multifactorial.

En un caso (3%), se cuenta con estudio confirmatorio de la duplicación 5p mediante técnica de hibridación in situ y CGH-microarreglos correspondiente al caso 20 en la tabla 4 y presentado como caso clínico 2 en resultados, este describe una duplicación terminal del brazo corto del cromosoma 5 cuyo fenotipo ha sido bien definido en la literatura (Loscalzo et al., 2008).

Se analizaron los casos clínicos presentados en resultados donde el caso clínico 1 abarca la región del gen *APC* susceptible a haploinsuficiencia y en cuyo caso desencadena un riesgo muy alto para desarrollar múltiples adenomas en colon a partir de la adolescencia, este paciente ya se encuentra en seguimiento por oncología de nuestra institución cada 6 meses. Para establecer un asesoramiento dirigido al manejo conservador reductor de riesgo de cáncer de colon está indicado definir la pérdida de dicho gen mediante análisis citogenético molecular o por estudios dirigidos de MLPA para la región involucrada.

14. Conclusiones

La alteración estructural más frecuentemente asociada al cromosoma 5 sigue siendo el síndrome de deleción 5p, también conocido como “Cri du Chat”, representando casi un tercio de la totalidad de casos encontrados en este estudio, y quienes muestran signos clínicos que permiten la distinción de la entidad clínica frente a otros padecimientos localizados en este cromosoma.

Se demuestra que la muestra poblacional de nuestro instituto correlaciona con lo reportado en la literatura a nivel mundial. Para el diagnóstico de los pacientes con cuadro clásico de síndrome de Cri du chat, el cariotipo es el método de elección idóneo. Las técnicas de citogenética molecular deberán reservarse para otras alteraciones del cromosoma 5 o para fines de investigación. Este trabajo amplía las bases de datos de alteraciones cromosómicas con información en población mexicana, permitiendo su uso para futuras investigaciones

La realización de microarreglos como estudio de extensión en rearrreglos complejos, así como en la evaluación del caso 5q- analizado en resultados, ampliaría el conocimiento de los genes involucrados que podrían intervenir en las manifestaciones clínicas de los pacientes, esto tendrá implicaciones importantes para el seguimiento a largo plazo y manejo de los casos, así como en el correcto asesoramiento genético. Actualmente en esta clase de desórdenes es recomendable establecer con certeza estos puntos de ruptura con la finalidad de entablar una correlación genotipo-fenotipo, y de esta manera optimizar el manejo y recursos de los pacientes en estudio.

15. Bibliografía

1. Arora, V., Aggarwal, S., Bijarnia, S., Lall, M., Joshi, A., Dua-Puri, R., Arora, U., & Verma, I. (2019). Extending the Phenotype and Identification of a Novel Candidate Gene for Immunodeficiency in 5q11 Microdeletion Syndrome. *Molecular syndromology*, 9, 312–318.
2. Arsham, M. S., Barch, M. J., Lawce, H. J. (2017). *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual* (4th edition, 1136 pp.). John Wiley & Sons, New Jersey, USA.
3. Basinko, A., Giovannucci Uzielli, M. L., Scarselli, G., Priolo, M., Timpani, G., & De Braekeleer, M. (2012). Clinical and molecular cytogenetic studies in ring chromosome 5: report of a child with congenital abnormalities. *European journal of medical genetics*, 55(2), 112–116. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2011.11.005>
4. Bassett, AS, Mcdonald-Mcgin, DM, Devriendt, K, Digilio, MC, Goldenberg, P, Habel, A, Marino, B, Oskarsdottir, S, Philip, N, Sullivan, K, Swillen, A, Vorstman, J, International 22q11.2 Deletion Syndrome C, . 2011. Practical guidelines for managing patients with 22q11. 2 deletion syndrome. *J Pediatr* 159: 332– 339 e331.
5. Battaglia, A, Filippi, T, Carey, JC. 2008. Update on the clinical features and natural history of wolf-hirschhorn (4p-) syndrome: Experience with 87 patients and recommendations for routine health supervision. *Am J Med Genet Part C Semin Med Genet* 148C: 246– 251.
6. Bayani, J., Squire, J. A. (2004). Overview of Cytogenetic Chromosome Analysis and Traditional Banding of Chromosomes for Cytogenetic Analysis. [doi:10.1002/0471143030.cb2201s23](https://doi.org/10.1002/0471143030.cb2201s23)
7. Bengtsson, U, McMahan, J, Quarrell, O, Rubenstein, C, David, K, Greenberg, F, Wasmuth, J. 1990. Phenotypically normal carriers of unbalanced terminal deletions of 5p transmit the deletions to offspring who display growth and developmental delay. *Am J Hum Genet* 47: A818.

8. Breg, WR, Steele, MW, Miller, OJ, Warburton, D, Allderdice, PW. 1970. The cri du chat syndrome in adolescents and adults: Clinical finding in 13 older patients with partial deletion of the short arm of chromosome no. 5 (5p-). *J Pediatr* 77: 782–791.
9. Bright, RA, Moore, RM, Jeng, LL, Sharkness, CM, Hamburger, SE, Hamilton, PM. 1993. The prevalence of tympanostomy tubes in children in the united states, 1988. *Am J Public Health* 83: 1026– 1028.
10. Boulwood, J., Strickson, A. J., Jabs, E. W., Cheng, J. F., Fidler, C., & Wainscoat, J. S. 2000. Physical mapping of the human ATX1 homologue (HAH1) to the critical region of the 5q- syndrome within 5q32, and immediately adjacent to the SPARC gene. *Human genetics*, 106, 127–129.
11. Camerota, L., Pitzianti, M., Postorivo, D., Nardone, A. M., Ligas, C., Moretti, C., Pasini, A., & Brancati, F. (2017). A Small Supernumerary Marker Derived from the Pericentromeric Region of Chromosome 5: Case Report and Delineation of Partial Trisomy 5p Phenotype. *Cytogenetic and genome research*, 153(1), 22–28. <https://doi.org/10.1159/000481331>.
12. Carlin, M.E. (1990) The improved prognosis in cri-du-chat (5p-) syndrome. In *Key Issues in Mental Retardation Research* (ed. W.I. Fraser). Routledge, London, pp. 64–73.
13. Chehimi, S. N., Zanardo, É. A., Ceroni, J., Nascimento, A. M., Madia, F., Dias, A. T., Filho, G., Montenegro, M. M., Damasceno, J., Costa, T., Gasparini, Y., Kim, C. A., & Kulikowski, L. D. (2020). Breakpoint delineation in 5p- patients leads to new insights about microcephaly and the typical high-pitched cry. *Molecular genetics & genomic medicine*, 8(2), e957qw. <https://doi.org/10.1002/mgg3.957>
14. Cheng, JF. 2006. Chromosome 5. In *eLS* (33), 391–392.
15. Church, D. M., Bengtsson, U., Nielsen, K. V., Wasmuth, J. J., & Niebuhr, E. (1995). Molecular definition of deletions of different segments of distal 5p that result in distinct phenotypic features. *American journal of human genetics*, 56(5), 1162–1172.

16. Church, DM, Yang, J, Bocian, M, Shiang, R, Wasmuth, JJ. 1997. A high-resolution physical and transcript map of the cri du chat region of human chromosome 5p. *Genome Res* 7: 787– 801.
17. Coelho, CB, Sanchez, TG, Tyler, RS. 2007. Hyperacusis, sound annoyance, and loudness hypersensitivity in children. *Prog Brain Res* 166: 169– 178.
18. Collins, MS, Cornish, K. 2002. A survey of the prevalence of stereotypy, self-injury and aggression in children and young adults with cri du chat syndrome. *J Intellect Disabil Res* 46: 133– 140.
19. Cornish, KM, Munir, F. 1998. Receptive and expressive language skills in children with cri-du-chat syndrome. *J Commun Disord* 31: 73– 80.
20. Cornish, KM, Pigram, J. 1996. Developmental and behavioural characteristics of cri du chat syndrome. *Arch Dis Child* 75: 448– 450.
21. Cornish, KM, Cross, G, Green, A, Willatt, L, Bradshaw, JM. 1999. A neuropsychological-genetic profile of atypical cri du chat syndrome: Implications for prognosis. *J Med Genet* 36: 567– 570.
22. Corrêa, T., Feltes, B. C., & Riegel, M. (2019). Integrated analysis of the critical region 5p15.3-p15.2 associated with cri-du-chat syndrome. *Genetics and molecular biology*, 42(1 suppl 1), 186–196. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2018-0173>
23. Dahm R. (2008). Discovering DNA: Friedrich Miescher and the early years of nucleic acid research. *Human genetics*, 122(6), 565–581. <https://doi.org/10.1007/s00439-007-0433-0>
24. Dasso, Mary (2011). *Cell Biology of Chromosomes and Nuclei*. doi:10.1002/0471143030.cb2200s52
25. Duarte, A. C., Cunha, E., Roth, J. M., Ferreira, F. L., Garcias, G. L., & Martino-Roth, M. G. (2004). Cytogenetics of genetic counseling patients in Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil. *Genetics and molecular research : GMR*, 3(3), 303–308.
26. Dykens, EM, Clarke, DJ. 1997. Correlates of maladaptive behavior in individuals with 5p- (cri du chat) syndrome. *Dev Med Child Neurol* 39: 752– 756.
27. Elmakky, A., Carli, D., Lugli, L., Torelli, P., Guidi, B., Falcinelli, C., Fini, S., Ferrari, F., & Percesepe, A. (2014). A three-generation family with terminal microdeletion

- involving 5p15.33-32 due to a whole-arm 5;15 chromosomal translocation with a steady phenotype of atypical cri du chat syndrome. *European journal of medical genetics*, 57(4), 145–150. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2014.02.005>
28. Fang, J. S., Lee, K. F., Huang, C. T., Syu, C. L., Yang, K. J., Wang, L. H., Liao, D. L., & Chen, C. H. (2008). Cytogenetic and molecular characterization of a three-generation family with chromosome 5p terminal deletion. *Clinical genetics*, 73(6), 585–590. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2008.00995.x>
29. Flannery, D. B., Rogers, W. G., & Byrd, J. R. (1988). Ring chromosome 5. *Clinical genetics*, 34(1), 74–78. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.1988.tb02619.x>
30. Frank-Kamenetskii, M.D. (2014). DNA Structure: Sequence Effects. In eLS , John Wiley & Sons, Ltd (Ed.). doi:10.1002/9780470015902.a0002976.pub2
31. Gellis, SS, Feingold, M. 1969. Cri du chat syndrome. *Am J Dis Child* 117: 699–700.
32. Gersh, M, Goodart, SA, Overhauser, J. 1994. Physical mapping of genetic markers on the short arm of chromosome 5. *Genomics* 24: 577– 579.
33. Gersh, M, Goodart, S, Pasztor, L, Harris, D, Weiss, L, Overhauser, J. 1995. Evidence for a distinct region causing a cat-like cry in patients with 5p deletions. *Am J Hum Genet* 56: 1404.
34. Gnan, C., Franzoni, A., Baldan, F., Passon, N., Damante, G., & Dello Russo, P. 2017. Familial 5q12.3 Microdeletion: Evidence for a Locus Associated with Epilepsy. *Molecular syndromology*, 8, 98–102.
35. Hand, JL, Michels, VV, Marinello, MJ, Ketterling, RP, Jalal, SM. 2000. Inherited interstitial deletion of chromosomes 5p and 16q without apparent phenotypic effect: Further confirmation. *Prenat Diagn* 20: 144– 148, discussion 149-151.
36. Higurashi, M., Oda, M., Iijima, K., Iijima, S., Takeshita, T., Watanabe, N., & Yoneyama, K. (1990). Livebirth prevalence and follow-up of malformation syndromes in 27,472 newborns. *Brain & development*, 12(6), 770–773. [https://doi.org/10.1016/s0387-7604\(12\)80004-0](https://doi.org/10.1016/s0387-7604(12)80004-0)
37. Jacobs P. A. (1981). Mutation rates of structural chromosome rearrangements in man. *American journal of human genetics*, 33(1), 44–54.

38. Johnson, EI, Marinescu, RC, Punnett, HH, Tenenholz, B, Overhauser, J. 2000. 5p14 deletion associated with microcephaly and seizures. *J Med Genet* 37: 125–127.
39. Kondoh, T, Shimokawa, O, Harada, N, Doi, T, Yun, C, Gohda, Y, Kinoshita, F, Matsumoto, T, Moriuchi, H. 2005. Genotype-phenotype correlation of 5p-syndrome: Pitfall of diagnosis. *J Hum Genet* 50: 26– 29.
40. Lander, E. S., Linton, L. M., Birren, B., Nusbaum, C., Zody, M. C., Baldwin, J., Devon, K., Dewar, K., Doyle, M., FitzHugh, W., Funke, R., Gage, D., Harris, K., Heaford, A., Howland, J., Kann, L., Lehoczky, J., LeVine, R., McEwan, P., McKernan, K., ... International Human Genome Sequencing Consortium (2001). Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, 409(6822), 860–921. <https://doi.org/10.1038/35057062>
41. Leite, R. P., Souto, M., Carvalho, B., Martins, M., Chaves, R., Morais, A., Guedes-Pinto, H., Wienberg, J., & Ribeiro, E. (2006). Identification, characterization and clinical implications of two markers detected at prenatal diagnosis. *Prenatal diagnosis*, 26(10), 920–924. <https://doi.org/10.1002/pd.1527>
42. Lejeune, J., Lafourcade, J., Berger, R., Vialatte, J., Boeswillwald, M., Seringe, P., & Turpin, R. (1963). Trois cas de d'el'etion partielle du bras court d'un chromosome 5 [3 cases of partial deletion of the short arm of a 5 chromosome]. *Comptes rendus hebdomadaires des seances de l'Academie des sciences*, 257, 3098–3102.
43. Lorda-Sánchez, I., Urioste, M., Villa, A., Carrascosa, M. C., Vázquez, M. S., Martínez, A., & Martínez-Frías, M. L. 1997. Proximal partial 5p trisomy resulting from a maternal (19;5) insertion. *American journal of medical genetics*, 68(4), 476–480.
44. Loscalzo, M. L., Becker, T. A., & Sutcliffe, M. (2008). A patient with an interstitial duplication of chromosome 5p11-p13.3 further confirming a critical region for 5p duplication syndrome. *European journal of medical genetics*, 51(1), 54–60. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2007.09.006>
45. Mainardi, P. C., Perfumo, C., Calì, A., Coucourde, G., Pastore, G., Cavani, S., Zara, F., Overhauser, J., Pierluigi, M., & Bricarelli, F. D. (2001). Clinical and

- molecular characterisation of 80 patients with 5p deletion: genotype-phenotype correlation. *Journal of medical genetics*, 38(3), 151–158. <https://doi.org/10.1136/jmg.38.3.151>
46. Mainardi P. C. (2006). Cri du Chat syndrome. *Orphanet journal of rare diseases*, 1, 33. <https://doi.org/10.1186/1750-1172-1-33>
47. Mainardi, P. C., Pastore, G., Castronovo, C., Godi, M., Guala, A., Tamiazzo, S., Provera, S., Pierluigi, M., & Bricarelli, F. D. (2006). The natural history of Cri du Chat Syndrome. A report from the Italian Register. *European journal of medical genetics*, 49(5), 363–383. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2005.12.004>
48. Marinescu, R. C., Johnson, E. I., Grady, D., Chen, X. N., & Overhauser, J. (1999). FISH analysis of terminal deletions in patients diagnosed with cri-du-chat syndrome. *Clinical genetics*, 56(4), 282–288. <https://doi.org/10.1034/j.1399-0004.1999.560405.x>
49. Nakagome, Y., Iinuma, K., & Taniguchi, K. (1973). Points of exchange in a human no. 5 ring chromosome. *Cytogenetics and cell genetics*, 12(1), 35–39. <https://doi.org/10.1159/000130435>
50. Nguyen, J. M., Qualmann, K. J., Okashah, R., Reilly, A., Alexeyev, M. F., & Campbell, D. J. (2015). 5p deletions: Current knowledge and future directions. *American journal of medical genetics. Part C, Seminars in medical genetics*, 169(3), 224–238. <https://doi.org/10.1002/ajmg.c.31444>
51. Niebuhr E. (1978). The Cri du Chat syndrome: epidemiology, cytogenetics, and clinical features. *Human genetics*, 44(3), 227–275. <https://doi.org/10.1007/BF00394291>
52. Nijenhuis I. E. (1964). The london conference on "the normal human karyotype" august 28-30, 1963. *American Journal of Human Genetics*, 16(1), 156–158.
53. Oexle, K., Hempel, M., Jauch, A., Meitinger, T., Rivera-Brugués, N., Stengel-Rutkowski, S., & Strom, T. 2011. 3.7 Mb tandem microduplication in chromosome 5p13.1-p13.2 associated with developmental delay, macrocephaly, obesity, and lymphedema. Further characterization of the dup(5p13) syndrome. *European journal of medical genetics*, 54, 225–230.

54. Overhauser, J., McMahon, J., Oberlender, S., Carlin, M. E., Niebuhr, E., Wasmuth, J. J., & Lee-Chen, J. (1990). Parental origin of chromosome 5 deletions in the cri-du-chat syndrome. *American journal of medical genetics*, 37(1), 83–86. <https://doi.org/10.1002/ajmg.1320370119>
55. Paris Conference (1971): standardization in human cytogenetics. (1972). *Birth defects original article series*, 8(7), 1–46.
56. Park, S. M., Kim, J. M., Kim, G. W., Kim, H. S., Kim, B. S., Kim, M. B., & Ko, H. C. 2017. 5q14.3 Microdeletions: A Contiguous Gene Syndrome with Capillary Malformation-Arteriovenous Malformation Syndrome and Neurologic Findings. *Pediatric dermatology*, 34, 156–159.
57. Perfumo, C, Cerruti Mainardi, P, Cali, A, Coucourde, G, Zara, F, Cavani, S, Overhauser, J, Bricarelli, FD, Pierluigi, M. 2000. The first three mosaic cri du chat syndrome patients with two rearranged cell lines. *J Med Genet* 37: 967– 972.
58. Polani P. E. (1969). Autosomal imbalance and its syndromes, excluding down's. *British medical bulletin*, 25(1), 81–93. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.bmb.a070675>
59. Puechberty, J., Laurent, A. M., Gimenez, S., Billault, A., Brun-Laurent, M. E., Calenda, A., Marçais, B., Prades, C., Ioannou, P., Yurov, Y., & Roizès, G. (1999). Genetic and physical analyses of the centromeric and pericentromeric regions of human chromosome 5: recombination across 5cen. *Genomics*, 56(3), 274–287. <https://doi.org/10.1006/geno.1999.5742>
60. Rochette, C. F., Gilbert, N., & Simard, L. R. (2001). SMN gene duplication and the emergence of the SMN2 gene occurred in distinct hominids: SMN2 is unique to *Homo sapiens*. *Human genetics*, 108(3), 255–266. <https://doi.org/10.1007/s004390100473>
61. Royer-Pokora, B., Trost, D., Müller, N., Hildebrandt, B., Germing, U., & Beier, M. (2006). Delineation by molecular cytogenetics of 5q deletion breakpoints in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia. *Cancer genetics and cytogenetics*, 167(1), 66–69. <https://doi.org/10.1016/j.cancergencyto.2005.08.003>
62. Ruíz, V.D.C., Hernández, R.D.U., de la Rosa, G.F.Z. (2019). *Genética clínica* (2da edición, 651 p.). Editorial El Manual Moderno, Ciudad de México.

63. Schmutz, J., Martin, J., Terry, A., Couronne, O., Grimwood, J., Lowry, S., Gordon, L. A., Scott, D., Xie, G., Huang, W., Hellsten, U., Tran-Gyamfi, M., She, X., Prabhakar, S., Aerts, A., Altherr, M., Bajorek, E., Black, S., Branscomb, E., Caoile, C., ... Rubin, E. M. (2004). The DNA sequence and comparative analysis of human chromosome 5. *Nature*, 431(7006), 268–274. <https://doi.org/10.1038/nature02919>
64. Shaffer, L.G. (2006). Karyotype Interpretation. In e LS , (Ed.). doi:10.1038/npg.els.0005778
65. Simmons, AD, Goodart, SA, Gallardo, TD, Overhauser, J, Lovett, M. 1995. Five novel genes from the cri-du-chat critical region isolated by direct selection. *Hum Mol Genet*4: 295– 302.
66. Singleton, P. (2012). Dictionary of DNA and Genome Technology. doi:10.1002/9781118447567
67. Stanyon, R. (2017). Fluorescence in situ Hybridization. In *The International Encyclopedia of Primatology* (eds M. Bezanson, K.C. MacKinnon, E. Riley, C.J. Campbell, K. Nekaris, A. Estrada, A.F. Di Fiore, S. Ross, L.E. Jones-Engel, B. Thierry, R.W. Sussman, C. Sanz, J. Loudon, S. Elton and A. Fuentes). doi:10.1002/9781119179313.wbprim0116
68. Starke, H., Nietzel, A., Weise, A., Heller, A., Mrasek, K., Belitz, B., Kelbova, C., Volleth, M., Albrecht, B., Mitulla, B., Trappe, R., Bartels, I., Adolph, S., Dufke, A., Singer, S., Stumm, M., Wegner, R. D., Seidel, J., Schmidt, A., Kuechler, A., ... Liehr, T. (2003). Small supernumerary marker chromosomes (SMCs): genotype-phenotype correlation and classification. *Human genetics*, 114(1), 51–67. <https://doi.org/10.1007/s00439-003-1016-3>
69. Strachan, T., Andrew, P. R. (2019). *Human Molecular Genetics* (5 edition, 636 pp.). Taylor & Francis Group, LLC, New York, USA.
70. Strickfaden, H., Cremer, T., Rippe, K. (2011). *Higher Order Chromatin Organization and Dynamics*. doi:10.1002/9783527639991.ch17
71. Sugawara, T. and Kimura, A. (2017), Physical properties of the chromosomes and implications for development. *Develop. Growth Differ.*, 59: 405-414. doi:10.1111/dgd.12363

72. Thillainathan, S., Sirisena, N. D., Kariyawasam, K. W., Jayasekara, R. W., & Dissanayake, V. H. 2015. Cytogenetic analysis of chromosomal abnormalities in Sri Lankan children. *World journal of pediatrics : WJP*, 11, 374–379.
73. Van Buggenhout, GJ, Pijkels, E, Holvoet, M, Schaap, C, Hamel, BC, Fryns, JP. 2000. Cri du chat syndrome: Changing phenotype in older patients. *Am J Med Genet* 90: 203– 215.
74. Watson, J. D., Crick, F. H. (2003). A structure for deoxyribose nucleic acid. 1953. *Nature*, 421(6921), 397–396.
75. Wellesley, D., Dolk, H., Boyd, P. A., Greenlees, R., Haeusler, M., Nelen, V., Garne, E., Khoshnood, B., Doray, B., Rissmann, A., Mullaney, C., Calzolari, E., Bakker, M., Salvador, J., Addor, M. C., Draper, E., Rankin, J., & Tucker, D. (2012). Rare chromosome abnormalities, prevalence and prenatal diagnosis rates from population-based congenital anomaly registers in Europe. *European journal of human genetics : EJHG*, 20(5), 521–526. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2011.246>
76. Wilkins, LE, Brown, JA, Wolf, B. 1980. Psychomotor development in 65 home-reared children with cri-du-chat syndrome. *J Pediatr* 97: 401– 405.
77. Wilkins, LE, Brown, JA, Nance, WE, Wolf, B. 1983. Clinical heterogeneity in 80 home-reared children with cri du chat syndrome. *J Pediatr* 102: 528– 533.
78. Wu, Q., Niebuhr, E., Yang, H., & Hansen, L. (2005). Determination of the 'critical region' for cat-like cry of Cri-du-chat syndrome and analysis of candidate genes by quantitative PCR. *European journal of human genetics : EJHG*, 13(4), 475–485. <https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5201345>
79. Yu D, Zhang K, Han M, Pan W, Chen Y, Wang Y, Jiao H, Duan L, Zhu Q, Song X, Hong Y, Chen C, Wang J, Hui F, Huang L, Chen C, Du Y. Noninvasive prenatal testing for fetal subchromosomal copy number variations and chromosomal aneuploidy by low-pass whole-genome sequencing. *Mol Genet Genomic Med*. 2019 Jun;7(6):e674. doi: 10.1002/mgg3.674. Epub 2019 Apr 19. PMID: 31004415; PMCID: PMC6565572.
80. Zhang, X., Snijders, A., Segraves, R., Zhang, X., Niebuhr, A., Albertson, D., Yang, H., Gray, J., Niebuhr, E., Bolund, L., & Pinkel, D. (2005). High-resolution mapping of genotype-phenotype relationships in cri du chat syndrome using array

- comparative genomic hybridization. *American journal of human genetics*, 76(2), 312–326. <https://doi.org/10.1086/427762>
81. Zhang, B., Willing, M., Grange, D. K., Shinawi, M., Manwaring, L., Vineyard, M., Kulkarni, S., & Cottrell, C. E. (2016). Multigenerational autosomal dominant inheritance of 5p chromosomal deletions. *American journal of medical genetics. Part A*, 170(3), 583–593. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.37445>
82. Zhao, N., Stoffel, A., Wang, P. W., Eisenbart, J. D., Espinosa, R., 3rd, Larson, R. A., & Le Beau, M. M. (1997). Molecular delineation of the smallest commonly deleted region of chromosome 5 in malignant myeloid diseases to 1-1.5 Mb and preparation of a PAC-based physical map. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(13), 6948–6953. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.13.6948>

16. Anexo 1

CARIOTIPO

16.1. CULTIVO CELULAR

Para el estudio cromosómico se debe realizar el cultivo un tejido del individuo donde las células crezcan y se dividan rápidamente. El tejido más accesible para ese fin es la sangre y las células que crecen son los linfocitos T; estos se encuentran en circulación en G₀, tienen un tiempo de división de 24 horas. La técnica comienza con la toma de una muestra de sangre periférica en un tubo con heparina de sodio como anticoagulante, esta es recomendable porque es donador de calcio y favorece la proliferación celular.

Se siembran alrededor de 10 gotas en un medio enriquecido y se incuba a 37°C durante 72 horas. La estimulación de la división celular se logra con la adición de un mitogénico (factores que estimulan la división celular, actúan como un antígeno) como es la fitohemaglutinina (PHA), es una lectina que se extrae de *Phaseolus vulgaris* su función es estimular a los linfocitos T cooperadores.

16.1.1. ¿CÓMO ACTÚA LA FITOHEMAGLUTININA EN LOS LINFOCITOS T?

Primero las células presentadoras de antígeno internalizan con la PHA, por fagocitosis o endocitosis, y a continuación exhiben una parte de la PHA en su membrana unido a una molécula de MHC (complejo mayor de histocompatibilidad) clase II. El linfocito T interactúa con el complejo de la PHA y la molécula de MHC clase II en la membrana de la célula presentadora de antígeno llamado macrófago, este a su vez produce una señal adicional que conduce a la activación de los linfocitos T. La estimulación de PHA en los linfocitos es de 5-17 horas después de la siembra, de ahí se dice que el cultivo es asincrónico. Las células se cultivan durante 72 horas tomando en cuenta que se han completado 3 ciclos, pasado un ciclo más (4 ciclos) hay errores en la división celular, provocando alteraciones cromosómicas tanto numéricas como

estructurales, debido a que se acortan los telómeros porque in vitro no hay actividad de telomerasa.

El medio de cultivo de rutina es RPMI 1640 pero existen otros como PB Max, Mc Coy Sa, MEM, son medios en suspensión. El RPMI 1640 es una solución que contiene glucosa como fuente de energía, sales para mantener la integridad celular, vitaminas que actúan como cofactores para la función enzimática, ácido fólico como precursor de aminoácidos, un indicador de pH como rojo fenol con un pH 7.2. L-Glutamina su función es sintetizar proteínas que aumenten la concentración de nitrógeno en la sangre, generando más ATP.

Por último, en la siembra se le puede adicionar antibióticos, los más comunes son la estreptomicina para Gram- (Inhiben la síntesis proteica actuando sobre la unidad 23S de los ribosomas) y penicilina para Gram+ (actúa en la pared celular de la bacteria) y Suero Fetal Bovino (SFB) que proporciona factores de crecimiento.

Pasado el tiempo de 72 horas, se agrega una solución de colchicina al medio para detener la división celular y evitar que las células completen la mitosis. La colchicina actúa inhibiendo la formación de los microtúbulos del huso mitótico y las células que alcanzan la metafase se acumulan en el cultivo. Los microtúbulos están constituidos por unidades de proteínas globulares llamadas tubulinas, estas moléculas están compuesta por monómeros de α -tubulina y β -tubulina. Cada uno de los monómeros se une para formar dímeros de tubulina y cada dímero se encuentra unido a una molécula de GTP (Trifosfato de guanósina).

Luego se agrega una solución hipotónica (KCl 0.075 M) que hace que las células se hinchen y los cromosomas se dispersen, las células pasan por una solución salina basándose en el transporte de agua a través del el transporte pasivo.

La velocidad de difusión es directamente proporcional a la temperatura, esto quiere decir que al aumentar la temperatura la cinética de las partículas aumenta, generando

mayor permeabilidad. La solución hipotónica actúa aumentando el volumen celular y disminuye la presión.

Por último, las células son fijadas con solución de Carnoy (metanol absoluto: ácido acético glacial, en una proporción 3:1, su función es lisar eritrocitos generando un color café en la sangre indicando la oxidación de la globulina y desnaturalizar las proteínas de la célula.

TÉCNICA CARIOTIPO CON BANDAS GTG EN SANGRE PERIFÉRICA EN EL HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

16.2. TOMA DE MUESTRA

16.2.1. MATERIAL

Jeringa 3 ml

Heparina de Sodio (1000UI/ML)

Solución antiséptica (etanol al 70%)

Torundas de algodón (humedecida en etanol 96%)

Gasas

Guantes desechables

16.2.2. EQUIPO

Campana flujo laminar

16.2.3. MÉTODO

Con guantes puestos tomar una gasa humedecida en solución antiséptica y limpiar la superficie de la campana, coloque el material a utilizar.

Prepare la jeringa dentro de la campana de flujo, limpie con torunda el tapón del frasco ampula de heparina, introduzca la aguja y succione el contenido, baje el embolo de la jeringa hasta el tope y regrese el contenido al mismo frasco, asegúrese de bañar la pared interna de la jeringa con heparina, deje 0.1 ml en el cuerpo de la jeringa al final.

Al terminar del proceso, tomar una gasa humedecida en solución antiséptica, limpiar la superficie de la campana. Esterilizar con luz ultravioleta por un periodo de 15 a 30 minutos.

Limpie con una torunda de algodón el área donde se tomará la muestra.

La muestra debe ser tomada por técnica cerrada; por venopunción o por catéter, pues será sujeta a cultivo celular por lo que no puede ser por goteo, en caso de ser tomada por catéter éste debe ser lavado previamente.

Tomar 2 ml de sangre periférica para el estudio (mínimo requerido 1 ml), etiquetar la jeringa con el número de registro asignado por el laboratorio (número consecutivo de registro de recepción de muestras por el laboratorio, seguido por un punto y el número 1, si es la primera vez que se le toma muestra al paciente o número 2 o 3, etc. Si es repetición del estudio, seguido por un guion y el año en que se toma la muestra), y las iniciales del nombre del paciente.

Al término de la toma se re-encapucha la aguja y se introduce en la camisa donde viene originalmente la jeringa, poner el número de control en ella con plumón indeleble y cerrar el empaque con grapas; una a cada lado del émbolo. Engrapado la muestra con la solicitud del estudio, el consentimiento informado y la copia (amarilla) del recibo de pago, toda la documentación será marcada con el número asignado a la muestra en la esquina superior derecha indeleble.

Al término de la toma de muestra entregar al laboratorio para continuar con el procedimiento no. 2.

16.3. MÉTODO DE CULTIVO DE SANGRE

16.3.1. MATERIAL

Medio de cultivo suplementado, especial para cariotipo (PB Max)

Tubos de ensayo de 15 ml estériles desechables de polipropileno

Guantes estériles

Gasas

Jeringa estéril de 20 ml

Aguja amarilla (20x32)

Cinta adhesiva

Marcador indeleble

16.3.2. EQUIPO

Campana de flujo laminar

Incubadora

16.3.3. MÉTODO

Todo el proceso se realiza con guantes estériles y en la campana de flujo laminar

- En vaso de precipitados colocar agua corriente, e introducir el frasco con medio de cultivo, ya descongelado agitar suavemente sin crear burbujas, verificar que el medio de cultivo esté homogéneo y no tengo precipitado.
- Preparar dos tubos por cada muestra, rotularlos con las letras A y B, con el número de registro asignado a la muestra, los datos se marcarán de la siguiente manera.
- En la tapa de cada tubo se coloca la letra y el número del cultivo.
- En el cuerpo del tubo se coloca un fragmento de cinta adhesiva con el número completo de la muestra, las iniciales del paciente y la letra correspondiente a cada tubo.
- Limpiar el frasco con gasa impregnado con solución antiséptica y retirar el sello de la seguridad, limpie nuevamente con solución antiséptica.
- Retire la envoltura de la jeringa (20ml) y jale suavemente el medio sin crear burbujas.
- En cada tubo colocar 5 ml de medio de cultivo. Procedimiento: deslice el medio por la pared del tubo sin crear burbujas, tape inmediatamente el tubo. Realizar todas las alícuotas del medio en una sola exhibición, las alícuotas no utilizadas guardarlas en congelación (-20°C).

- Tomar la muestra, agitar suavemente, ya homogénea retire la aguja con todo y capuchón.
- Desechar la primera gota en una gasa.
- Inocular en cada tubo 12 a 16 gotas de la muestra
- Tape inmediatamente y agite suavemente para homogenizar
- Introduzca los tubos en la incubadora
- Incubar los cultivos 37 °C por un periodo de 72 horas.

16.4. COSECHA

16.4.1. MATERIAL

Solución trabajo de colchicina (0.02%)

Solución hipotónica de Cloruro de potasio (KCL) 0.075M

Solución Carnoy (fijador)

Vasos precipitados

Micropipeta

Puntas para micropipeta

Pipeta de transferencia

16.4.2. EQUIPO

Campana de flujo laminar

Centrifuga

Incubadora

Refrigerar

Vortex (agitador)

Cronómetro

16.4.3. MÉTODO

- Sacar los tubos de la incubadora, agregar 20 µl de la solución trabajo de colchicina.
- Incubar nuevamente por 25 minutos
- Calentar la solución hipotónica a 37°C (en incubadora)

- Al término del tiempo de exposición centrifugar 10 minutos a 2500 rpm
- Remover el sobrenadante, con pipeta de transferencia, dejar un poco del líquido sobre el botón celular
- Re suspender el botón celular en el vórtex
- Adicionar lentamente y con agitación 1-2 ml de solución hipotónica (a 37°C)
- Fuera del vórtex llevar el volumen a 10 ml
- Agitar para homogenizar
- Incubar por 20 minutos
- Elaborar la solución de Carnoy (fijador) y refrigerar
- Al término del tiempo de exposición, sacar los tubos de la incubadora
- Agregar 1 ml de fijador a cada tubo
- Agitar suavemente hasta obtener un viraje en la suspensión, de color rojo vivo a un marrón oscuro (para el proceso anterior)
- Centrifugar 10 minutos a 2500 rpm
- Remover el sobrenadante, con pipeta de transferencia
- Re suspender el botón celular, adicionar lentamente y con agitación constante 1 ml de solución fijadora (recién preparada y fría)
- Fuera del vórtex llevar el volumen a 8 ml
- Agitar para homogenizar
- Centrifugar 10 minutos a 2500 rpm
- Remover el sobrenadante y adicionar con agitación constante a 8 ml de solución fijadora
- Repetir los pasos hasta obtener una de dos condiciones:
 1. Botón celular blanco
 2. Sobrenadante transparente
- Realice inmediatamente el siguiente procedimiento

16.5. REVISIÓN Y EXTENDIDO DEL CULTIVO CELULAR

16.5.1. MATERIAL

Portaobjetos

Agua fría

Alcohol etílico al 96%

Pipetas

Lápiz punta diamante (carburo tungsteno)

Pinzas punta roma

Vaso precipitados

16.5.2. EQUIPO

Centrifuga

Vórtex

Microscopio

Estufa a 60°C

16.5.3. MÉTODO

- Los portaobjetos son previamente tratados con extrán, enjuagados con agua destilada y preservados en alcohol en refrigeración
- Poner los portaobjetos en un vaso de precipitados llevar el volumen del vaso a $\frac{3}{4}$ con agua fría
- Retirar el sobrenadante de los tubos (a revisión) con pipeta de transferencia dejar un poco de sobrenadante.
- Re suspender el botón celular y agregar solución de Carnoy (fresco y frío) a un volumen de 1 ml.
- Tomar un portaobjeto y quitar el excedente de líquido, gotear de 3 a 4 gotas del cultivo en suspensión.
- Dejar las laminillas
- Rotular con el lápiz diamante el número de la muestra y el tubo de cultivo del cual se obtuvo el extendido celular.
- Observar al microscopio.
- Evaluar la calidad y la cantidad de más metafases.
- Anotar en la bitácora de goteo si hubo crecimiento, si es escaso o no lo hay
- De la revisión del cultivo, se obtiene el número de laminillas por un tubo y el total por cultivo para realizar el siguiente procedimiento.

- Madurar las laminillas a 60°C por un día.

16.6. BANDAS G.T.G.

16.6.1. MATERIAL

Solución buffer de fosfatos pH 7.4

Solución buffer de fosfatos pH 6.8

Tripsina (solución trabajo)

Colorante Wrigth

Colorante Giemsa

Cubreobjetos

Gasas

Guantes

Vasos Copplin

Vaso de precipitados

Pipeta graduada

Probeta graduada

Pipeta de transferencia

Pipeta Pasteur

Entellán

16.6.2. EQUIPO

Cronómetro

Microscopio

Pinzas punta roma

16.6.3. MÉTODO

Preparar en tren: 4 vasos Copplin y 1 vaso de precipitados cada una de las siguientes soluciones:

1. 49 ml de la solución buffer pH 7.4 y 1 ml de tripsina
2. Solución buffer pH 7.4
3. 48 ml solución buffer pH6.8 y 2 ml de colorante Wrigth

4. 48 ml de solución buffer pH6.8 y 2 ml de colorante Giemsa
 5. Vaso de precipitados con agua corriente
- Sumergir de 10-30 segundos una laminilla en el primer Copplin (digestión)
 - Sacar la laminilla al término del tiempo y enjuagarla en el segundo copplin (para actividad)
 - Sumergir la laminilla en el siguiente copplin 2 minutos (tinción con Wright)
 - Sumergir la laminilla en el siguiente copplin 2 minutos (tinción con Giemsa)
 - Sumergir y enjuagar la laminilla en el vaso de precipitados
 - Secar
 - Montar inmediatamente con 3 gotas de entellán y cubreobjetos
 - Revisar la calidad de las bandas
 - Dejar secar a temperatura ambiente.

17. Anexo 2

MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA EL ESTUDIO DE FISH

17.1. TÉCNICAS DE SIEMBRA Y COSECHA DEL MATERIAL A HIBRIDAR

La técnica utilizada en el laboratorio para la obtención del material biológico es la misma ya sea para técnica de citogenética clásica y molecular. (Ver el manual para el estudio de cariotipo, procedimientos 1, 2 y 3).

17.2. ELABORACIÓN DE LAMINILLAS

Se realiza un concentrado de la muestra obtenida en fijador Camoy a base de ácido acético y metanol 1:3, hasta que se encuentre libre de detritos para evitar ruido de fondo, esto depende de cada muestra en particular y se formará el criterio de cuando la muestra ya no requiere de lavados con el fijador y cual sea la densidad celular requerida para un buen diagnóstico.

Se deja caer una gota en el portaobjetos previamente desengrasado en alcohol de 70% y con un paño limpio que no suelte se seca, se marca la laminilla con el número correspondiente al caso en cuestión y con un lápiz diamante se delimita la zona que se va a hibridar calculando que se usará un área de 18 por 18 mm. Se dejan secar y se observa al microscopio en contraste de fases.

El criterio por seguir es un material limpio cuyas células no se encuentren encimadas, pues esto va a dar una errónea observación de la marca asimismo cuidando que no existan detritos que también interfieren a la observación.

17.3. CO-HIBRIDACIÓN

Posteriormente se colocan 5 µl de la sonda en un cubreobjeto de 18X18 mm y se hace coincidir la zona marcada con la sonda, en este paso debe uno de ser muy cuidadoso de ponerlo encima del material a hibridar. Más adelante se notifica la forma de hacer la mezcla de la sonda tomando en cuenta que marca de sonda tiene su fórmula diferente.

Se sella con un pegamento llamado Iris cuyas características son adecuadas para que no se deseque el material y sea fácil de retirarlo, poniendo cuidado de que toda la orilla del cubre objeto quede perfectamente sellada.

Se coloca en el Hybrite el cual cuenta con programas adecuados en cuanto a temperaturas y tiempos de hibridación. Los tiempos con los que se trabaja de $750\text{C} \pm 1$ por 5 minutos e inmediatamente se ajusta la temperatura de 370C . El tiempo de hibridación de 48 horas.

17.4. LAVADOS POST-HIBRIDACIÓN

Se saca la lámina de la cámara de hibridación y se retira el pegamento con mucha precaución, teniendo en cuenta que el cubreobjetos no debe moverse, este es muy delicado, porque el material puede maltratarse con el simple movimiento del cubreobjetos, posteriormente se sumerge la lámina en un vaso de coplin con 2XSSC a temperatura ambiente. Esto es con el fin de que solo el cubreobjetos.

Inmediatamente se sumerge la lámina en un coplin que contiene un detergente llamado NP40, con el fin de evitar uniones inespecíficas de la marca.

Esta solución debe encontrarse a $700\text{C} \pm 1$ y su concentración es 0.4XSSC/0.3% NP40 (también se puede utilizar el TWEEN en la misma proporción) durante 5 minutos, agitando de vez en cuando para aumentar el efecto por la misma acción mecánica.

Posteriormente se saca y se sumerge en otro vaso de coplin conteniendo el mismo detergente ya sea NP40 (Nonidet) o TWEEN, pero ahora una concentración de 2XSSC/0.1%, también durante 5 minutos.

El paso siguiente consiste en sumergir la lámina en agua destilada y agitar un poco, para quitar el residuo del detergente. Se saca del agua y se coloca vertical para que drene y se seque.

17.5. CONTRA TINCIÓN

Este paso tiene por objeto teñir el DNA de un color azul con excepción de las secuencias que se encuentran con la sonda y proporcionar un mayor contraste para dar una mejor lectura de la marca. Se realiza con DAPI II y ANTIFADE en una proporción de 1:1.

Se colocan sobre el cubreobjetos 5 µl de esta mezcla y se procede a empalmar con el área del material hibridado. Se deja un tiempo mínimo de 10 minutos para que la contra tinción penetre y la observación pueda realizarse de una manera adecuada.

17.6. OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO

Para esta técnica es necesario contar con un microscopio de esto es una fuente de luz ultravioleta que incida por arriba del objeto para que el fluorocromo de la sonda sea excitado por dicho rayo y pueda observarse.

El documento correspondiente a esta interpretación se encuentra en el Sistema Internacional de 2005. Se debe de la bibliografía, se encuentran los criterios a los nos normamos para diagnosticar, y reportar los hallazgos.

17.7. PREPARACIÓN DE REACTIVOS

17.7.1. PREPARACIÓN DE LA SONDA

Mezclar con Vórtex y luego centrifugar la sonda sola, con el fin de coleccionarla en el fondo del tubo. En un tubo tipo ependorff mezclar la sonda con su buffer.

Nótese que cada sonda tiene un número de catálogo según la marca que se maneje y el tipo de sonda que sea. Vysis presenta los buffer para cada sonda tanto LSI, CEP, WCP, TEL, contienen sulfato dextran, formamida y SSC (PH 7).

Para lámina:

0.5 µl de sonda

1 µl de agua filtrada

3 µl de buffer

de hibridación

Posteriormente mezclar de nuevo, pero ahora la mezcla en el Vórtex y centrifugar un pulso en la micro centrifuga alcanzando hasta 4000 rpm.

A. 20 XSSC, marca Vysis N° 32-804850 (500 g)

20 X SSC - 132 g

Aforar a 500 ml con agua pura, guardar a temperatura ambiente.

B. Solución 2 X SSC

20 X SSC - 100 ml

Aforar a 1000 ml con agua pura, ajustar pH a 7.0 ± 0.2

C. Solución de lavado 0.2 X SSC/O.1% NP40

20 X SSC - 100 ml

NP40 - 1 ml

Agitar con mosca magnética a lograr homogenización

Aforar a 1000 ml con agua pura, ajustar pH a 7.0 ± 0.2

Almacenar a temperatura ambiente.

D. Solución de Invado 0.4 X SSC/0.3% NP40

20 XSSC - 20 ml

NP40 - 3 ml

Agitar con mosca magnética a lograr homogenización

Aforar a 1000 ml con agua pura, ajustar pH a 7.0 a 7.5

Almacenar a temperatura ambiente.

E. DAPI II

Utilizamos de la marca Vysis N° 32- 804831

2 X 500 μ l 8125 ng/ml

Antifade.

Utilizamos de la marca Vysis N° 32-804029

240 μ l x 2

Consta de 1,4, fenildiamina y glicerol en solución acuosa buffer.

Es recomendable trabajar con las sondas en un lugar de poca luz para que el fluorocromo no pierda su brillantez, y las sondas se guardan a bajas temperaturas de 4 a 6 °C las de uso y almacenadas a -20 °C.

Se utiliza formamida a temperatura de 75 °C o bien puede realizarse la cohibridación por medio de un Hybrite. En nuestro laboratorio, llevamos a cabo la cohibridación en una plancha de metal cuya temperatura es controlada a través de un termómetro.

18. Anexo 3

 **Hospital Infantil de México Federico Gómez**
Instituto Nacional de Salud
Departamento de Genética
Solicitud de estudios citogenéticos 

No. de cariotipo _____

Urgente SI No

Nombre: _____ Registro: _____

Edad: _____ Fecha de nacimiento: _____ Sexo: M F Indeterminado

Fecha de solicitud: _____ Estudio citogenético previo (Si) (No) Número: _____

Consulta externa Hospitalización Servicio: _____ Cama: _____

Indicación del cariotipo

<input type="checkbox"/> Defecto mayor*	<input type="checkbox"/> Infertilidad	<input type="checkbox"/> Trisomía 21
<input type="checkbox"/> Abordaje familiar*	<input type="checkbox"/> Abortos recurrentes No. _____	<input type="checkbox"/> Síndrome de Turner
<input type="checkbox"/> Genitales ambiguos*	<input type="checkbox"/> Anomalías congénitas múltiples*	<input type="checkbox"/> Síndrome de Klinefelter
<input type="checkbox"/> Discapacidad intelectual		<input type="checkbox"/> Otra alteración Cromosómica
<input type="checkbox"/> Otros: _____		

Diagnóstico clínico

Tipo de estudio: Cariotipo cGh-array FISH (Especifique) _____ Fragilidad cromosómica

Origen de la muestra: Sangre periférica Médula ósea Fibroblastos Otro: - _____

Observaciones:

MP2110-186-02

Situación del paciente

¿Está recibiendo quimioterapia? (SI) (No) Especifique: _____	
Fecha de última quimioterapia: _____	
¿Esta recibiendo antibiótico? (SI) (No) Especifique: _____	
<input type="checkbox"/> Sepsis	<input type="checkbox"/> Fiebre
¿ Ha recibido transfusiones sanguíneas? (SI) (No) Fecha de última transfusión: _____	
<input type="checkbox"/> Sangre total	<input type="checkbox"/> Concentrado plaquetario
<input type="checkbox"/> Concentrado eritrocitario	<input type="checkbox"/> Crioprecipitado
<input type="checkbox"/> Plasma fresco congelado	

Médico solicitante (Residente de Genética): _____

Autorizado por (médico adscrito a Genética): _____

Indicaciones para El paciente

<p>1.- No es necesario que el paciente venga en ayuno.</p> <p>2.- Acuda puntualmente a su cita el día: _____ a las 9:45 de la mañana en el consultorio A de Genética.</p> <p>3.- En caso de fuerza mayor (incluyendo fiebre o ingesta de antibióticos) y no poder acudir, avisar por teléfono para reprogramar su cita.</p> <p>4.- El día de la toma se presentará con recibo de pago en mano, el cual deberá pagarse previamente en la caja.</p> <p>Número de teléfono de la institución: 52 28 99 17 Ext. 2153 / 2037</p>

Dirección del paciente:

Teléfono: _____

MP2110-186-02



**FORMATO DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACION
HIM-LC-RC-PR.01-RE.01**

CUBICULO No. FECHA / /
NOMBRE DEL PACIENTE _____ **Sexo** M F **Edad** _____ AÑOS

PROCEDIMIENTO PROPUESTO Y EXPLICACION DEL MISMO:

Toma de muestra SANGUINEA ORINA MATERIA FECAL OTRO (explique) _____

Beneficios : DIAGNOSTICO OPORTUNO DE PADECIMIENTO Y/O SEGUIMIENTO AL TRATAMIENTO

Riesgos y complicaciones: MINIMOS (mareos, vomito o hemaloma en la zona de punción), SI SE PRESENTA ALGUNA CONTAMOS CON PERSONAL CAPACITADO EN ATENDER LA URGENCIA. EL MATERIAL ES NUEVO, ESTERIL Y DESECHABLE.

YO _____ **de** _____ años de edad. Reconozco que se me explicó y entendí el procedimiento para realizar los exámenes, estoy enterado de los beneficios, sé de los riesgos y las probables complicaciones que se me pueden presentar. Consciente de que se busca un beneficio, doy mi consentimiento sin obligación y por decisión propia para que los exámenes se efectúen así mismo para realizar la atención de contingencias y urgencias derivadas del acto autorizado, con base al principio de libertad prescripta.

FIRMA DEL PACIENTE O SU REPRESENTANTE LEGAL _____

TESTIGO FAMILIAR (Nombre y Firma) _____

TESTIGO SUPERVISOR (Nombre y Firma) _____

NOMBRE Y FIRMA DEL FLEBOTOMISTA _____

Este consentimiento deberá llenarse para todo procedimiento de Toma de Muestras en el Laboratorio a realizarse en todo paciente sin excepción alguna. El responsable de recabarlo es quien vaya a realizar el mismo. Esta carta es renovable mientras no se concluya el procedimiento y no obligará al Químico, Técnico o Médico a realizar u omitir un procedimiento cuando ello entrañe un riesgo hacia el paciente. La muestra podrá ser utilizada para fines de investigación.

REFERENCIA: LEY GENERAL DE SALUD cap. IV. Art. 80,81,82, y 83. NOM-007-SSA3-2011.