



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E
INVESTIGACIÓN
SECRETARÍA DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA**

**REPORTE DE OCHO PACIENTES CON RETRASO GLOBAL
DEL NEURODESARROLLO O DISCAPACIDAD
INTELLECTUAL CON ALTERACIONES CROMOSÓMICAS
DETECTADAS MEDIANTE MICROARREGLOS**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
ESPECIALISTA EN GENÉTICA MÉDICA**

**PRESENTA:
DR. MIGUEL RODRÍGUEZ MORALES**

**TUTOR:
DRA. EMIY YOKOYAMA REBOLLAR**

**CO-TUTOR:
DRA. VICTORIA DEL CASTILLO RUÍZ**

**ASESORES:
DRA. PATRICIA CRAVIOTO QUINTANA
FIS. MAT. FERNANDO GALVÁN CASTILLO**

2022

CIUDAD DE MÉXICO, 2022



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.

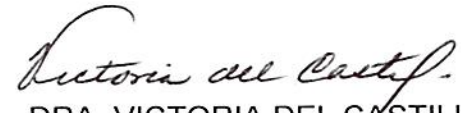
**“REPORTE DE OCHO PACIENTES CON RETRASO GLOBAL DEL
NEURODESARROLLO O DISCAPACIDAD INTELECTUAL CON
ALTERACIONES CROMOSÓMICAS DETECTADAS MEDIANTE
MICROARREGLOS”**



**DR. JOSÉ NICOLÁS REYNÉS MANZUR
DIRECTOR DE ENSEÑANZA**





**DR. MANUEL ENRIQUE FLORES LANDERO
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PRE Y POSGRADO**



**DRA. VICTORIA DEL CASTILLO RUÍZ
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE LA ESPECIALIDAD EN GENÉTICA
MÉDICA
COTUTORA DE TESIS**



**DRA. EMIY YOKOYAMA REBOLLAR
TUTOR DE TESIS**



**DRA. PATRICIA CRAVIOTO QUINTANA
FIS. MAT. FERNANDO GALVÁN CASTILLO
ASESORES METODOLÓGICOS**

ÍNDICE

1.- ANTECEDENTES	
1.1 Discapacidad Intelectual	
1.1.1 Generalidades.....	5
1.1.2 Causas de Discapacidad Intelectual.....	6
1.2 Defectos congénitos	
1.2.1 Generalidades.....	8
1.2.2 Causas de las malformaciones congénitas	9
1.3 Diagnóstico molecular	
1.3.1 De la citogenética convencional a la citogenética molecular.....	11
1.3.2 Hibridación Genómica Comparativa.....	11
1.3.3 Polimorfismos de nucleótido único.....	12
1.4 Impacto clínico de las plataformas de microarreglos	
2.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	15
3.- JUSTIFICACIÓN.....	16
4.- OBJETIVOS	
4.1 General.....	17
4.2 Específicos.....	17
5.- METODOLOGÍA	
5.1 Clasificación de la investigación.....	17
5.2 Universo de estudio	18
5.3 Criterios de inclusión.....	18
5.4 Criterios de exclusión.....	18
5.5 Explicación general de la investigación.....	18
6.- TAMAÑO DE LA MUESTRA.....	28
7.- ANALISIS ESTADISTICO.....	29
8.- RESULTADOS.....	31
9.- DISCUSIÓN.....	39
10.- CONCLUSIONES.....	47
11.- BIBLIOGRAFIA.....	48

1.- ANTECEDENTES

1.1 Discapacidad Intelectual

1.1.1 Generalidades

Actualmente el término retraso mental se reemplazó por discapacidad intelectual (DI), cuya frecuencia oscila entre el 1 y 3% de la población general (1)(2). De acuerdo al meta-análisis publicado por Maulik y colaboradores en 2011, donde se incluyeron datos de 52 estudios provenientes de 42 países se estimó una tasa de DI de 10.3 por cada 1,000 personas (3). En México, cifras del INEGI en el año 2014 colocan a la DI en el 6º lugar y dentro de las principales causas de discapacidad con 2 millones de personas menores de 18 años afectadas (4).

La DI es un trastorno de las funciones intelectuales, y del comportamiento adaptativo cuyo inicio comprende desde el período de neurodesarrollo hasta antes de los 18 años; esta definición es de acuerdo al manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales, quinta edición por sus siglas en inglés DSM-5 (5). El retraso global en el neurodesarrollo (RGND) es el término empleado para describir en niños menores de 6 años un retraso de más de 2 desviaciones estándar (DS) en 2 o más áreas del neurodesarrollo (6), las cuales incluyen el funcionamiento intelectual, comportamiento adaptativo en los dominios conceptual social y práctico (7)

Las funciones intelectuales se refieren a las capacidades mentales generales tales como el aprendizaje académico, razonamiento, solución de problemas, planificación, pensamiento abstracto, juicio y el aprendizaje a partir de experiencias (1). Una forma de medir las funciones intelectuales es a través de la cuantificación del coeficiente intelectual (CI) cuyo rango en la población general es de 100, una puntuación menor a 70 indica un déficit en las funciones intelectuales.

Como parte de la atención de la salud en la niñez la Academia Americana de Pediatría recomienda la vigilancia a los 9, 18, 24 o 30 meses con el uso de instrumentos tales como: "Pediatric Evaluation of Developmental Skills", y el

“Denver Developmental Screening Test-II” los cuales evalúan las habilidades cognitivas a través de la ganancia de los hitos del neurodesarrollo en las cuatro esferas: motor grueso, motor fino, lenguaje y social adaptativo (5)

El comportamiento adaptativo es la colección de habilidades conceptuales, sociales y prácticas que implican la capacidad de llevar a cabo actividades de la vida diaria (1), el fracaso del cumplimiento de los estándares del desarrollo y socioculturales para la autonomía personal y responsabilidad social; la DI se cumple cuando al menos un dominio del funcionamiento adaptativo (conceptual, social o práctico) se ve afectado en tal medida que se necesita apoyo.(7) (8)

Los niveles de severidad de la DI se clasifican en cuatro grados de acuerdo con el nivel de CI en leve 70-55, moderada 40-55, severa 25-40 y profunda menor a 25 (5), cuya frecuencia de presentación varía desde 85%, 10%, 4% y 2% respectivamente (3). Las características de la **DI leve** son: dificultades escolares, comportamiento social inmaduro con respecto a otros niños de su misma edad, el cuidado personal se encuentra preservado; **moderada**: dificultades en el aprendizaje y lenguaje que inician desde la etapa preescolar, pueden realizar conductas básicas del cuidado personal como vestirse, control de esfínteres o comer de manera independiente; **severa**: limitada capacidad para comprender lenguaje escrito conceptos numéricos, necesidad de amplio apoyo de cuidadores; **profunda**: limitada capacidad de entendimiento no siguen instrucciones básicas, cuidado dependiente completamente por cuidador (7)(5).

1.1.2 Causas de Discapacidad Intelectual.

De acuerdo a la etiología la DI se puede clasificar en causas no genéticas y causas genéticas (9). Tomando en cuenta el primer grupo, dentro de las *causas no genéticas* se consideran a los factores ambientales que influyen en el neurodesarrollo como principales causantes, los cuales dependiendo del momento en que se presenten se pueden clasificar en prenatales, perinatales y postnatales (10)(11). Dentro de las causas **prenatales** se pueden identificar a los teratógenos

como radiación, infección materna (toxoplasma, rubeola, citomegalovirus, herpes, sífilis), exposición a drogas (alcohol, marihuana, cocaína) y agentes químicos, así como las enfermedades maternas y la disfunción placentaria; con respecto a las causas **perinatales** la prematuridad e hipoxia prenatal; y dentro de las causas **posnatales** al traumatismo craneoencefálico, infecciones como meningoencefalitis, toxinas como el plomo, desnutrición, abuso infantil y ausencia de estímulos (9). Se considera que en países industrializados estas causas han ido en decremento gracias a los sistemas de políticas en salud y ocupa el 17% de las causas de DI (10)(5).

En cuanto a factores *genéticos*, estos representan del 30 al 50% de las causas de DI, específicamente del 0.3% de la DI leve, 1-3% moderada y del 20 a 50% de la DI severa (12). De acuerdo con la base de datos en línea de Herencia Mendeliana en el Hombre por sus siglas en inglés OMIM (*Online Mendelian Inheritance in Man*), se enlistan más de 8,000 entidades de causa genética que cursan con DI. Estas causas se pueden dividir en monogénicas y cromosómicas (1).

De acuerdo al OMIM, dentro de las causas genéticas de la DI de origen monogénico (40%)(1), el 51% presentan un patrón de herencia autosómico recesivo (**AR**), 43% autosómico dominante (**AD**) y 6% ligada al cromosoma X (**LX**), alrededor de 700 genes se han asociado con DI algunos de los genes más frecuentemente identificados con variantes patogénicas (VP) son: *SETD5*, *ADNP*, *ARID1B*, *GRIN2B*, *SCN2A*, *CHD7*, *KAT6B*, *TCF4* con patrón de herencia **AD** y *ATRX*, *CUL4B*, *IL1RAPL1*, *PQBP1* con patrón de herencia **LX** (13)(14).

Las causas de origen cromosómico representan el 20%, las cuales pueden ser aneuploidías como síndrome de Down (trisomía 21), principal causa de DI de origen genético, trisomía 18, trisomía 13, trisomía 8 en mosaico (9), así como deleciones o inserciones > 500 pb, también denominadas variantes en el número de copias por sus siglas en inglés CNV (*copy number variants*) (15). Hasta el momento, 130 CNVs

se han asociado con DI, de las cuales 43% corresponden a deleciones, 37% duplicaciones y 18% deleciones-duplicaciones (16).

Con respecto a la DI asociada a síndromes por microdeleciones y/o microduplicaciones, existen fenotipos que clínicamente son reconocibles, algunos de los ejemplos comprenden al síndrome de Williams (delección 7q11), Prader-Willi y Angelman (delección 15q11-q13), velocardiofacial (delección 22q11), Smith-Magenis (delección 17p11), Potocki-Lupski (duplicación 17p11) (1)(5)(9). Algunos de los síndromes causados por CNVs presentan un gran espectro de características clínicas incluyendo, malformaciones congénitas, síntomas neurológicos, alteraciones del comportamiento (17).

1.2 Defectos congénitos

1.2.1 Generalidades

Los defectos de nacimiento también conocidos como defectos congénitos (DC), son un grupo importante de alteraciones cuya frecuencia se estima en 2 a 4% de los recién nacidos vivos; en México, de acuerdo a las cifras del INEGI durante el 2010 y 2017, ocuparon la segunda causa de muerte infantil (18). Los DC por su naturaleza son de inicio prenatal y es a través de una historia clínica completa y exploración física adecuada que permite identificarlos, de esta forma se considera que el 3% de los DC son diagnosticados al nacimiento y durante el transcurso de la vida se pueden diagnosticar hasta en 12%(19).

Los DC por su presentación se pueden especificar en únicos y múltiples. Los defectos únicos se clasifican en malformación, deformación, disrupción y displasia; así como los defectos múltiples en síndrome, secuencia, asociación, espectro y defecto del campo del desarrollo (20). Se define malformación congénita (MC) como un error primario en la morfogénesis, las cuales se pueden dividir en **mayores** cuando se compromete la vida y/o la función y **menores** cuando su repercusión es solo estética. Las MC menores se presentan hasta en un 15% de los recién nacidos

vivos; si el recién nacido solo presenta una MC existe solo un 3% de probabilidad de que se presente una MC mayor, sin embargo, si se presentan tres o más MC menores en un mismo paciente existe un 90% de asociarse con una MC mayor; de tal forma que en la exploración física de un recién nacido con múltiples MC menores, se deberá buscar intencionadamente malformaciones congénitas mayores (19). El resto de las definiciones de DC únicos y múltiples se enlista en la Tabla 1 y 2 respectivamente (20)(21).

Tabla 1.- Definiciones de DC únicos

DC único	Definición
Malformación	Defecto morfológico de un órgano, parte de un órgano o una región más grande del cuerpo como resultado de un proceso de desarrollo intrínsecamente anormal.
Deformación	Defecto morfológico de un órgano, parte de un órgano o una región más grande del cuerpo como resultado de una interferencia extrínseca en un proceso del desarrollo originalmente normal.
Disrupción	Forma o posición anormal de una parte del cuerpo causadas por fuerzas mecánicas.
Displasia	Organización anormal de las células en tejido (s) y sus resultados morfológicos.

1.1.1 Causas de las malformaciones congénitas

De acuerdo a su etiología las MC se pueden dividir en 3 grupos **causas primarias** 1) origen monogénico, 2) aberraciones cromosómicas, y 3) multifactorial, como **causas secundarias** 1) teratógenos, y una **tercera** causa desconocida (22)(23); hasta la fecha, se considera que ésta última es responsable del 69% de las MC (24), y las causas multifactoriales representan el 20-25%. Una sub-clasificación de la etiología las organiza en el momento en que ocurre el evento pre-génesis (gonadogénesis y gametogénesis), blastogénesis (primeras cuatro semanas de la embriogénesis), organogénesis (a partir de la quinta semana de gestación) y fenogénesis (a partir del periodo fetal) (23).

Tabla 2.- Definiciones de DC múltiples

DC Múltiples	definición
Síndrome	Patrón de anomalías múltiples relacionadas con una etiología común que puede ser cromosómica, monogénica o teratogénica
Asociación	Cascada de sucesos secundarios a una alteración primaria resultante de cualquiera de los defectos únicos.
Secuencia	Comprende entidades con múltiples anomalías que muestran gran variación clínica
Defecto del campo del desarrollo	Alteración en la unidad embrionaria en la que el desarrollo de estructuras complejas a partir de las sencillas
Espectro	Ocurrencia no aleatoria de múltiples malformaciones que presentan gran variabilidad en el grado de expresión

2.1 Diagnóstico molecular

Las herramientas de diagnóstico genético han evolucionado rápidamente en las últimas dos décadas dando como resultado el aumento de las tasas diagnósticas de numerosas enfermedades genéticas. El núcleo de las tecnologías de los laboratorios de diagnóstico molecular ha evolucionado desde el cariotipo y secuenciación Sanger a microarreglos cromosómicos (MAC) y secuenciación de nueva generación (SNG) que incluye (exoma clínico, exoma completo y genoma completo) (25).

Como resultado, el alcance de las mutaciones identificables ahora varía desde cambios en la cantidad de un locus genómico en particular, como la pérdida o ganancia de cromosomas completos, es decir, aneuploidías o regiones más pequeñas de ADN, que también se conocen como variantes de número de copias (CNV), hasta cambios en la estructura del genoma como: inversiones, inserciones; e incluso, cambios en la secuencia del genoma, ya sea variantes de un solo nucleótido (VNS) e inserciones/deleciones cortas (25).

2.1.1 De la citogenética convencional a la citogenética molecular.

El análisis de los cromosomas o cariotipo ha sido utilizado con éxito en los últimos 50 años, lo que ha permitido descubrir las causas cromosómicas en pacientes con RGND/DI, dismorfias faciales y MC, sin embargo, el nivel de resolución de un cariotipo convencional, es decir de 500 a 550 bandas de resolución, permite detectar alteraciones mayores a 5 millones de pares de bases (5Mb). Posteriormente, el uso de sondas para realizar fluorescencia por hibridación *in situ* (FISH) permitió la identificación y localización de ganancias o pérdidas submicroscópicas de material genético de tan solo unas miles de bases (Kb), típicamente de 40 a 250 Kb (13)(26), o incluso del tamaño de un gen, mejorando el rendimiento diagnóstico en pacientes con las características previamente descritas del cariotipo convencional que oscila en un 5% a 10% con el uso del FISH (27).

Los microarreglos cromosómicos (MCA) de DNA fueron introducidos desde la década de 1990 y la aplicación de esta tecnología permitió entender las diferencias de el transcriptoma en muestras de cáncer comparadas con tejido sin neoplasia. Hoy en día la utilidad de los MCA no solo permite identificar cambios en la expresión de genes, sino también detectan diversas alteraciones genéticas como CNV que pueden ser duplicaciones, inserciones, deleciones, SNV repetidos, y alteraciones en el patrón de metilación (28).

2.1.2 Hibridación Genómica Comparativa

Sabina Solinas Toldo en 1997 y Daniel Pinkel en 1998 utilizaron la hibridación genómica comparativa (HGC), mediante la realización de un solo experimento el cual consistió en el etiquetado diferencial con fluorescencia típicamente Cianina 3 y Cianina 5 de material genético (DNA de referencia) de un individuo sin patología y material genético (DNA de un probando) de un individuo con patología; los cuales cohibridarían competitivamente en una metafase ubicada en un soporte sólido con cromosomas normales. La relación resultante de intensidades de fluorescencia

ubicada en el “mapa citogenético” permitió identificar las CNV mayores a 20 Kb (29)(30).

La propagación en metafase fue reemplazada por microarreglos basados en CGH (Hibridación Genómica Comparativa) de DNA clonados mediante cromosomas bacterianos BAC o P1 PAC (del inglés *bacterial or P1 artificial chromosome*) inmovilizados en sobre una superficie de vidrio (31). A partir del 2004, los microarreglos-CGH fueron implementados como una herramienta diagnóstica por el colegio de medicina de Baylor, esta tecnología contenía una cobertura para 40 síndromes conocidos y 41 regiones subtelo méricas. El rendimiento diagnóstico oscilaba alrededor del 6.5%, la tasa de detección diagnóstica fue a la alza, a partir de que se fueron agregando mejoras a la técnica tal como se muestra en la tabla 3 (26).

Tabla 3. Evolución de los microarreglos- CGH y microarreglos-SNP

Fecha	2004	2005	2006
<i>Versión</i>	V4 BAC	V5 BAC	V6 BAC
<i>Desordenes genéticos</i>	40	74	>140
<i>Regiones subtelo méricas</i>	41	41	41
<i>Cobertura</i>	5Mb	10Mb	10Mb
<i>Tasa diagnóstica</i>	6.5%	9.04%	12%

Tabla modificada de Cheung W.S (2018)

2.1.3 Polimorfismos de nucleótido único.

Posterior al uso de BAC en los microarreglos-CGH, distintas plataformas comenzaron a utilizar secuencias con polimorfismos de un solo nucleótido (SNP del inglés *single-nucleotide polymorphism*), los cuales no solo permitían identificar cambios de un solo nucleótido abarcando más regiones del genoma (32), por lo que las regiones genómicas cubiertas por este microarreglo permitió que el rendimiento diagnóstico aumentara como se ejemplifica en la tabla 4.

Tabla 4. Evolución de los microarreglos- CGH y microarreglos-SNP

Fecha	2007	2008	2009	2011
<i>Versión</i>	V6 OLIGO	V7 OLIGO	V8.0 OLIGO	V8.0 OLIGO/ SNP
<i>Desordenes genéticos</i>	>140	420 genes	1,728 exones de genes	1,945 exones de genes
<i>Regiones subteloméricas</i>	41	41	41	41
<i>Cobertura</i>	20 Kb	15 Kb	15 Kb	15 Kb
<i>Tasa diagnóstica</i>	12%	15%	NA	20%

3.1 Impacto clínico de las plataformas de microarreglos

El uso clínico de las plataformas de microarreglos-CHG y microarreglos-SNP ha logrado un importante impacto en el diagnóstico de pacientes con MC, RGND/DI, y características dismórficas sin causa aparente (26). De tal forma que la tasa de detección de CNVs ha ido en aumento de acuerdo al trabajo publicado por Xin-Yan Lu y colaboradores en 2008 (33); la tasa de detección de CNV's mediante microarreglos cuyas versiones fueron V5, V6, y V6-oligo, obtuvo una tasa diagnóstica de 13%, 16.6, y 19.9% respectivamente, con un promedio de detección de 17% en una población de 608 individuos con MC (34). Múltiples trabajos han surgido, ya sea identificando de manera aislada, o en conjunto, con diferentes indicaciones tales como RGND/DI, MC o trastornos psiquiátricos (trastorno del espectro autista (TEA), esquizofrenia).

Como resultado, el American College of Medical Genetics (ACMG) recomienda que el uso de los microarreglos-CGH sea usado como primer paso en el abordaje de pacientes con diagnóstico de RGND/DI, MC, y/o TEA, así como su uso en la evaluación prenatal de fetos con múltiples MC identificadas mediante ultrasonido, con el objetivo de identificar CNVs incluyendo pérdidas (deleciones) o ganancias (duplicaciones y triplicaciones), como entidades causales del fenotipo (40).

Tabla 5. Porcentaje de detección de CNV en distintas poblaciones

Referencia	Año	Principal alteración	Casos alterados/ estudiados	Porcentaje de detección
<i>De Vries, et al (35)</i>	2005	DI, MC	10/100	10%
<i>Shaffer G.L., et al (36)</i>	2006	RGND/DI	134/1,500	8.9%
<i>Ming, et al(37)</i>	2006	MC	2/10	20%
<i>Pickering D, et al (38)</i>	2008	RGND/DI	116/1,176	9.8%
<i>Felippe Borlot, et al (39)</i>	2017	DI/ Epilepsia	23/143	16%
<i>Di Gregorio E, et al (15)</i>	2017	RGND/ DI	111/1,015	11%

2.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La prevalencia de la DI oscila entre el 1 a 3% de los recién nacidos vivos a nivel mundial, el diagnóstico etiológico solo se puede identificar en el 50%. Dentro de las principales causas, las de origen ambiental representan en el 17%, monogénico 40%, y cromosómico en el 20%. Respecto a esta última causalidad, las CNV representan un grupo importante en pacientes con DI y MC, por lo que como parte de abordaje diagnóstico el estudio citogenético, cariotipo BG, puede identificar el 5% de las alteraciones, por otro lado, el estudio de microarreglos de CGH es una herramienta que permite identificar la causalidad hasta en un 20%.

En 2016 se llevo a cabo en el Instituto Nacional de Pediatría de México por Yokoyama y colaboradores un estudio en el cual reclutaron 152 pacientes con RND o DI asociado con MC de origen desconocido, a quienes se les realizó microarreglo-CGH, en el cual se identificó una frecuencia de 21.05% (32/152) de alteraciones cromosómicas de los cuales 26 fueron alteraciones simples (20 deleciones y 6 duplicaciones), 4 deleción/duplicación y 2 rearrreglos complejos. Nueve de los treinta dos fueron casos heredados por algún progenitor.

Con estos resultados y los ya reportados en la literatura, podemos deducir que el abordaje integral, debe incluir técnicas de citogenómica en pacientes con las características previamente descritas ya que esto permite concluir en la identificación de la causalidad, lo que conlleva a obtener la información necesaria para brindar un diagnóstico certero a la familia y determinar con mayor precisión el riesgo de recurrencia con lo que se puede realizar un adecuado y completo asesoramiento genético.

3.- JUSTIFICACIÓN

El RGND o DI asociado con MC es un reto en cuanto al abordaje integral y más aún en cuanto al abordaje genético. En el año 2016 en el trabajo realizado por Yokoyama y colaboradores se propuso un algoritmo diagnóstico el cual permite delinear los pasos a seguir en los casos cuyo diagnóstico no es posible integrar por características clínicas ni por citogenética convencional.

En este primer estudio se encontraron similitudes respecto a la frecuencia de CNVs en cohortes similares, sin embargo, se siguieron reclutando pacientes motivo por el cual surge la necesidad de seguir alimentando estos primeros resultados con los subsecuentes pacientes integrados a esta gran cohorte lo que permitirá identificar la potencial causalidad del fenotipo, así como en caso de identificar CNVs se seguirá el algoritmo diagnóstico que permitirá su correcta clasificación y esto va de la mano a realizar un adecuado asesoramiento genético.

4.- OBJETIVOS:

General

Detectar alteraciones cromosómicas mediante microarreglos de CGH en un grupo de ocho pacientes con retraso global del neurodesarrollo o discapacidad intelectual y defectos congénitos sin causa aparente

Específicos

- Aportar más casos a una cohorte previa de pacientes con diagnóstico de RND o DI y DC sin causa aparente
- Determinar los estudios de microarreglos de cada paciente con resultado positivo
- Describir el genotipo con el fenotipo de cada paciente con un resultado positivo

5.- METODOLOGÍA

5.1. Clasificación de la investigación (tipo de estudio): Observacional, descriptivo, transversal, retrospectivo.

Se propone reportar un estudio de tipo **observacional** ya que no se aplicará ninguna maniobra que cambie el estado basal de los pacientes; no se hará ninguna comparación por lo que se considera **descriptivo**; solo se realizará una medición en el tiempo por lo tanto es **transversal**; y será **retrospectivo** ya que se tomará información de los pacientes que cuenten con los estudios citogenéticos tanto convencionales como de citogenética molecular.

5.2. Universo de estudio (población a estudiar):

Pacientes con retraso en el neurodesarrollo o discapacidad intelectual atendidos en la consulta del departamento de Genética Humana del Instituto Nacional de pediatría, en un periodo de enero de 2015-2020

5.3. Criterios de inclusión.

- 1.- Pacientes con retraso en el neurodesarrollo o discapacidad intelectual de origen desconocido.
- 2.- Menores de 18 años.
- 3.- Que cuenten con buena calidad y cantidad de muestra de DNA.
- 4.- Que cuenten con al menos uno de los padres biológicos.
- 5.- Que los padres firmen y acepten la carta de consentimiento informado.

5.4. Criterios de exclusión:

- 1.- Se excluyeron temporalmente pacientes transfundidos en los últimos tres meses.
- 2.- Se excluyeron a los pacientes en los que se realice el diagnóstico de alguna entidad causal durante el desarrollo del proyecto

5.5. Explicación general de la investigación.

5.5.1 Selección de pacientes: La cohorte de este trabajo es derivada del proyecto titulado "Detección de alteraciones cromosómicas por microarreglos y su relación en pacientes con retraso mental o retraso psicomotor" con número de registro: INP 06/2009. Dicha cohorte comprende pacientes atendidos en la consulta del departamento de Genética Humana que cuenten con el diagnóstico clínico de retraso global del neurodesarrollo o discapacidad intelectual, a quienes previamente se les haya realizado abordaje clínico completo que incluye la historia clínica

genética con árbol genealógico, antecedentes prenatales, perinatales y postnatales, desarrollo psicomotor y exploración física detallada. Deberán tener como parte de abordaje cariotipo, tamiz metabólico, ultrasonido transfontanelar, tomografía axial computarizada (TAC) simple cerebral o en su caso resonancia magnética nuclear (RMN), así como valoración del servicio de Salud Mental, en donde se debieron de haber sometido a escalas de medición específicas de acuerdo con la edad. Hasta 3 años escala de Gesell para valorar el coeficiente global del desarrollo y a los mayores de esta edad, escala de Weshler para determinar el coeficiente intelectual

5.5.2 Cartas de consentimiento informado y captación de datos: Los padres de los pacientes con RM, firmaron una carta de consentimiento informado (anexo1).

5.5.3 Muestras biológicas: El estudio de aCGH se realizó con el DNA de leucocitos que se aisló a partir de una muestra de sangre periférica de 5 a 10 ml con EDTA.

5.5.4 Microarreglos de CGH (aCGH): Se obtuvo DNA de alta calidad y pureza para realizar los aCGH del trio. La extracción se realizó con el kit de purificación de DNA (Gentra System) de la siguiente manera: La sangre del paciente se mezcló con solución de lisis de glóbulos rojos y posteriormente con la solución de lisis de células blancas; se trató con RNAsa A y Proteinasa K y se incubó por dos horas a 55° C. Las proteínas se precipitaron por centrifugación. El sobrenadante se colocó en otro tubo y se mezcló con isopropanol al 100%. Los tubos se agitaron por inversión varias veces, se centrifugó nuevamente y se les agregó etano al 70% para lavarlos. Se centrifugó y después se retiró el etanol por decantación y se dejó secar. Finalmente, se colocaron 200ul de solución de hidratación de DNA y se dejaron almacenados a 4°C. Una vez verificada la pureza y la integridad del DNA (absorbancia mayor a 1.8) se utilizaron para realizar los aCGH.

Para realizar la búsqueda de alteraciones cromosómicas se utilizó el DNA genómico de cada progenitor como DNA de referencia y el DNA genómico del probando. De manera breve las dos muestras de DNA genómico se marcaron con fluoróforos de

diferente color y se cohibridaron de forma competitiva con sondas de DNA impresas robóticamente en un microarreglo. Se usaron microarreglo tipo array CGH (aCGH) para el genoma humano, kit 8x60K de Agilent, que contienen 59,963 sondas de DNA de secuencias codificantes, no codificantes, genes conocidos, promotores, miRNAs y regiones teloméricas. Con esta metodología se detectaron alteraciones genómicas, con muy buena precisión en el mapeo de las regiones cromosómicas y en la identificación de nuevas microvariaciones. El procedimiento de hibridación de DNA y lavado de este microarreglo se realizo de forma manual, y en la plataforma Agilent se realizó el escaneo de la cantidad y tipo de fluorescencia que se emitió en cada locus del microarreglo. Se graficó la razón entre el DNA control y el del paciente, en diferentes longitudes de onda, para cada locus del microarreglo.

5.5.5 Variables:

En la tabla 6 se muestran las variables investigadas en cada paciente

Tabla 6. Variables por investigar en cada sujeto, especificando el tipo variable instrumento y escala de medición para cada una.

Nombre de la Variable	Definición Conceptual	Tipo de Variable	Medición de la Variable
Alteraciones cromosómicas	Se refiere a cualquier cambio en el número de cromosomas que pueden ser poliploidías (cambio en el set de cromosomas) o alteraciones estructurales (implican una o mas rupturas en uno o más cromosomas) que pueden ser deleciones, duplicaciones, inversiones.		
	Frecuencia de alteraciones cromosómicas	Numérica discreta	Frecuencias
	Tipo de alteraciones cromosómicas	Nominal dicotómica	1= microduplicaciones 2= microdeleciones
Retraso psicomotor	El retraso en el neurodesarrollo es el término empleado para describir en niños menores de 6 años un retraso de más de 2 desviaciones estándar en 2 o más áreas del neurodesarroll, las cuales incluyen el funcionamiento	Nominal dicotómica	1= Presencia 2= Ausencia

	intelectual, comportamiento adaptativo en los dominios conceptual social y practico		
Discapacidad intelectual	La DI es un trastorno de las funciones intelectuales, y del comportamiento adaptativo cuyo inicio comprende desde el periodo de neurodesarrollo hasta antes de los 18 años	Nominal dicotómica	1= Presencia 2= Ausencia
Nombre de la Variable	Definición Conceptual	Tipo de Variable	Medición de la Variable
DATOS SOCIODEMOGRÁFICOS			
Sexo	Fenotipo masculino o femenino	Nominal dicotómica	Maculino= 1 Femenino= 2
Edad	Tiempo transcurrido en años desde el nacimiento hasta la fecha de recolección de datos	Numérica discreta	Años cumplidos
SOMATOMETRÍA			
Peso	Peso del paciente	Numérica continua	Gramos
Talla	Talla en decúbito	Numérica continua	Centímetros
Perímetro cefálico	Medición del cráneo del paciente desde la glabella hasta el opistocráneo	Numérica continua	Centímetros
DISMORFIAS MENORES: Defectos que solo tienen repercusión estética			
Plagiocefalia	Asimetría del cráneo	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Trigonocefalia	Apariencia triangular del cráneo debida a prominencia de la sutura metópica	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Hipertelorismo	Distancia interpupilar incrementada	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente

Hipotelorismo	Distancia interpupilar disminuida	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Asimetría facial	Pequeña variación normal entre el lado derecho y el lado izquierdo de la cara	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Filtrum anormal	Alteración de la región del labio superior entre la columnela nasal y el vermillion del labio	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Nombre de la Variable	Definición Conceptual	Tipo de Variable	Medición de la Variable
Sinofris	Cejas que se juntan en la línea media del punto nasal	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Hipoplasia medio facial	Huesos de la mejilla aplanados	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Micrognatia	Maxilar inferior pequeño que no creció hacia fuera. Mejor vista de perfil	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Úvula bifida	Úvula dividida en dos partes	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Macrostomia	Aumento del tamaño de una comisura bucal a otra	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Labios delgados o gruesos	Labios más delgados o más gruesos de lo usual. Existen mediciones para los mismos	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Macroglosia	Lengua grande. Si es macroglosia relativa es por cavidad oral pequeña con lengua normal	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Hiperplasia de encías	Crecimiento anormal de encías	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Pigmentación de la mucosa oral y labios	Pigmentación o manchas pequeñas en mucosa oral y labios	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente

Frénulas accesorias	Las frénulas son pliegues normales de la mucosa oral que se extiende del puente alveolar a la cara interna del labio superior o del labio inferior	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Epicanto	Pliegue vertical de piel redundante entre los ojos y la nariz	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Nombre de la Variable	Definición Conceptual	Tipo de Variable	Medición de la Variable
Ojos almendrados	Reducción de la longitud de las fisuras palpebrales del canto interno y canto externo	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Blefarofimosis	Reducción de la longitud de la fisura palpebral en el eje horizontal, generalmente el globo ocular es normal estructural y funcionalmente	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Proptosis	Protrusión del globo ocular	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Ptoxis palpebral	Se refiere a cuando el párpado superior cubre mas de 2cm la cornea	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Opacidad corneal	Apariencia opaca de la cornea	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Pupilas ectópicas	Pupilas no centradas en el iris	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Escleras azules	Coloración opaca de la coroides que da una apariencia azul a la esclera	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Microtia grado I	Orejas con disminución del tamaño mayor a 2 desviaciones estándar que conservan todas sus estructuras normales	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Implantación baja de pabellones auriculares	La definición se basa en una línea horizontal imaginaria del canto externo de los ojos y se indica una implantación baja si el pliegue del hélix se sitúa por debajo de esta línea	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente

Apéndices preauriculares	Presencia de tejido blando en forma de apéndice generalmente frente al trago del	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Rotación posterior de pabellones auriculares	Posición pabellón auricular cuyo eje vertical esta rotado posteriormente	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Nombre de la Variable	Definición Conceptual	Tipo de Variable	Medición de la Variable
Hoyuelos o fistulas en el cuello	Invaginaciones cuya entrada se observa justo anterior a la inserción del hélix	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Tórax en tonel	Tórax ancho tanto en la base como en la parte superior	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Ginecomastia	Exceso de desarrollo mamario en los varones	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Pecho en quilla o excavado	Forma de tórax dado por el esternón que puede ser excavado o prominente	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Pezones supernumerarios	Presencia de pezones extras que siguen o no la línea mamaria	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Uñas hipoplásicas	Formación anormal (desorganizada) de la uña	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Manos empuñadas	Manos en forma de puño	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Clinodactilia	Deflexión de uno o más dedos medialmente o lateralmente (secundario a hipoplasia de la falange media)	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Camptodactilia	Posición flexionada de uno o más dedos que pueden estar en una o más articulaciones	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente

Pads	Ausencia de la regresión normal de los cojinetes de la región palmar distal de los dedos	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Pliegue transverso	Pliegue único en la región palmar	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Hallux ancho	Primer orjejo más ancho del promedio	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Nombre de la Variable	Definición Conceptual	Tipo de Variable	Medición de la Variable
Asimetría de extremidades	Variación en la longitud de la extremidad derecha y la extremidad izquierda	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Defecto de reducción de extremidades	Extremidad corta de manera anormal	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Hipermovilidad articular	Aumento del ángulo de movimiento de las articulaciones	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
DISMORFIAS MAYORES: Defectos que comprometen			
Microcefalia	Perímetro cefálico menor a percentil 3 para la edad y talla	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Macrocefalia	Perímetro cefálico mayor a percentil 97 para la edad y talla	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Craneosinostosis	Cierre prematuro de sutura(s) craneal(es)	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Labio hendido	Falta de cierre de labio superior	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Paladar hendido	Falta de cierre de procesos palatinos	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente

Paladar hendido submucoso	Falta de cierre de proceso palatinos observables solo por nasofibroscofia	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Labio y paladar hendido	Falta de cierre de labios superior y de los procesos palatinos	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Coloboma de iris	Fisura del iris	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Nombre de la Variable	Definición Conceptual	Tipo de Variable	Medición de la Variable
Anoftalmia	Ausencia completa de crecimiento de la vesícula óptica y falta de formación ocular	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Microftalmia	Globo ocular anormalmente pequeño	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Microtia grado II-IV	Tipo II: defecto que comprende el cartilago del pabellón con una superficie que recuerda un oído en forma de S; el tipo III es el más común y presenta tejido blando rudimentario sin forma de oreja; el tipo IV es la ausencia total del oído externo	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Hipoacusia conductiva	Audición conductiva por debajo del promedio para la población o ausente	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Hipoacusia sensorial	Audición sensorial por debajo del promedio para la población o ausente	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Escoliosis	Curvatura de la columna de 10° o más apreciable en rayos X	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Cardiopatía congénita	Defecto del corazón que se presenta desde el nacimiento	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Hernia umbilical	Protrusión de un asa intestinal a través de la cicatriz umbilical	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente

Hernia Inguinal	Protrusión de un asa intestinal a través del anillo inguinal	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Hernia diafragmática	Protrusión de las asas intestinales o estomago a través del diafragma	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Gastrosquisis	Protrusión de vísceras abdominales junto a la cicatriz umbilical por defecto de pared abdominal	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Nombre de la Variable	Definición Conceptual	Tipo de Variable	Medición de la Variable
Onfalocele	Protrusión del ombligo cubierto de piel debido a un defecto de cierre del anillo umbilical	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Hipospadias	Posición del meato urinario por debajo de la punta del glande	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Criptorquidia	Ausencia de un testículo en bolsa escrotal	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Ano imperforado	Ausencia congénita de ano	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Poliquistosis renal	Presencia de múltiples quistes en riñón o ambos riñones	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Hipoplasia renal	Riñones más pequeños para la edad	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Organomegalia	Presencia de sobre crecimiento de un órgano solido (no hueco) como riñón, hígado, páncreas.	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Sindactilia	Fusión parcial o total entre los dedos de manos y/o pies, la cual puede ser solo de piel o de piel con hueso	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Braquidactilia	Dedos de manos y/o pies más pequeños a lo esperado	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente

Pollidactilia	Presencia de dedo o dedos extra que puede ser antes (preaxial) o después (posaxial) del pulgar	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Pie equino varo	Deformidad no reducible que presenta el pie en posición equino, varo y supinación	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente
Artrogriposis	Contractura de múltiples articulaciones que se presentan desde nacimiento	Nominal dicotómica	0= Ausente 1= Presente

6.- TAMAÑO DE LA MUESTRA

En el proyecto titulado “Detección de alteraciones cromosómicas por microarreglos y su relación en pacientes con retraso mental o retraso psicomotor” con número de registro INP 06/2009 se realizó el cálculo de muestra tomando en cuenta los porcentajes de detección de alteraciones cromosómicas de los diferentes estudios en donde se analizaron pacientes con DI asociados o no a MC por aCGH, se realizó el cálculo de tamaño de muestra para proporciones.

El porcentaje más alto de detección de alteraciones cromosómicas es de 17% ($p=0.17; q=0.83$) y el más bajo de 4.2% ($p=0.042; q=0.958$). Tomando un valor de alfa de 0.05 y un poder de 90% se aplicó la siguiente fórmula y se obtuvo un tamaño de muestra de $46.6 = 47$ pacientes

$$n = p_0 q_0 * \left[z_{1-\alpha/2} + z_{1-\beta} * \sqrt{p_1 q_1 / p_0 q_0} \right]^2 / \underline{p_1 - p_0}$$

Para este estudio realizamos diferentes escenarios de cálculo de muestra. Asumiendo una prevalencia mínima del 1% y máxima del 3% y tomando en cuenta el número de pacientes a reclutar, con el objetivo de detectar al menos 8 casos en la muestra

$$n = \left(\frac{z}{m} \right)^2 * p(1-p)$$

Tabla 7. Ejercicio de cálculos de muestra

Prevalencia	n
1%	1,312
2%	655
3%	436

Para este trabajo se reclutaron 8 tríos integrados por padre, madre y probando el cual debe cumplir con los criterios de inclusión previamente descritos.

7.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis se realizó en el paquete estadístico SPSS versión 19.0, en este programa se construyó una base de datos donde se capturaron los datos obtenidos. Las variables fueron analizadas mediante estadística descriptiva contemplando medidas de tendencia central y dispersión o en proporciones dependiendo el tipo de variable cualitativa o cuantitativa. Adicionalmente si las variables cuantitativas tienen distribución normal se utilizó media y DE y si no medianas y cuartiles. Las variables cualitativas como género (femenino/masculino) y consanguinidad, se realizaron en forma de frecuencias y graficas de barras.

En caso de ser positivos los resultados de aCGH, para definir si se trata de un polimorfismo o de una variante patogénica cromosómica se compararon con ambos padres en caso que se encuentre la variante en padres cuyo fenotipo sea normal se determinó como variante polimórfica, en caso de que sea variante sea *de novo* se determinó si es una CNV privada o si ya se encontró reportada en la literatura, así como. A demás, se determinaron los genes que involucraron el segmento desbalanceado y si estos genes son sensibles a dosis, posteriormente se realizó la correlación genotipo fenotipo para concluir un diagnóstico y brindar un asesoramiento genético.

Los resultados de los microarreglos se reportan de acuerdo a la nomenclatura internacional basada en el ISCN 2016 (*An International System for Human*

Cytogenetic Nomenclature) (41). Posteriormente se determinaron las regiones cromosómicas y genes que pusieran estar involucrados en el cuadro clínico. Para el análisis genómico de la región afectada de cada paciente, se ingresaron las regiones involucradas en cada alteración cromosómica en las siguientes bases de datos: UCSC genome Browser, Database of Genomic Variants (DGVs), DECIPHER, NCBI, Gene Ontology, miRBase y miRanda. Se seleccionaron todos los genes que se encuentren en las regiones afectadas, se investigó su producto génico, función y proceso. Para descartar que alguno de los progenitores sea portador balanceado de rearrreglo cromosómico que hubiese originado el desbalance genómico en los pacientes, se les realizó cariotipo por medio de citogenética convencional con una resolución de 600 a 700 bandas.

Para la relación entre el fenotipo se presentarán dos situaciones:

- A. Alteraciones cromosómicas no referidas en la literatura. Representan nuevos casos en los cuales se realizó la descripción clínica, así como el análisis de las regiones cromosómicas involucradas para encontrar genes que pudieran estar involucrados en la etiopatogenia de las manifestaciones
- B. Alteraciones cromosómicas referidas en la literatura. En estos casos se realizó un análisis comparativo de las características clínicas y de nuevas manifestaciones, así como de las regiones cromosómicas involucradas.

8.- RESULTADOS

Se reclutaron para esta parte del estudio 8 familias, en las cuales los casos índice fueron 5 mujeres (63%) y 3 varones (37%), el promedio de edad fue de 8.3 años; el promedio de edad de las madres fue de 29 años y el promedio de edad de los padres 26 años; el 100% de las familias negó consanguinidad y se identificó positividad para endogamia en una familia (12.5%). El 100% de nuestros casos índice reclutados presentó al menos un defecto congénito y RGND o DI.

De nuestra población de estudio con antecedentes de RGND o DI asociado con MC, dos pacientes (25%) presentaron una alteración cromosómica, en el primer caso se identificó una deleción y en el otro paciente se identificó una duplicación; en el resto de los 6 pacientes no se identificó ninguna CNV (Ver tabla). Con respecto a los padres no se identificaron CNV.

Tabla 8. CNV identificadas en los casos índice

Probando	Banda	CNV	Inicio	Final	Tamaño	Origen
1	22q13.33	Deleción	51123491	51157432	33.9 kb	De novo
2	Xp22.31	Duplicación	8295591	8514217	431.5 kb	De novo
3 a 8	Sin VNC					

Paciente 1 Síndrome de Phelan-McDermid, deleción 22q13.33.

Femenino conocida a la edad de 11 años 7 meses, producto de la gesta uno, al momento de embarazo madre de 19 años, padre de 34 años, ambos sanos; endogamia positiva habitan en comunidad de 2,800 habitantes. Embarazo normoevolutivo el cual se resuelve vía abdominal secundario a posición podálica, presentó un peso de 2500 gr, se desconoce talla y Apgar. A la exploración física con peso y talla por debajo del percentil 5 y perímetro cefálico en percentil 75-90, macrocráneo relativo, frente amplia, cejas rectas dispersas en tercio externo,

telecanto, clinodactilia de quinto dedo de ambas manos, mosaico pigmentario en abdomen, espalda y brazo derecho, mancha hiperocrómica lineal en cara interna de antebrazo, xerosis generalizada (Ver imagen 1). Inició abordaje por macrocefalia relativa, discapacidad intelectual con predominio del lenguaje, problemas de comportamiento, peso y talla bajos para la edad y dermatosis por manchas hiperocrómicas en tronco compatibles con mosaico pigmentario.



Imagen 1. Se pueden observar las dismorfias faciales frente amplia, cejas rectas dispersas en tercio externo, telecanto.

Se realizó cariotipo el cual se reportó 46,XX en 15 metafases de 400-500 bandas GTG de resolución. Debido a manchas hiperpigmentadas que siguen las líneas de Blaschko se realizó cariotipo en piel clara y piel oscura reportándose como normal, así mismo se realizó resonancia magnética cerebral en la cual se observa discreta asimetría ventricular supratentorial, restos hemáticos y/o calcificaciones periventriculares occipitales, probables zonas de gliosis focales en sustancia blanca subcortical frontal y quiste aracnoideo retrocerebeloso. El estudio de aCGH detectó una delección monoalélica de 33.9 Kb en 22q13.33, la cual se comparó con ambos padres y se identificó como variante *de novo*, como se puede ver en la imagen 2

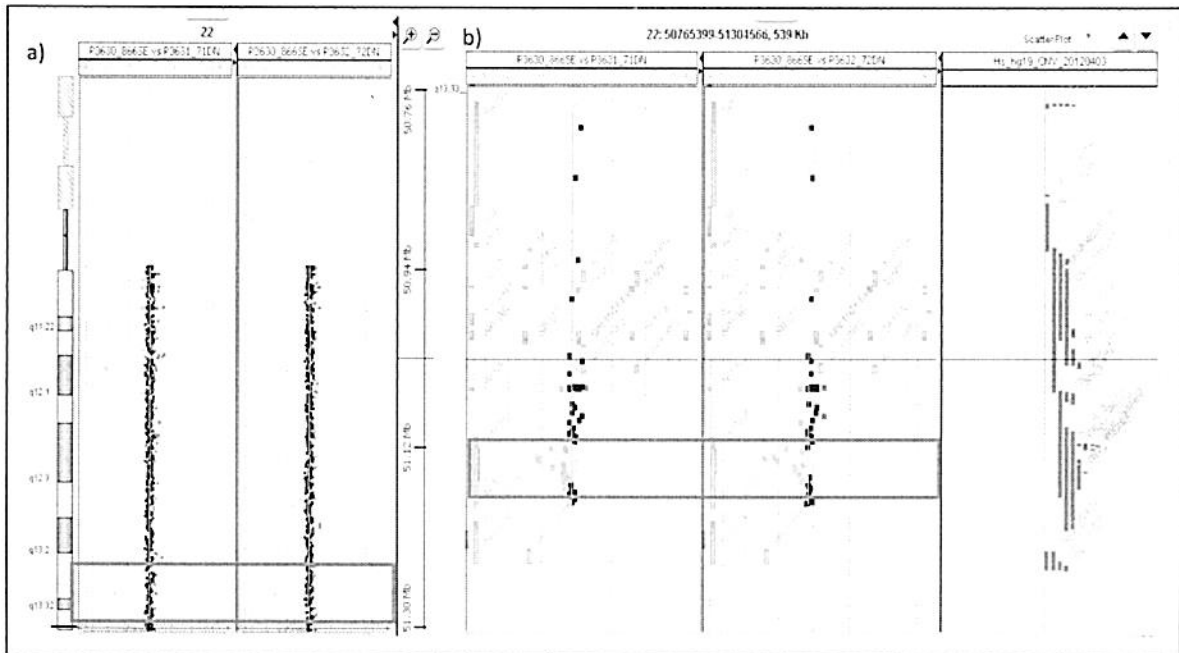


Imagen 2. aCGH paciente 1 a) Representación grafica de normalización de LogRatio, izquierda DNA probando vs madre, derecha probando vs padre b) acercamiento del locus donde se observa un desplazamiento cuadros verdes de la normalización LogRatio de 0 hacia -1 de las sondas correspondientes a las coordenadas ya descritas en la Tabla 8, a la izquierda DNA probando vs madre derecha DNA probando vs padre.

De acuerdo a la base de datos GeneDistiller versión 2014 solo existe un gen dentro de este locus, así como se observa en la plataforma UCSC Genome Browser on Human Feb. 2009 (GRCh37/hg19) Assembly ver figura 1, ninguna CNV se ha reportado en genomAD ni en Data Base of Genomic Variants (DGV), las cuales corresponden con población sana se realizó búsqueda en base de datos DECIPHER la cual describe el involucro de solo un gen *SHANK3* (Ver tabla 9).

Esta delección intragénica afecta los exones 10 al 20 y al promotor alternativo localizado en el intrón 10 como se observa en la figura 1, de acuerdo al manual de citogenética ISCN 2016 la interpretación citogenómica que corresponde es: arr [GRCh37] 22q13.33(51,123,491-51,157,432)x1.

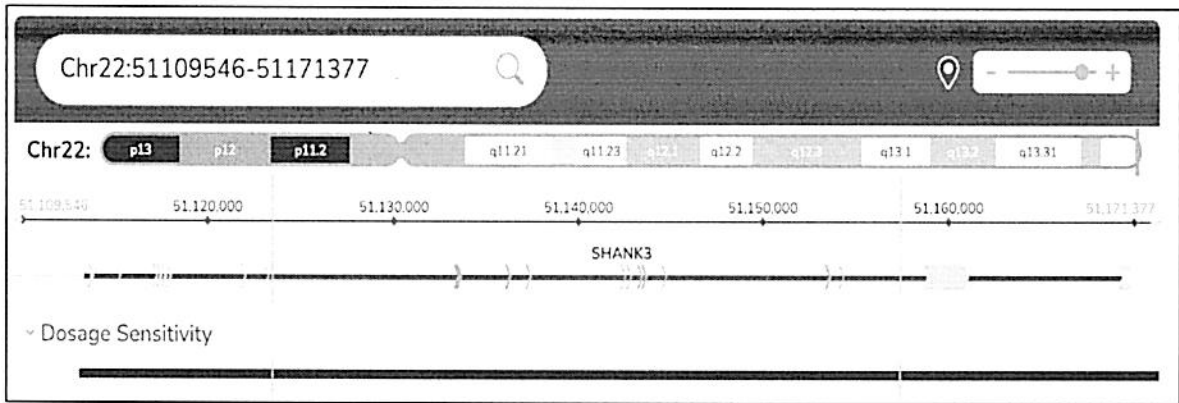


Figura 1. Se observan los puntos de ruptura, así como la región deletada del gen *SHANK3*

Así mismo se realizó búsqueda en ClinVar, VARSOME y Franklin by Genoox las tres bases de datos coinciden que la pérdida de función en estado heterocigoto de esta región es responsable del síndrome Pheland-Mcdermid (OMIM #606232).

Tabla 9. Genes localizados en el locus 22q13.33

Gen	Descripción	Producto	Función	Proceso
<i>SHANK3</i>	SH3 And Multiple Ankyrin Repeat Domains 3	Proteína 2 asociada a sinapsis rica en prolina	Proteínas de andamio multidominio que conecta receptores con neurotransmisores, canales iónicos y citoesqueleto	Sinapsis

<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=SHANK3>

Paciente 2 duplicación Xp22.31

Femenino conocida a los 3 meses de edad producto de la gesta 3, al momento de embarazo madre de 25 años, padre de 29 años, ambos sanos, originarios de Chilpancingo, Guerrero. Niegan consanguinidad. Tiene hermana y hermano de 7 y 2 años, sanos. Durante el embarazo la madre consumió ácido fólico a partir de la semana 4 de gestación, en el cuarto mes presentó pico febril y contacto positivo con 8 familiares con diagnóstico de chinkungunya. Nació vía vaginal a las 38 semanas de gestación, con un peso de 2,625 (percentil 7 z score = -1.48) gr y una talla de 50

cm (percentil 31, z score -0.49). Es conocida por el servicio debido a microcefalia ($p < 5$ z score = -6.9) y crisis convulsivas a la exploración física se evidenció estrechamiento bifrontal, cejas arqueadas, puente nasal ancho, pezón supernumerario derecho y 3 izquierdos, debido a malformaciones menores y mayores, así como retraso del neurodesarrollo se solicitó estudio citogenético, el cual se reportó como 46,XX en 15 metafases de 400- 500 bandas GTG de resolución, así como por dismorfias menores se realizó FISH para el locus 4p16.3 el cual fue negativo para la microdelección.

Por parte, neurología realizó RT-PCR para Zika, el cual fue positivo en líquido cefalorraquídeo, así como tomografía axial computarizada de cráneo la cual se reporto como pérdida de volumen del encéfalo, con pobre definición de giros corticales, calcificaciones puntiformes corticosubcorticales de ambos lóbulos frontales y parietales, sin embargo, debido a malformación congénita mayor (microcefalia), malformación congénita menor (dismorfias faciales, pezones supernumerarios) y retraso global del neurodesarrollo la paciente fue candidata a estudio de microarreglos aCGH comparándose con el material genético de ambos padres el cual se reportó como duplicación Xp22.31 de 435.1 kb.

El material genético de la probando se comparo con el de la madre con quien se evidenció duplicación monoalélica y con respecto al padre una delección monoalélica por lo que se puede deducir que el origen parental es paterno como se puede ver en la imagen 3.

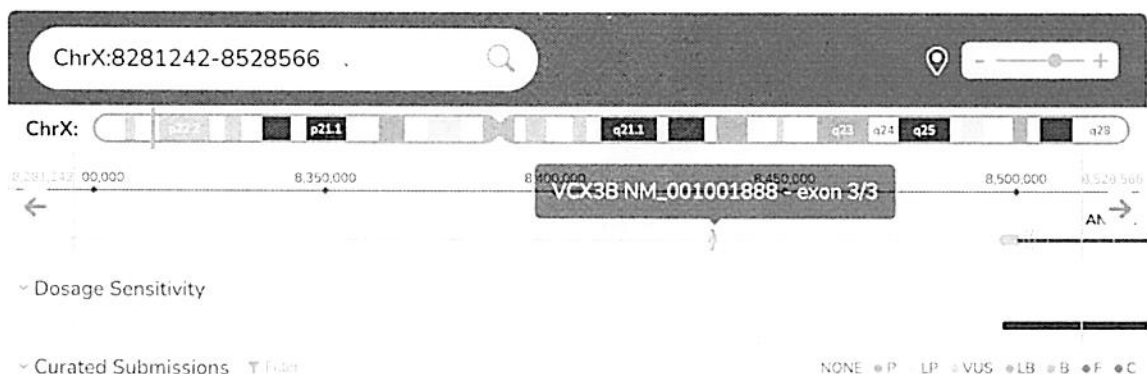


Figura 2. Se observan los puntos de ruptura, así como la región duplicada la cual comprende el gen VCX3B y ANOS1

Se realizó búsqueda en base de datos GeneDistiller versión 2014 encontrando que se encuentran en estas regiones 2 genes (Ver tabla 10), así como se observa en la plataforma UCSC Genome Browser on Human Feb. 2009 (GRCh37/hg19) Assembly ver figura 2, la región duplicada afecta específicamente a los genes de forma completa a *VCX3B* y parcial a *ANOS1* en su región centromérica hasta los exones 10-14. de acuerdo al manual de citogenética ISCN 2016 la interpretación citogenómica que corresponde es: arr [GRCh37] Xp21.31(8,295,591-8,514,217)x3 pat. Ninguna CNV se ha reportado en genomAD ni en Data Base of Genomic Variants (DGV), se realizó búsqueda en base de datos DECIPHER coincide con presencia de dos genes, sin embargo, *ANOS1* es sensible a haploinsuficiencia, no así a triplosensibilidad, y para el gen *VCX3B*, se desconoce su sensibilidad a haploinsuficiencia y triplosensibilidad. Ante esto las bases de datos DECIPHER, ClinVar y Franklin by Genoox concluyen que esta VNC se clasifica como VUS.

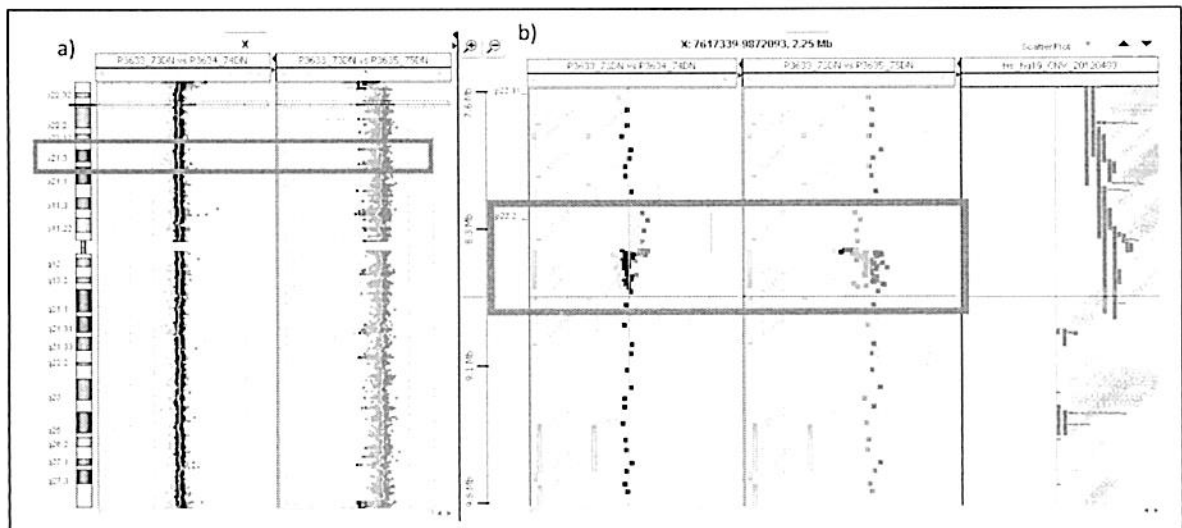


Imagen 3.- aCGH paciente 2 a) Representación grafica de normalización de LogRatio, izquierda DNA probando vs madre, derecha probando vs padre b) acercamiento del locus donde se observa izquierda DNA probando vs madre duplicación monoalélica cuadros rojos se desplazan de 0 hacia 1, derecha DNA probando vs padre donde cuadros rojos se desplazan de 1 hacia 0.5

Tabla 10. Genes localizados en el locus Xp22.31

Gen	Descripción	Producto	Función	Proceso
ANOS1	Anosmina 1	Anosmina	Proteínas de en la adhesión de las células neurales y la migración axonal.	Citoesqueleto
VCX3B	Variable Charge X-Linked 3B	VCX3B	Espermatogénesis, aun no se termina de identificar su función.	Ensamblaje de ribosomas

Paciente 3

Femenino de 16 años, conocida por antecedente de RGND, actualmente DI severa, disgenesia cerebral (hemiatrofia cerebral derecha), epilepsia parcial compleja, dismorfias faciales: cejas arqueadas y pobladas, enoftalmos, epicanto bilateral, antihélix prominente, nariz pequeña, filtrum corto, labio superior delgado, dedos fusiformes, talla baja proporcionada de inicio posnatal con patrón atenuado, dislipidemia (hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia), hipogonadismo hipogonadotropico. Como parte de su abordaje cuenta con cariotipo, tamiz metabólico, FISH para los loci 1p36 y 17p11.2 reportados como normales. De acuerdo al estudio de aCGH no se evidenció VNC.

Paciente 4

Femenino conocido a la edad de 2 años 9 meses, debido a antecedente de persistencia del conducto arterioso la cual requirió manejo quirúrgico, DI leve (coeficiente intelectual de 60), así como, fusión de vertebra T6-T7, hemivértabras en T12, L1, L2 y ausencia de arco costal, talla baja de inicio posnatal con patrón atenuado. Se realizó cariotipo el cual se reportó: 46,XX BG en 15 metafases, 400 bandas GTG de resolución, así como ultrasonido renal reportado sin alteraciones estructurales. Los resultados del estudio de aCGH no evidenciaron VNC.

Paciente 5

Masculino de 5 meses conocido por el servicio de genética debido a retraso global del neurodesarrollo, microcefalia (z score = -5.11 a los 6 años), micropene, criptorquidia derecha, displasia congénita de cadera, sinostosis radio-cubital, úvula bífida, reflujo gastroesofágico, peso y talla bajos para edad y grupo poblacional. Se realizó cariotipo el cual se reportó como 46,XY en 25 metafases de 450-500 bandas GTG de resolución. Cuenta con ultrasonido renal el cual se evidenció ambos riñones con ligera dilatación de sistemas colectores, riñón izquierdo probablemente hipoplásico. Los resultados del estudio de aCGH no evidenciaron VNC.

Paciente 6

Masculino conocido a la edad de 2 años 6 meses el cual nació a las 36 semanas de gestación, vía abdominal secundario a preeclampsia, peso 2500 gr, talla de 45 cm, es valorado por el servicio de genética por dismorfias faciales (dolicocefalia, fisuras palpebrales oblicuas hacia arriba), retraso global del neurodesarrollo, hipotonía, insuficiencia pancreática exocrina, peso y talla bajos para edad y grupo poblacional. Se realizó estudio citogenético el cual se reportó como 46,XY,16qh+ en 70 metafases de 450-500 bandas GTG de resolución. Resonancia magnética nuclear cerebral con leucomalacia y gliosis periventricular y atrofia cerebral. Los resultados del estudio de aCGH no evidenciaron VNC.

Paciente 7

Femenino conocida de 2 años 3 meses, en abordaje por retraso global del neurodesarrollo, dismorfias faciales hipertelorismo, hipoplasia medio facial, puente nasal deprimido, comisuras labiales oblicuas hacia abajo. Cuenta con cariotipo 46, XX en 15 metafases de 400 a 500 bandas GTG de resolución. Los resultados del estudio de aCGH no evidenciaron VNC.

Paciente 8

Masculino conocido a los 10 meses por dismorfias faciales (braquicéfalia, pelo aspero, con hipopigmentación en región frontal, cejas escasas, epicanto inverso

bilateral, filtrum poco marcado, boca pequeña), microcefalia, zonas de alopecia, pectum excavatum cuadriparesia espástica, retraso global del neurodesarrollo, hipoacusia bilateral. Cuenta con resonancia magnética cerebral atrofía cortico subcortical, hipoplasia de cuerpo calloso, atrofía de cerebelo, impresiona una probable alteración en sustancia blanca. Los resultados del estudio de aCGH no evidenciaron VNC.

9.- DISCUSIÓN

La identificación de VNC incluyen pérdidas (deleciones) y ganancias (duplicaciones y triplicaciones) del material genético actualmente el microarreglo aCGH es recomendado como el primer nivel de evaluación postnatal en pacientes con RGND o DI, TEA y/o MC múltiples (40), dependiendo de la cohorte estudiada el rendimiento diagnóstico oscila entre el 10 al 20%(16); en nuestra serie de pacientes se identificó en 1 de 8 casos (12.5%) pérdida del material genético y en un segundo caso ganancia de material (12.5%), un total de 25% con VNC, coincidiendo de manera proporcional con lo ya reportado en la literatura, en el resto de los casos no se identificó variantes en el número de copias.

Con respecto a la primera paciente, en la cual se identificó una deleción monoalélica de 33.9 Kb en el locus 22q13.33. Esta deleción en estado heterocigoto es responsable del síndrome Pheland-Mcdermid (PMS) (OMIM #606232) o también llamado síndrome por deleción 22q13.3 la prevalencia de esta entidad es desconocida; sin embargo, en 2015 Costales J. y colaboradores describen que se han reportado 1200 casos en todo el mundo (42), a la fecha se han documentado 1500 casos en el registro internacional de SPM (43). El tamaño de la deleción puede variar ampliamente se han descrito rangos desde 0.22 a 9.22 Mb, la deleción de nuestra probando coincide dentro del rango de tamaño.

En el locus 22q13.33 se encuentran los genes *ARSA*, *SHANK3*, *ACR*, *RABL2B* y la región telomérica, como se muestra en la imagen 4. *SHANK3* proteína SH3 con

múltiples dominios de repetición de anquirina 3 o proteína 2 asociada a sinapsis rica en prolina, esta compuesta de 22 exones, tiene una longitud de 60 Kb (44), se expresa en cerebro, corazón bazo, hígado, útero, pulmón y aparato gastrointestinal se estima un biotipo pLI de 1, el cual calcula la probabilidad de que un gen sea intolerante a la pérdida de función donde 0 es tolerante y 1 es intolerante (18), así mismo variantes patogénicas puntuales también se han asociado con esquizofrenia tipo 15 (OMIM #613950).

Se describen cuatro mecanismos moleculares causales de SPM a) deleciones cromosómicas terminales 22q13.3 usualmente *de novo*, sin embargo en 20% de los casos los padres son portadores de translocaciones balanceadas, que aumentan el riesgo de SPM; b) deleciones intragénicas; c) translocaciones desbalanceadas o rearrreglos cromosómicos produciendo la formación de un cromosoma 22 en anillo; d) variantes patogénicas que condicionen haploinsuficiencia del gen *SHANK3* (43)(45). En nuestra paciente el mecanismo fue deleción intragénica.

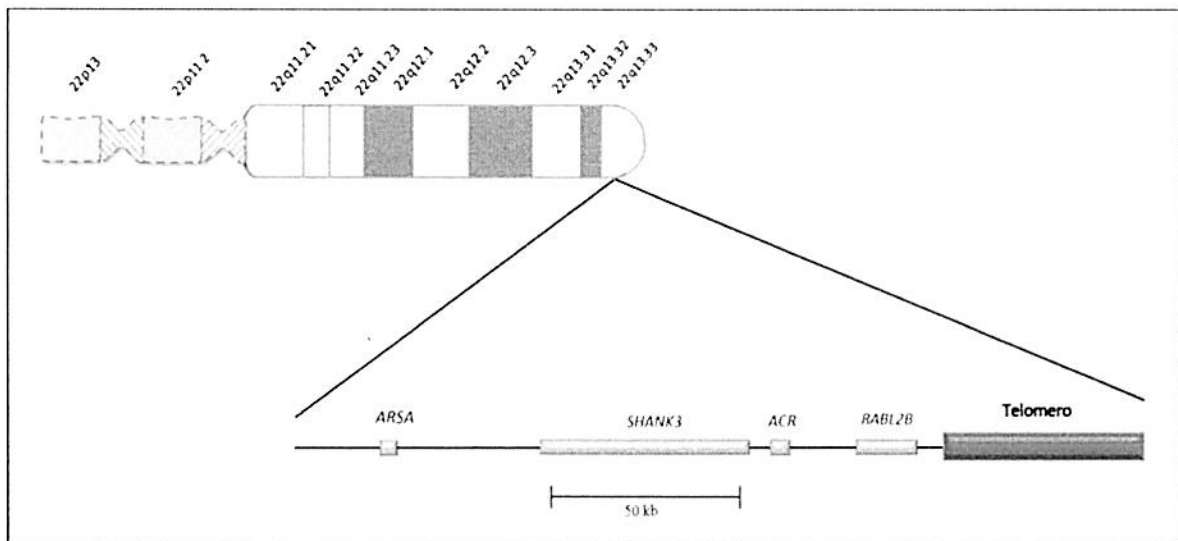


Imagen 4.- Representación esquemática del locus 22q13.3. Imagen tomada de Costales L, Neurotherapeutics (2015).

Clásicamente se había considerado el involucro del gen *SHANK3* como el responsable del cuadro clínico, sin embargo, en un trabajo realizado por Shan Li en 2020 reportan la identificación de una deleción intersticial que no involucra este gen,

pero que coincide con las características clínicas y moleculares descritas en SPM por lo que se sugiere son regiones que regulan la expresión del mismo causan fenotipo indistinguible de SPM (46). En nuestra paciente se identificó una delección intragénica de 33.9 Kb con puntos de ruptura descritos en la Tabla 8, dicha delección abarca los exones 10 al 20 y el promotor alternativo en el intrón 10 que de acuerdo a las bases de datos GeneDestiller y UCSC Genome Browser coinciden con los puntos de ruptura intragénicos.

Las características clínicas de SPM son dismorfias menores antecedentes de RGND/DI, perdida o ausencia del lenguaje, hipotonía neonatal, síntomas de TEA (43). A continuación, se presenta una tabla que resume las dismorfias faciales descritas en esta entidad comparadas con las presentadas por nuestra paciente, por lo que consideramos que presenta las dismorfias faciales que con mayor frecuencia se encuentran descritas en esta entidad.

Tabla 11. Dismorfias descritas en SPM y en la paciente 1

Dismorfias	% de presentación	Paciente 1
Macrocefalia	7-31	si
Dolicocefalia	0-86	si
Fisuras palpebrales largas	25-60	si
Hipertelorismo	13-36	si
Nariz bulbosa	47-80	si
Epicanto	30-73	no
Pabellones auriculares dismorficos	27-86	no

Respecto a la afectación sistémica se involucran los sistemas nervioso, esquelético, cardiovascular, genitourinario, endocrinológico, por lo que comparamos los hallazgos más frecuentemente presentados en SPM y la paciente 1, como se observa en la tabla 12. Donde se evidencia que el mayor involucro después de las dismorfias faciales es el sistema nervioso central un dato que hasta el momento no se ha reportado en la literatura es dermatosis diseminada a miembro superior

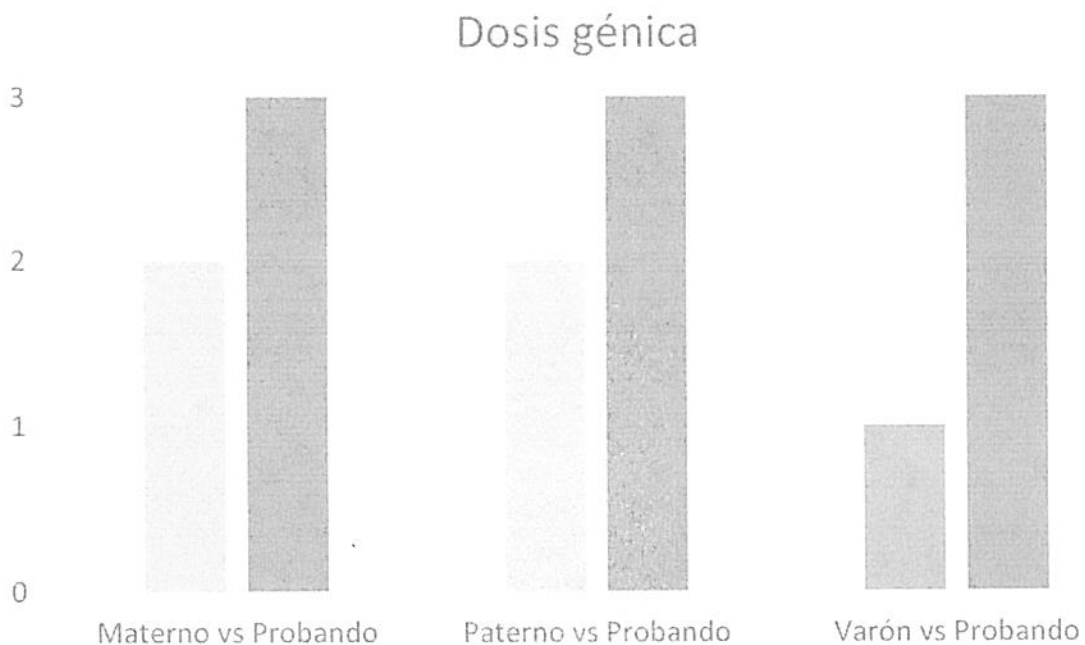
derecho, tronco, abdomen derecho, región lumbar derecha e izquierda constituida por manchas hiperpigmentadas color marrón claro con distribución lineal Blaschkoide bien delimitadas, las cuales fueron estudiadas mediante citogenética convencional sin identificar alteraciones.

Tabla 12. Manifestaciones sistémicas de SPM

Sistema	Característica	Porcentaje	Paciente 1
SNC	RGND con mayor afectación del lenguaje	50	Si
	Retraso del lenguaje	100	Si
	DI leve – moderada	87	Si
	TEA	26-84	Si
	Agresividad	28	No
	Convulsiones	14-41	No
	Catatonía	53	No
Musculo-esquelético	Hipotonía	20-100	No
	Hiper movilidad articular	25-61	No
	Laxitud ligamentaria	65%	No
Cardiovascular	Defectos cardiacos	3- 25%	No
	Valvulopatias	3-25%	No
Crecimiento	Talla baja	0-13	Si
	Talla alta	3-18	No

Debido a que se analizó al trío, y en ambos padres no se identificó la deleción 22q13.3, se consideró como variante *de novo*, por lo que se brindó un riesgo de recurrencia del 50% para la descendencia de la probando. En cuanto al seguimiento actualmente se encuentra con manejo por neurología, salud mental y nuestro servicio.

En cuanto al segundo caso se identificó una duplicación del material genético en el locus Xp22.31 de 218.6 Kb de acuerdo con el estudio de aCGH se concluyó que la ganancia es de origen paterno ya que como se muestra en las gráficas, cuando se comparó el DNA de la probando con respecto al DNA materno se identificó una duplicación monoalélica como se muestra en la gráfica 1, así mismo, cuando se comparó el DNA paterno con el DNA de la probando se evidenció una delección monoalélica, siendo que si el padre no presentara dos copias del material genético en este locus se debería encontrar como una delección bialélica respecto a la probando ya que los varones son hemicigotos, por lo que se concluye que la delección es de origen paterno.



Grafica 1. Dosis génica del locus Xp22.3 donde se evidencia que respecto a Materno vs Probando se identifica una duplicación del probando. Paterno vs Probando se identifica una delección monoalélica, relación hipotética entre un Varón vs Probando

La región duplicada afecta específicamente al gen *VCX3B* de forma completa y parcial a *ANOS1* en su región centromérica hasta los exones 10-14. De acuerdo al manual de citogenética ISCN 2016 la interpretación citogenómica que corresponde es: arr [GRCh37] Xp21.31(8,295,591-8,514,217)x3 pat. Al revisar la base de datos

OMIM y en plataforma "PubMed" para el gen *VCX3B*, no existen entidades clínicas asociadas directamente a variantes puntuales en este gen, sin embargo, deleciones en el locus Xp22.3 que incluyen la pérdida de genes *VCX* se han asociado con ictiosis ligada al cromosoma X (47), sin embargo, no se han identificado entidades clínicas asociadas a duplicaciones de este gen, de acuerdo a base de datos Franklin by genook el pLI corresponde a 0.38, lo que hace tolerante su pérdida de función y no existen datos respecto a triplosensibilidad.

De acuerdo a la base de datos "The Human Gene" <https://www.genecards.org/> se describe que los seres humanos poseemos un gran número de copias de la familia de genes *VCX*, específicamente *VCX3B*. Se desconoce con precisión su función, sin embargo, se sabe que participa en la estabilización del RNAm y tiene un papel en el ensamblaje de los ribosomas durante la traducción, esto durante la espermatogénesis.

Respecto al segundo gen implicado *ANOS1* se encuentra relacionado con hipogonadismo hipogonadotrófico tipo 1 (OMIM # 300836), también denominado síndrome de Kallman (SK). Este síndrome presenta en varones una incidencia de 1 por cada 30 000 recién nacidos vivos y abarca un amplio espectro clínico que consiste en hipogonadismo hipogonadotrófico, con anosmia y su variedad con normosmia (48). Este gen consta de 14 exones codifica para una glicoproteína extracelular de 680 aminoácidos, llamada Anosmina-1, la cual se asocia con la membrana plasmática a través de proteoglicanos de heparán sulfato, se expresa en tracto respiratorio, riñones, sistema digestivo y ciertas regiones del cerebro (49)(50)(51). De acuerdo a base de datos Franklin by genook el pLI corresponde a 1, lo que hace intolerante a la pérdida de función y no existen datos respecto a triplosensibilidad.

Variantes patogénicas en este gen condicionan una disrupción en la migración de las neuronas liberadoras de gonadotropinas hacia el bulbo olfatorio. Esta mutación representa el 14% de los casos familiares y el 11% de los casos esporádicos (51); respecto a formas más sindrómicas, éstas se pueden originar por deleciones en locus Xp23 y ser parte de entidades sindrómicas por deleción de genes contiguos

y pueden presentar formas complicadas con retraso mental, Ictiosis ligada al cromosoma X (STS #300747), condrodiasplasia punctata ligada al cromosoma X, (CPDX1 #302950), estatura baja (SHOX # 312865) y albinismo ocular (OA1 #300500)(52).

Respecto a la duplicación Xp22.31 de 218.6 Kb como se muestra en la Tabla 12, se han reportado un gran espectro de manifestaciones clínicas, así como una alta heterogeneidad en cuanto al tamaño y al número de genes involucrados. Lo que queda completamente claro es que es una región altamente sensible a dosis, aunque en nuestra paciente la deleción es de las mas pequeñas en comparación con las ya reportadas en la literatura y solo afecta a dos genes, el que se duplica de manera completa es *VCX3B* y de manera parcial *ANOS1* que de acuerdo a la base de datos Franklin by genoox no hay información suficiente respecto a la triplosensibilidad de estos genes, se hace una comparación respecto a las características clínicas de estos pacientes así como nuestro caso índice coincidiendo algunas dismorfias faciales, no así el pezón supernumerario el cual no se ha reportado como distinción de esta duplicación.

Por parte del servicio neurología se realizó RT-PCR para virus del Zika como abordaje inicial de microcefalia la cual fue positiva, sin embargo, esta infección solo explicaba la microcefalia y las calcificaciones intracraneales no así las dismorfias faciales, pezón supernumerario, cardiopatía congénita, cuadriparesia espástica.

Tabla12. CNV (duplicaciones/triplicaciones) asociadas a Xp22.31

Autores	Polo-Antúnez 2017(53) n=1	Pavone 2018(54) n=1	Pengfei Liu 2011(55) n=14	Faletra Favio 2011(56) n=1	Feng Li 2010(57) n=23	Probando
Sexo	F	M	F(n=3)/ M(n=11)	M	F(n=12) M(n=11)	F
Tamaño	1.6 Mb	1.5 Mb	350 Kb - 1.9 Mb	1.5 Mb	149 Kb - 1.9 Mb	218 Kb
Genes	<i>PUDP, STS, VCX, y PNPLA4</i>	<i>HDHD1, STS, VCX, y PNPLA4</i>	<i>FAM9A, ANOS1, VCX3B VCX2 PNPLA4 VCX STS HDHD1A VCX3A</i>	<i>STS, VCX2</i>	<i>VCX3A, HDHD1A, STS, VCX, PNPLA4, VCX2</i>	<i>VCX3B ANOS1(exones 1-10)</i>
Características clínicas	Fenotipo normal Cuadriparesia, epilepsia	Retraso del lenguaje Microcefalia Trigonocefalia Sutura metópica prominente Facies triangular Filtrum plano Retrognatia	RGND Convulsión Hipotonía TEA Macrocefalia Microcefalia IRM alterada EEG alterado	Talla baja Microcefalia Frente prominente Pabellones auriculares anormales Epicanto Ptosis Filtrum largo	Talla baja Microcefalia Frente prominente Epicanto Ptosis Filtrum largo RGND/DI Hipotonía Convulsiones	Microcefalia Estrechamiento bifrontal Cejas arqueadas Puente nasal ancho Pezones supernumerarios

IRM: Imagen por resonancia magnética. EEG: Electroencefalograma

10.- CONCLUSIONES

Respecto a el abordaje diagnóstico en pacientes con RGND/DI, MC, y/o TEA el primer nivel de evaluación es la identificación de VNC cuyo rendimiento máximo a lo largo de la experiencia de su uso no va más allá del 20%, lo que permite lograr un diagnóstico causal, para con ello brindar un asesoramiento de certeza y una intervención familiar que permita el uso de técnicas reproductivas para diagnóstico prenatal. En la actualidad, nuevas tecnologías permiten identificar las causas genéticas de causa monogénica, las cuales incluyen la secuenciación masiva en paralelo de la región codificante de genes, grupo de genes (secuenciación de exoma clínico), o secuenciación de exoma completo e incluso nos encontramos en la era de la secuenciación del genoma completo. Con el advenimiento de las nuevas tecnologías y las lecturas cada vez mas amplias nos permitirá con un solo ensayo no solo identificar variantes de un solo nucleótido, sino también grandes deleciones y duplicaciones del material genético lo que cambiará los algoritmos diagnósticos. Actualmente las principales limitaciones, para concluir un estudio molecular es el costo que estas tecnologías conllevan, por lo que en futuras generaciones muy probablemente esto disminuya, lo que nos permitirá lograr una medicina de precisión. Se tienen que continuar llevando a cabo más estudios para que en México podamos generar la epidemiología molecular suficiente para lograr una medicina eficiente.

11.- BIBLIOGRAFÍA

1. Kvarnung M, Nordgren A. Intellectual disability & rare disorders: A diagnostic challenge. *Adv Exp Med Biol.* 2017;1031:39–54.
2. Reichenberg A, Cederlöf M, McMillan A, Trzaskowski M, Kapara O, Fruchter E, et al. Discontinuity in the genetic and environmental causes of the intellectual disability spectrum. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2016;113(4):1098–103.
3. Maulik PK, Mascarenhas MN, Mathers CD, Dua T, Saxena S. Prevalence of intellectual disability: A meta-analysis of population-based studies. *Res Dev Disabil.* 2011;32(2):419–36.
4. Lazcano-Ponce E, Katz G, Rodríguez-Valentín R, de Castro F, Allen-Leigh B, Márquez-Caraveo ME, et al. The intellectual developmental disorders Mexico study: Situational diagnosis, burden, genomics and intervention proposal. *Salud Publica Mex.* 2016;58(6):694–707.
5. Purugganan O. Intellectual disabilities. *Pediatr Rev.* 2018;39(6):299–309.
6. Flore LA, Milunsky JM. Updates in the Genetic Evaluation of the Child with Global Developmental Delay or Intellectual Disability. *Semin Pediatr Neurol.* 2012;19(4):173–80.
7. Diagn C. American psychiatric association. Vol. 9, *Archives of Neurology And Psychiatry.* 1923. 636 p.
8. American Psychiatric Association. American psychiatric association. Vol. 9, *Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales DSM V.* 2014. 636 p.
9. Yim S-Y. Diagnostic approach for genetic causes of intellectual disability. *J Genet Med.* 2015 Jun 30;12:6.
10. Jauhari P, Boggula R, Bhave A, Bhargava R, Singh C, Kohli N, et al. Aetiology of intellectual disability in paediatric outpatients in Northern India. *Dev Med Child Neurol.* 2011;53(2):167–72.
11. Huang J, Zhu T, Qu Y, Mu D. Prenatal, perinatal and neonatal risk factors for intellectual disability: A systemic review and meta- Analysis. *PLoS One.*

- 2016;11(4):1–12.
12. Tomac V, Pušeljić S, Škrlec I, Anđelić M, Kos M, Wagner J. Etiology and the Genetic Basis of Intellectual Disability in the Pediatric Population. *Southeast Eur Med J.* 2017;1(1):144–53.
 13. Vissers LELM, Gilissen C, Veltman JA. Genetic studies in intellectual disability and related disorders. *Nat Rev Genet.* 2016;17(1):9–18.
 14. Grozeva D, Carss K, Spasic-Boskovic O, Tejada MI, Gecz J, Shaw M, et al. Targeted Next-Generation Sequencing Analysis of 1,000 Individuals with Intellectual Disability. *Hum Mutat.* 2015;36(12):1197–204.
 15. Gregorio E Di, Riberi E, Belligni EF, Biamino E, Spielmann M, Ala U, et al. CNVs analysis in a cohort of isolated and syndromic DD/ID reveals novel genomic disorders, position effects and candidate disease genes. 2017;
 16. Wang J, Wang Y, Wang L, Chen WY, Sheng M. The diagnostic yield of intellectual disability: Combined whole genome low-coverage sequencing and medical exome sequencing. *BMC Med Genomics.* 2020;13(1):1–15.
 17. Watson CT, Tomas M-B, Sharp AJ, Mefford HC. The Genetics of Microdeletion and Microduplication Syndromes: An Update. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2014 Aug 31;15(1):215–44.
 18. Cantón SBF, Trujillo GG, Uribe RV. Bol Med Hosp Infant Mex Principales causas de mortalidad infantil en México: tendencias recientes estadísticas vitales. *Bol Med Hosp Infant Mex.* 2012;69(2):144–8.
 19. Vishnu Tewari V, Mehta R, Tewari K. Dymorphic Neonate: An Approach to Diagnosis in The Current Era. *Pediatr Dimens.* 2016;1(1):8–14.
 20. Oxford Desk Reference-Clinical Genetics and Genomics, 2e (Nov 7, 2017)_ (0199557500)_ (Oxford University Press).pdf.
 21. Kim AY, Bodurtha JN. Dymorphology. *Pediatr Rev.* 2019;40(12):609–18.
 22. Corsello G, Giuffrè M. Congenital malformations. *J Matern Neonatal Med.* 2012;25(SUPPL. 1):25–9.
 23. Millichap JG. Causes of Congenital Malformations. *Pediatr Neurol Briefs.* 2002;16(4):25.
 24. Castillo-Cadena J, Mejia-Sanchez F, López-Arriaga JA. Congenital

- malformations according to etiology in newborns from the floricultural zone of Mexico state. *Environ Sci Pollut Res*. 2017;24(8):7662–7.
25. Lalonde E, Rentas S, Lin F, Dulik MC, Skraban CM, Spinner NB. Genomic Diagnosis for Pediatric Disorders: Revolution and Evolution. *Front Pediatr*. 2020;8(July):1–24.
 26. Cheung SW, Bi W. Novel applications of array comparative genomic hybridization in molecular diagnostics. *Expert Rev Mol Diagn*. 2018;18(6):531–42.
 27. De Ravel TJJ, Devriendt K, Fryns JP, Vermeesch JR. What's new in karyotyping? The move towards array comparative genomic hybridisation (CGH). *Eur J Pediatr*. 2007;166(7):637–43.
 28. Deshpande A, White PS. DNA Microarrays and Genetic Testing [Internet]. *Molecular Diagnostics: Third Edition*. Elsevier Ltd; 2017. 327–337 p.
 29. Solinas-Toldo S, Lampel S, Stilgenbauer S, Nickolenko J, Benner A, Döhner H, et al. Matrix-based comparative genomic hybridization: Biochips to screen for genomic imbalances. *Genes Chromosom Cancer*. 1997;20(4):399–407.
 30. Pinkel D, Seagraves R, Sudar D, Clark S, Poole I, Kowbel D, et al. High resolution analysis of DNA copy number variation using comparative genomic hybridization to microarrays. *Nat Genet*. 1998;20(2):207–11.
 31. Cai WW, Mao JH, Chow CW, Damani S, Balmain A, Bradley A. Genome-wide detection of chromosomal imbalances in tumors using BAC microarrays. *Nat Biotechnol*. 2002;20(4):393–6.
 32. Haraksingh RR, Abyzov A, Gerstein M, Urban AE, Snyder M. Genome-wide mapping of copy number variation in humans: Comparative analysis of high resolution array platforms. *PLoS One*. 2011;6(11).
 33. Manning M, Hudgins L. Array-based technology and recommendations for utilization in medical genetics practice for detection of chromosomal abnormalities. *Genet Med*. 2010;12(11):742–5.
 34. Aksglaede L, Jensen RB, Carlsen E, Kok P, Keenan DM, Veldhuis J, et al. Genomic imbalances in neonates with birth defects: high detection rates by using chromosomal microarray analysis. *Pediatrics*. 2013;122(6):1310–8.

35. De Vries BBA, Pfundt R, Leisink M, Koolen DA, Vissers LELM, Janssen IM, et al. Diagnostic genome profiling in mental retardation. *Am J Hum Genet.* 2005;77(4):606–16.
36. Shaffer LG, Kashork CD, Saleki R, Rorem E, Sundin K, Ballif BC, et al. Targeted genomic microarray analysis for identification of chromosome abnormalities in 1500 consecutive clinical cases. *J Pediatr.* 2006;149(1).
37. Miné, Manuèle; Chen J, Desguerre I, Marchant D, Abitbol M, Ricquier D, Lonlay P De, et al. Rapid communication a Large Genomic Deletion in the PDHX Gene Caused by the Retrotranspositional Insertion of a Full-Length LINE-1 Element. *Hum Mutat.* 2006;0(April):1–6.
38. Pickering DL, Eudy JD, Olney AH, Dave BJ, Golden D, Stevens J, et al. Array-based comparative genomic hybridization analysis of 1176 consecutive clinical genetics investigations. *Genet Med.* 2008;10(4):262–6.
39. Borlot F, Regan BM, Bassett AS, Stavropoulos DJ, Andrade DM. Prevalence of pathogenic copy number variation in adults with pediatric-onset epilepsy and intellectual disability. *JAMA Neurol.* 2017;74(11):1301–11.
40. Riggs ER, Andersen EF, Cherry AM, Kantarci S, Kearney H, Patel A, et al. Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen). *Genet Med.* 2020;22(2):245–57.
41. McGowan-Jordan. ISCN 2016. McGowan-Jordan J, Simons A, Schmid M, editors. S. Karger AG; 2016. Available from:
42. Costales JL, Kolevzon A. Phelan–McDermid Syndrome and SHANK3: Implications for Treatment. *Neurotherapeutics.* 2015;12(3):620–30.
43. Ricciardello A, Tomaiuolo P, Persico AM. Genotype–phenotype correlation in Phelan-McDermid syndrome: A comprehensive review of chromosome 22q13 deleted genes. *Am J Med Genet Part A.* 2021;185(7):2211–33.
44. Monteiro P, Feng G. SHANK proteins: Roles at the synapse and in autism spectrum disorder. *Nat Rev Neurosci.* 2017;18(3):147–57.
45. De Rubeis S, Siper PM, Durkin A, Weissman J, Muratet F, Halpern D, et al.

- Delineation of the genetic and clinical spectrum of Phelan-McDermid syndrome caused by SHANK3 point mutations. *Mol Autism*. 2018;9(1):1–20.
46. Serrano-Gomez SJ, Maziveyi M, Alahari SK. Regulation of epithelial-mesenchymal transition through epigenetic and post-translational modifications. *Mol Cancer*. 2016;15(1):1–14.
 47. Cuevas-Covarrubias SA, González-Huerta LM. Analysis of the VCX3A, VCX2 and VCX3B genes shows that VCX3A gene deletion is not sufficient to result in mental retardation in X-linked ichthyosis. *Br J Dermatol*. 2008;158(3):483–6.
 48. Young Hee Choi and A-MY. HHS Public Access. *Physiol Behav*. 2019;176(3):139–48.
 49. Topaloğlu AK. Update on the Genetics of Idiopathic Hypogonadotropic Hypogonadism. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2017;9(Suppl 2):113–22.
 50. Gonçalves CI, Fonseca F, Borges T, Cunha F, Lemos MC. Expanding the genetic spectrum of ANOS1 mutations in patients with congenital hypogonadotropic hypogonadism. *Hum Reprod*. 2017;32(3):704–11.
 51. Meczekalski B, Podfigurna-Stopa A, Smolarczyk R, Katulski K, Genazzani AR. Kallmann syndrome in women: From genes to diagnosis and treatment. *Gynecol Endocrinol*. 2013;29(4):296–300.
 52. Carrascosa Romero MC, Suela Rubio J, Alfaro Ponce B, Cepillo Boluda AJ. Ictiosis ligada al cromosoma X asociada a epilepsia, hiperactividad, autismo y retraso mental, por microdelección Xp22.31. *Rev Neurol*. 2012;54(04):241.
 53. Polo-Antúnez A, Arroyo-Carrera I. Severe Neurological Phenotype in a Girl with Xp22.31 Triplication. *Mol Syndromol*. 2017;8(4):219–23.
 54. Pavone P, Corsello G, Marino S, Ruggieri M, Falsaperla R. Microcephaly/trigonocephaly, intellectual disability, autism spectrum disorder, and atypical dysmorphic features in a boy with Xp22.31 duplication. *Mol Syndromol*. 2019;9(5):253–8.
 55. Liu P, Erez A, Nagamani SCS, Bi W, Carvalho CMB, Simmons AD, et al. Copy number gain at Xp22.31 includes complex duplication rearrangements and recurrent triplications. *Hum Mol Genet*. 2011;20(10):1975–88.

56. Faletra F, D'Adamo AP, Rocca MS, Carrozzi M, Perrone MD, Pecile V, et al. Does the 1.5Mb microduplication in chromosome band Xp22.31 have a pathogenetic rol. New contribution and a review of the literature. *Am J Med Genet Part A*. 2012;158 A(2):461–4.
57. Li F, Shen Y, Köhler U, Sharkey FH, Menon D, Coulleaux L, et al. Interstitial microduplication of Xp22.31: Causative of intellectual disability or benign copy number variant, *Eur J Med Genet [Internet]*. 2010;53(2):93–9.