

11216  
4

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL.  
UNIDAD DE INVESTIGACION EN GENETICA HUMANA,  
HOSPITAL DE PEDIATRIA,  
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI.  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO.  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO.  
FACULTAD DE MEDICINA

“ESTUDIO FAMILIAR DE UN REARREGLO EN EL CROMOSOMA 22,  
ALTERACIONES FENOTIPICAS ASOCIADAS Y SU RELACION CON  
PREDISPOSICION A NEOPLASIAS”.

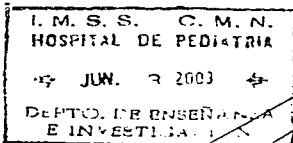
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO GENETISTA

P R E S E N T A :

VERONICA OLVERA SUMANO.



TUTORES:

- DR. FABIO A. SALAMANCA GOMEZ.
- DR. ROBERTO GUEVARA YAÑEZ.

ASESORES:

- DRA. VIRGINIA PALMA PADILLA.
- DR. JUAN MANUEL MEJIA.



DIVISION DE ESPECIALIZACION  
UNIDAD DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
FACULTAD DE MEDICINA

2002

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

1



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

## INDICE

	PAG.
I. RESUMEN	3
II. JUSTIFICACION	6
III. MARCO TEORICO	26
IV. OBJETIVOS	
a. General	26
b. Específicos	27
V. HIPOTESIS	28
VI. DISEÑO DE LA INVESTIGACION	29
VII. MATERIAL Y METODOS	31
VIII. RESULTADOS	33
IX. DISCUSION	45
X. CONCLUSIONES	58
XI. REFERENCIAS	61
XII. ANEXOS	71

Autorizo a la Direccion General de Biblioteca,  
UNAM a difundir en formato electronico e impreso,  
con unido de mi trabajo investigativo.  
NOMBRE: Veronica Rivera  
Jimenez  
FECHA: 05 Junio 2003  
FIRMA: \_\_\_\_\_

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## I. RESUMEN.

Todo ser vivo, se encuentra genéticamente determinado, por tanto, cada organismo es poseedor de un genoma particular que contiene la información biológica necesaria para construir y mantener a través de generaciones sucesivas una especie determinada. Éste, se encuentra constituido por ácido desoxirribonucleico (DNA), a excepción de algunos genomas vírales; en los que la información genética se encuentra contenida en moléculas de ácido ribonucleico (RNA). En las células eucariotas las moléculas individuales de DNA se localizan en los cromosomas del núcleo y mitocondrias (19).

Las alteraciones en la estructura cromosómica pueden ser por pérdida de un segmento (delección), pérdida de los segmentos distales con unión de los extremos (anillo), duplicación de un segmento cromosómico (duplicación), ruptura y rotación  $180^\circ$  de un segmento cromosómico sobre sí mismo (inversión), ruptura e intercambio de segmentos entre dos cromosomas (translocación), esta última de enorme importancia ya que durante meiosis los cromosomas portadores de una translocación formarán cuadrivalentes en vez de los bivalentes normales, estos pueden segregarse de diferentes formas y originar gametos balanceados o desbalanceados (19).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Dichos cromosomas y sus alteraciones son visibles al microscopio óptico, y gracias a esto se ha podido determinar la etiología de muchas enfermedades causadas por alteraciones en el genoma que se hacen visibles al encontrarse también alterada la estructura cromosómica, sin embargo, ciertas alteraciones escapaban al ojo humano con la utilización de la simple microscopía óptica(19).

La solución a dicho problema ha sido la aplicación de técnicas de citogenética molecular como lo es la *Hibridación In Situ Fluorescente(FISH)*.

Muchas translocaciones recíprocas no robertsonianas en humanos son únicas con respecto a ambos: tanto tipo de cromosomas como puntos de ruptura involucrados, por lo tanto es poco común que sean repetitivas, la excepción a la regla es la  $t(11;22)(q23;q11)$ , ya que es la única translocación no robertsoniana recurrente reportada hasta el momento en humanos (3).

Con la presente investigación pretendemos, mediante la aplicación de *FISH* poner de manifiesto la utilidad de dichas técnicas para realizar correctamente una correlación fenotipo-genotipo en pacientes portadores de translocación cromosómica, así como la correlación y ubicación de puntos de ruptura con un fenotipo de susceptibilidad a neoplasia.

Se realiza estudio clínico, citogenético con técnica de bandas G y citogenético molecular, así como la correlación respectiva en una familia mexicana cuyo propositus cursa con malformaciones múltiples y retardo mental, quién citogenéticamente presenta translocación 22-autosoma y su progenitora resulta ser portadora de translocación balanceada 22-autosoma. Dentro de los antecedentes heredofamiliares se encuentra el fallecimiento de la abuela materna

del paciente propositus debido a un cuadro de leucemia mieloide aguda y antecedentes de abortos repetitivos en la misma.

Mediante la aplicación de la técnica de FISH, se documenta que el otro autosoma implicado corresponde al cromosoma 11, y no se encontraron más familiares portadores de dicha translocación. El genotipo-fenotipo del paciente portador de la translocación desbalanceada correspondió con un síndrome de derivativo 22.

La paciente portadora de translocación balanceada se encuentra aparentemente sana, sin embargo, dentro de los puntos tratados en el asesoramiento genético se incluyó la recomendación de auscultaciones periódicas de mama, ya que dentro de lo reportado en la literatura se encuentra una incidencia 10 veces más elevada entre los portadores de translocación balanceada 11;22 que en la población general para padecer cáncer de mama.

La aplicación de las técnicas de citogenética molecular resultan ser una herramienta de vital importancia para el diagnóstico correcto de una infinidad de alteraciones cromosómicas que con las técnicas habituales resultaría imposible observar y por lo tanto deberían pasar a formar parte de las técnicas de rutina en los laboratorios de citogenética de las instituciones de salud ya que los diagnósticos serían realizados con más fidelidad.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## II. JUSTIFICACION

La genética, como ciencia, se encarga de estudiar el funcionamiento y organización del material genético que constituye a todo organismo viviente (genoma). Este material genético, constituido en el humano por veintitrés pares de moléculas de DNA de doble cadena superenrolladas junto con una serie de proteínas especiales forman estructuras complejas llamadas cromosomas, dichos cromosomas son visibles al microscopio óptico, y gracias a esto se ha podido determinar la etiología de muchas enfermedades causadas por alteraciones en el genoma que se hacen visibles al encontrarse alterado el número o la estructura cromosómica (19).

Sin embargo, ciertas alteraciones escapan al ojo humano con la utilización de la simple microscopía óptica, ya sea porque el tamaño del segmento cromosómico es demasiado pequeño, porque resulta casi imposible discernir a que cromosoma pertenece algún fragmento, o bien se trata de alteraciones que involucran el intercambio de segmentos entre cromosomas (translocación) cuyos puntos de ruptura se encuentran en zonas crípticas (con patrón de bandeo similar) que pueden escapar al ojo humano (19).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

La solución a dicho problema ha sido la aplicación de técnicas de citogenética molecular como lo es la *Hibridación In Situ Fluorescente (FISH)*. El principio básico de ésta técnica molecular es la utilización de sondas para hibridación ya disponibles a nivel comercial. Dichas sondas no son más que un segmento cromosómico específico marcado con un fluorocromo (sondas secuencia específicas), estos segmentos pueden ser también de centrómeros (centroméricas) o en su defecto contener varios segmentos (marcados con el mismo fluorocromo) de un cromosoma determinado de tal manera que una vez realizada la hibridación aunque ésta fue hecha sólo en ciertos segmentos, la microscopía de fluorescencia detecta sólo una señal, como si se hubiese hibridado todo el cromosoma marcado (painting)(19).

Para realizar la hibridación se necesita obtener un cultivo de sangre periférica del paciente problema y llevar a efecto el procedimiento habitual para obtener metafases. Una vez efectuado este procedimiento la muestra se desnaturaliza para posteriormente hibridar a una temperatura determinada la sonda con las metafases del paciente propositus.

Posteriormente se realiza el análisis de dicho procedimiento mediante microscopía de fluorescencia.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Con el presente trabajo pretendemos, mediante la aplicación de *FISH* poner de manifiesto la utilidad de dichas técnicas para realizar correctamente una correlación fenotipo-genotipo en pacientes portadores de translocación cromosómica, así como la correlación y ubicación de puntos de ruptura con un fenotipo de susceptibilidad a neoplasia.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

### III. MARCO TEORICO.

Todo ser vivo, se encuentra genéticamente determinado, por tanto, cada organismo es poseedor de un genoma particular que contiene la información biológica necesaria para construir y mantener a través de las generaciones una especie . (10)

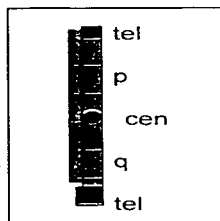
La mayoría de los genomas están constituidos por ácido desoxirribonucleico (DNA), a excepción de algunos genomas vírales en los que la información genética se encuentra contenida en moléculas de ácido ribonucleico (RNA) . En las células eucariotas las moléculas individuales de DNA se localizan en los cromosomas del núcleo y mitocondrias. (19)

En la especie humana encontramos un número constante de cromosomas nucleares en las células somáticas, que corresponde a  $46(2n$  o número diploide) ordenados en 23 pares, numerados del uno al veintidós se denominan autosomas, y el par veintitrés corresponde a los cromosomas sexuales o gonosomas, mientras que en las células germinales encontraremos sólo 23 cromosomas ( $n$  o número haploide) y el cromosoma 23 en el caso de gametos de sujetos femeninos siempre será: X, en tanto que en gametos de sujetos masculinos, el 50% portará cromosoma X, y el otro 50% un cromosoma Y ( 19 ).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

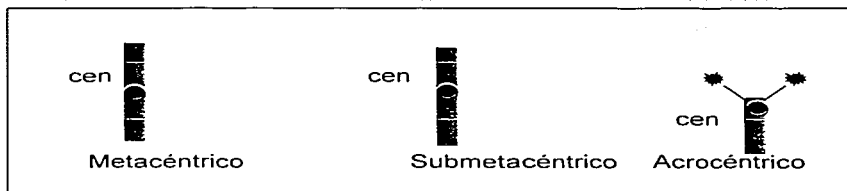
En la estructura de dichos cromosomas podemos distinguir diferentes partes: Un brazo corto (p), brazo largo(q), centrómero (cen) y telómeros (tel) (ver figura 1)

Figura 1.  
Estructura  
de un  
cromosoma



Según la posición del centrómero los cromosomas se clasifican en: metacéntricos (el centrómero se encuentra ubicado en la parte media), submetacéntricos ( el centrómero se encuentra parcialmente desplazado hacia alguno de los extremos ) y acrocéntricos ( el centrómero se encuentra totalmente desplazado hacia un extremo) . (ver figura 2)

Figura 2. Clasificación de los cromosomas de acuerdo a posición del centrómero.



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Se denomina aberración cromosómica a toda alteración en número o estructura de los mismos. Las alteraciones en número, múltiplos del número haploide son denominadas **euploidías**, en tanto que las alteraciones que no son múltiplo del número haploide son denominadas **aneuploidías** (trisomías-monosomías, etc. ) (19).

Las alteraciones en la estructura cromosómica pueden ser por pérdida de un segmento (delección), pérdida de los segmentos distales con unión de los extremos (anillo), duplicación de un segmento cromosómico (duplicación), ruptura y rotación  $180^\circ$  de un segmento cromosómico sobre sí mismo (inversión), ruptura e intercambio de segmentos entre dos cromosomas (translocación), ésta última de enorme importancia ya que durante meiosis los cromosomas portadores de una translocación formarán cuadrivalentes en vez de los bivalentes normales, estos pueden segregarse de diferentes formas y originar gametos balanceados o desbalanceados (19).

Todas las translocaciones cromosómicas en su estado desbalanceado tienen repercusiones negativas sobre el fenotipo (traduciéndose como malformaciones físicas, retraso mental, alteraciones en órganos y sistemas de diferentes tipos), esto como consecuencia de los cambios que sufre el código genético (dependiendo de la región de DNA [codificante o no codificante] en las que inciden dichas aberraciones), ya que pueden producir modificaciones en el nivel de expresión de ciertos genes (4).

Las translocaciones pueden ser recíprocas o no, e implicar cromosomas homólogos o no homólogos. Un tipo especial de translocación es la fusión céntrica o robertsoniana que ocurre entre cromosomas acrocéntricos ( la cual ha desempeñado una importante función en la evolución al permitir la reducción del número cromosómico en las especies) (19). Estos rearrreglos estructurales cromosómicos ocurren en forma común en la población general (15).

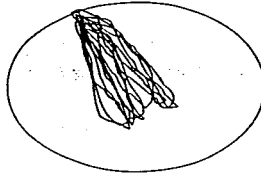
Se ha estimado que una de cada dos mil personas es portadora de una translocación balanceada de novo y presenta riesgo de tener hijos con translocación no balanceada, así mismo, la frecuencia de abortos es veinte veces más común en parejas con translocación balanceada que en la población general (9)-(41).

Para poder comprender con claridad el mecanismo que lleva a las translocaciones no balanceadas, es indispensable realizar una revisión rápida al proceso de división realizado por las células germinales con la finalidad de obtener gametos que contienen el número cromosómico haploide ( $23n$ ), este proceso recibe el nombre de meiosis, y consiste en dos divisiones celulares sucesivas (primera y segunda división meiótica) con una sola duplicación previa del material genético(19).

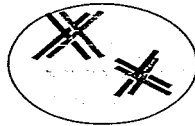
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**La profase de la primera división meiótica consta de cinco etapas:**

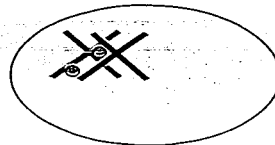
**Leptotene:** Los cromosomas aparecen como finos filamentos ( 19 ).



**Cigotene:** Los cromosomas homólogos se aparean (sinapsan) en toda su longitud (gracias a la formación del complejo sinaptonémico entre ellos) formando los llamados bivalentes. (en este caso, esquematizamos los cromosomas homólogos en color diferente) (19).

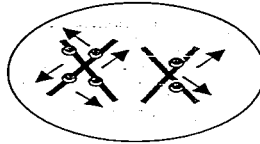


**Paquitene:** los cromosomas homólogos forman una tétrada y se lleva a cabo un entrecruzamiento o intercambio de material genético en diferentes puntos a lo largo de ellos, y a los puntos de entrecruzamiento entre cromosomas homólogos se les llama quiasmas (en rojo) (19).

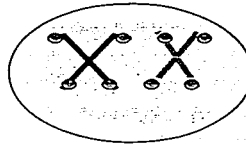


TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**Diploteno:** Los cromosomas homólogos se separan, a medida que progresa el diploteno, los quiasmas realizan un movimiento hacia los extremos en un proceso llamado terminalización (19).



**Diacinesis:** Los quiasmas han completado la terminalización( 19 ) .



**Metafase de la primera división meiótica:** los cromosomas bivalentes se colocan en el plano ecuatorial de la célula, orientando sus extremos hacia cada uno de los polos(19).



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**Anafase de la primera división meiótica:** los dos cromosomas de cada par se separan dirigiéndose cada uno de ellos al polo celular correspondiente (19).



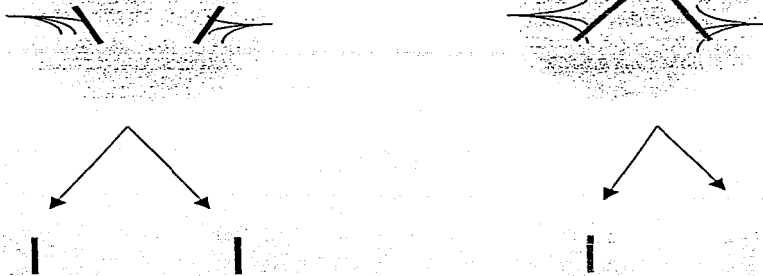
**Telofase de la primera división meiótica:** se completa la primera división de meiosis, la cual es seguida después de un breve período intercinético por la meiosis II sin que ocurra nueva síntesis de DNA (19).



Durante la **metafase II** los cromosomas se colocan en el plano ecuatorial de la célula y en la **anafase II** ocurre la división longitudinal del centrómero. La migración hacia los polos se completa en la **telofase II**. Por consiguiente, cada una de las dos células obtenidas en la meiosis I originará a su vez otras dos (o sea cuatro en total). Cada uno de estos gametos tendrá un número simple o haploide de 23 cromosomas (19).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN





Se deben mencionar algunos hechos relacionados con la segregación en meiosis de las translocaciones; cuando los cromosomas de una persona portadora de translocación recíproca balanceada se aparean en meiosis, se forma un cruadrivalente (*ver figura 3*) y la segregación puede seguir cualquiera de las siguientes posibilidades:

**Segregación alterna.** Cuando los centrómeros alternos (de cromosomas no homólogos) segregan al mismo polo y por tanto pasan al mismo gameto, obteniéndose un gameto normal y un gameto translocado balanceado (*ver figura 4*).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**Adyacente-1** Los cromosomas adyacentes con centrómeros no homólogos segregan al mismo gameto, obteniéndose como resultado dos gametos translocados desbalanceados (ver figura 5).

**Adyacente-2** Los cromosomas adyacentes con centrómeros homólogos segregan al mismo gameto (ver figura 6).

**Segregación 3:1** Como su nombre lo indica, tres cromosomas segregan hacia un gameto y un cromosoma hacia otro gameto. (Figuras 7 y 7A)

Figura 3. Ilustra los cromosomas translocados, así como la formación del cuadrivalente en meiosis.

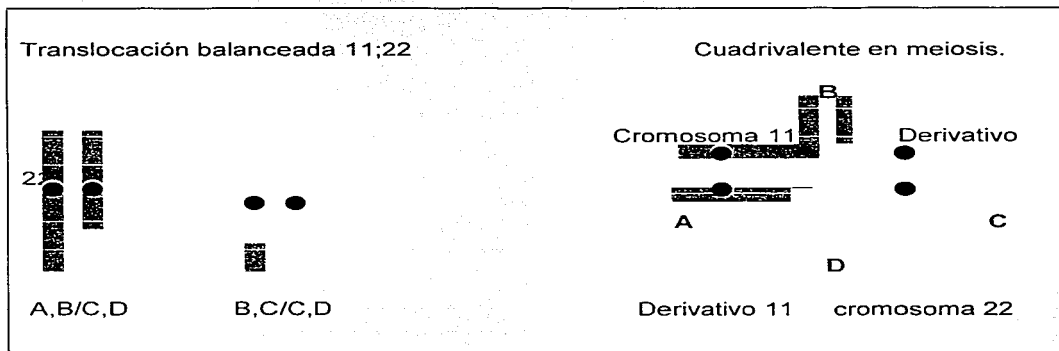


Figura 4. Notese que los gametos  
Resultan o normales o balanceados.



Figura 5. Notese que los gametos  
Resultan en estado desbalanceado.



Figura 6. Notese que el resultado es  
gametos desbalanceados

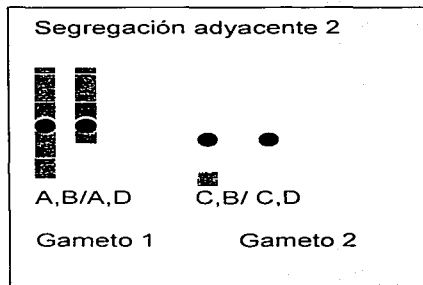
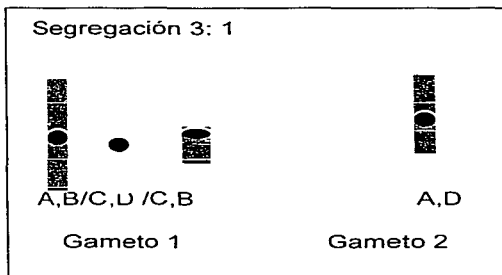
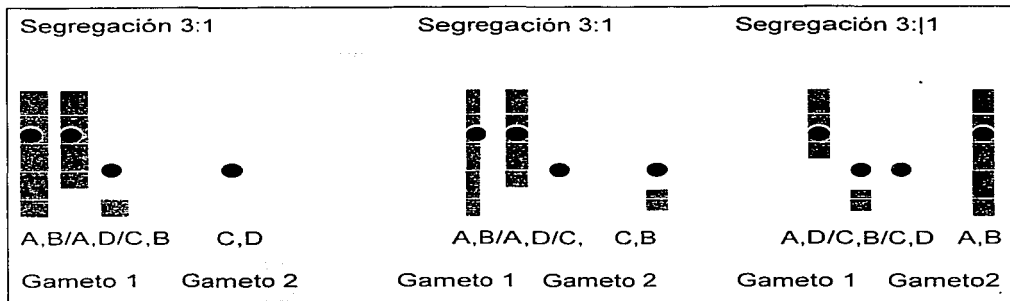


Figura 7. Notese que el resultado es  
gametos desbalanceados



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Figura 7A. En todos los casos se obtiene un gameto desbalanceado.



Dependiendo del tipo de rearrreglo cromosómico y los genes implicados en éste, se encontrará variación en el fenotipo de cada individuo, aún cuando sean miembros de una misma familia, y la expresión del rearrreglo cromosómico dependerá de su estado balanceado o desbalanceado en cada persona, así como de la interacción genotipo medio ambiente (5).

Muchas translocaciones recíprocas no robertsonianas en humanos son únicas con respecto a ambos: tanto tipo de cromosomas como puntos de ruptura involucrados, por lo tanto es poco común que sean repetitivas, la excepción a la regla es la  $t(11;22)(q23;q11)$ , ya que es la única translocación no robertsoniana recurrente reportada hasta el momento en humanos (5).

Las personas portadoras de este rearreglo tienen riesgo de tener hijos con " Síndrome de cromosoma 22 supernumerario o derivativo 22 ", quienes son trisómicos para los segmentos que van de 11q23 a qter y de 22pter a 22q11 (17). Hasta 1992 sólo se había encontrado este estado no balanceado en recién nacidos de personas portadoras balanceadas de t(11;22) cuya nomenclatura de cariotipo es la siguiente:

47, XX ó XY + der 22, t(11;22) (q23.3; q 11.2). ( 6 )

En 1961 Turner y Jennins realizan el primer reporte de más de 50 casos de trisomía 22 ( 57 ).

Hsu y cols en 1971 (26) proponen una nueva entidad clínica refiriéndose a esta aberración cromosómica basándose en las características clínicas y citogenéticas de 13 casos. Y para 1977 Gorlinger (20) realiza nuevamente un estudio de correlación clínico - citogenético de 9 casos para tratar de establecer las características clínicas de la trisomía 22, en las cuales se incluye: retraso mental, malformaciones cardíacas, anomalías esqueléticas, fisuras palpebrales antimongoloides, apéndices o senos preauriculares e implantación baja de pabellones auriculares. En el mismo año Kim y cols (30) reportan un síndrome de trisomía 13 y 22 resultado de una translocación 13;22 (q22;q12) materna, así como Kessel y Pfeiffer (29) reportan el caso de un paciente con derivativo 22 resultado de una translocación 11;22 (q23;q12) materna en el cual se añade a las características antes descritas una severa micro-retrognatia y en el que se concluye que las características fenotípicas encontradas son tanto secundarias a una trisomía 11q, como a una trisomía 22q. Igualmente, en 1977 Bolinger y

Hiroshi y cols (25) en 1979, después de realizar una revisión bibliográfica detallada y basándose en sus propios pacientes concluyen que las características clínicas de la trisomía 22 no han sido bien establecidas ya que existe una gran variación en el fenotipo de los pacientes estudiados y una gran semejanza con el cuadro clínico de la trisomía 11q. Las características clínicas de la trisomía parcial 22q reportadas en este estudio fueron: Retraso mental, microcefalia, fisuras palpebrales antimongoloides, apéndices u hoyuelos preauriculares, implantación baja de pabellones auriculares, paladar hendido, filtrum largo, micrognatia, luxación congénita de cadera, defectos cardiacos estructurales, maduración ósea retardada. Y concluye que el patrón diferencial en los cromosomas y puntos de ruptura son las dos causas de la variación fenotípica en la trisomía parcial 22q(25).

En la actualidad, se ha determinado que las características clínicas para trisomía parcial 22q son: Peso ligeramente bajo al nacimiento, retraso mental, displasia de pabellones auriculares con hoyuelos y apéndices preauriculares, paladar alto y hendido, úvula bifida, exceso de piel en la nuca, malformaciones cardiacas congénitas. Clínicamente la trisomía parcial 22q no parece ser claramente una causa de aborto( 8).

Por otra parte hoy en día sabemos que en la trisomía parcial 11q se han documentado diferentes niveles o puntos de ruptura en el cromosoma 11:

11q23---qter      11q22---qter      11q21---qter      11q14---qter  
11q13---qter

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Los datos clínicos incluyen retardo en el crecimiento de inicio prenatal; retardo psicomotor de moderado a severo, microcefalia, dismorfias craneofaciales (epicanto, fisuras palpebrales antimongoloides, hipertelorismo, nariz corta, filtrum largo, paladar hendido o alto, micrognatia), implantación baja de pabellones auriculares, apéndices preauriculares, apariencia en rayos X de clavícula bipartita, cuello corto, malformaciones cardiacas, cutis laxa, malformaciones del tracto urinario, displasia de pelvis, micropene, defectos del tubo neural y pliegues palmares anormales( 8 )(53) (43),(45), (46),(48).

A continuación se presenta cuadro comparativo de manifestaciones clínicas presentes en ambas alteraciones.

CARACTERISTICA CLINICA	TRISOMIA22	TRISOMIA 11
PESO BAJO AL NACIMIENTO	*	*
RETARDO MENTAL	*	*
MICROCEFALIA	*	*
FISURAS PALPEBRALES ANTIMONGOLOIDES	*	*
APENDICES/HOYUELOS/PREAURICULARES	*	*
IMPLANTACION BAJA DE PAB.	*	*
AURICULARES		
PALADAR ALTO Y/O HENDIDO	*	*

UVULA BIFIDA \*

HIPERTELORISMO \*

EXCESO DE PIEL EN LA NUCA \*

MARFORMACIONES CARDIACAS \*

FILTRUM LARGO \*

EPICANTO \*

NARIZ CORTA \*

MICROGNATIA \*

CLAVICULA BIPARTITA \*

CUELLO CORTO \*

MALFORMACIONES DEL TRACTO URINARIO \*

CUTIS LAXA \*

DISPLASIA DE PELVIS \*

DEFECTOS DEL TUBO NEURAL \*

MICROPENE \*

PLIEGUES PALMARES ANORMALES \*

\*característica clínica presente.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Con el advenimiento de la citogenética molecular en 1980 y la aplicación de ésta tecnología ( *FISH* , CGH [Hibridación genómica Comparativa] y PRINS [Reacción en Cadena de la Polimerasa] ) para el estudio de translocaciones cromosómicas específicas, ha sido posible resolver problemas que con las técnicas habituales de microscopía óptica no había sido posible resolver, tal es el caso de translocaciones recíprocas entre cromosomas, cuyos puntos de ruptura se ubicaban en zonas críticas, la identidad de cromosomas marcadores, establecer la ubicación exacta de un punto de ruptura, etc.(19).

La técnica de Hibridación In Situ Fluorescente, se basa en el uso de una porción de DNA de cadena sencilla marcada (sonda) la cual se alinea con una secuencia blanco complementaria, localizada en el genoma del paciente problema. La sonda se encuentra conjugada con una marca fluorescente o un hapteno; dentro de estos se encuentra la biotina, bromodeoxiuracilo, digoxigenina, dinitrofenol. Los sitios de hibridación pueden ser detectados posteriormente por fluorescencia o por anticuerpos conjugados con compuestos fluorescentes como fluoresceína, rodamina, etc., o bien conjugados a enzimas como peroxidasa o fosfatasa alcalina (19).

Las sondas utilizadas en *FISH* pueden ser de diferentes tipos: las específicas para el centrómero de un determinado cromosoma(centromérica), para alguna región cromosómica en particular(secuencia específica) o bien para el cromosoma completo(painting)(19).

Una ventaja de ésta técnica es que puede ser realizada en células en interfase (período del ciclo celular en el cual no se hacen aparentes los fenómenos de división celular)(19).

La aplicación de dichas técnicas ha ayudado en parte a revelar, entre otras cosas, como los genes que controlan la proliferación celular han sido modificados o desregulados hasta hacerlos oncogénicos(2).

Actualmente se tienen identificados algunos de los genes relacionados con la aparición de cáncer (oncogenes), y se han postulado diferentes mecanismos para el desarrollo tumoral (2).

Se piensa que los genes involucrados en la patogénesis del cáncer actúan por dos mecanismos generales. El primero involucra una alteración estructural de un gen normal (protooncogen) para generar un nuevo gen (oncogen) cuyo producto proteico actúa sobre la célula huésped para inducir características de malignidad. El segundo mecanismo involucra la pérdida o inactivación de genes cuyas proteínas regulan el ciclo celular, los genes de este tipo se conocen como supresores de tumor o antioncogenes.21).

La activación de oncogenes y la pérdida de antioncogenes aportan a la célula neoplásica una ventaja proliferativa, al prevenir su diferenciación normal y muerte subsecuente(2).

Cabe mencionar que dentro de los diferentes mecanismos que llevan a la transformación de estos genes se encuentran las translocaciones, por sólo mencionar un ejemplo, el gen *abl/bcr* producto de la translocación 9;22 (q34;q11) (leucemia mieloide y granulocítica crónica) produce una proteína quimérica con actividad tirosín-quinasa, homóloga a un receptor transmembranal que controla la proliferación celular normal y tiene capacidad oncogénica(19).

Por lo anterior, se ha planteado el cuestionamiento acerca de la posibilidad de que translocaciones hereditarias, dependiendo de los genes que se encuentran involucrados en su punto de ruptura pudiesen condicionar un fenotipo de susceptibilidad a procesos neoplásicos.

#### IV. OBJETIVOS

##### OBJETIVO GENERAL.

A partir de un caso índice, cuyo cariotipo es 47, XY + der (22)(q12), y cuya progenitora presenta un cariotipo 46, XX del (22)(q12), conocer la identidad del otro autosoma implicado así como los puntos de ruptura de la aberración cromosómica detectada en la progenitora, mediante la aplicación de la técnica de *Hibridación in situ Fluorescente (FISH)* para posteriormente realizar la segregación cromosómica, correlacionarlas con el fenotipo de los demás miembros de la familia implicados y conocer si dichas aberraciones cromosómicas pueden predisponer a algún tipo de neoplasia.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## OBJETIVOS ESPECIFICOS.

1. Valoración clínica integral familiar, así como cariotipo por citogenética clásica para detección de los posibles portadores de aberraciones cromosómicas.
2. Mediante técnica de FISH determinar la identidad de los cromosomas implicados; así como puntos de ruptura en portadores detectados por técnica clásica.
3. Realizar la correlación clínica de las alteraciones fenotípicas encontradas, con el tipo de rearreglo cromosómico documentado.
4. Utilizando árbol genealógico familiar, realizar correlación de los resultados de la valoración médica y análisis retrospectivo del curso clínico del proceso neoplásico presentado por la abuela materna del caso propositus, para establecer la correlación entre aberración cromosómica y susceptibilidad a neoplasia en los demás miembros de la familia. Con los resultados obtenidos en la presente investigación, brindar un asesoramiento familiar más completo en cuanto a riesgos tanto para alteraciones en el fenotipo como de susceptibilidad a algún tipo de proceso neoplásico.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## V. HIPOTESIS.

Existen en el cromosoma 22, regiones específicas susceptibles de sufrir fracturas o rupturas (22q11) que pueden inducir translocaciones de un segmento hacia alguno de los cromosomas: 3(p21, q21), 11(q13, q23), 12(p13) y 17(q25) y de acuerdo al patrón de segregación que siguen en los gametos darán origen a diferentes aberraciones cromosómicas, que repercutirán en alteraciones en el fenotipo y en un genotipo de predisposición a neoplasias.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## **VI. DISEÑO DE LA INVESTIGACION.**

Es una investigación de tipo transversal analítico. En el cual se abarcan aspectos clínico-citogenético-oncológicos.

### **UNIVERSO DE TRABAJO:**

#### **A) TAMAÑO:**

Familia mexicana implicada en una translocación (22; autosoma).

#### **B) LUGAR:**

Unidad de Investigación en Genética Humana, Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI.

#### **C) TIEMPO:**

Del 1º de agosto del 2001 al 31 de diciembre del 2002.

### **CRITERIOS DE SELECCIÓN E INCLUSION:**

Familiares consanguíneos por rama directa en árbol genealógico, sin importar edad ni sexo.

### **CRITERIOS DE EXCLUSION:**

Todo aquel familiar que no otorgue el consentimiento.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## VARIABLES:

### Variable independiente:

- Portador de aberración cromosómica
- Edad.
- Sexo

### Variable dependiente:

- Alteraciones fenotípicas.
- Predisposición al proceso neoplásico.

## DEFINICION DE LAS VARIABLES:

Portador: Toda aquella persona que posee alteraciones cromosómicas, las cuales son detectadas mediante análisis citogenético.

Alteración fenotípicas: Características físicas que salen del patrón normal

Aberración cromosómica. Alteración ya sea en el número o estructura de los cromosomas.

Portador balanceado. Estado en el que una aberración cromosómica (translocación) no produce alteraciones en el fenotipo de la persona portadora. Ni alteración en la cantidad de material genético.

Fenotipo. Características físicas de un individuo que se encuentran genéticamente determinadas.

Predisposición. Estado susceptible de presentar o padecer cierta enfermedad.

Cariotipo. Ordenamiento de los cromosomas por tamaño y patrón de bandas.

## VII. MATERIAL Y METODOS

La presente investigación se lleva a cabo con financiamiento del Fondo para el Fomento de la Investigación del Instituto Mexicano del Seguro Social. Número de financiamiento: FP-061-2001

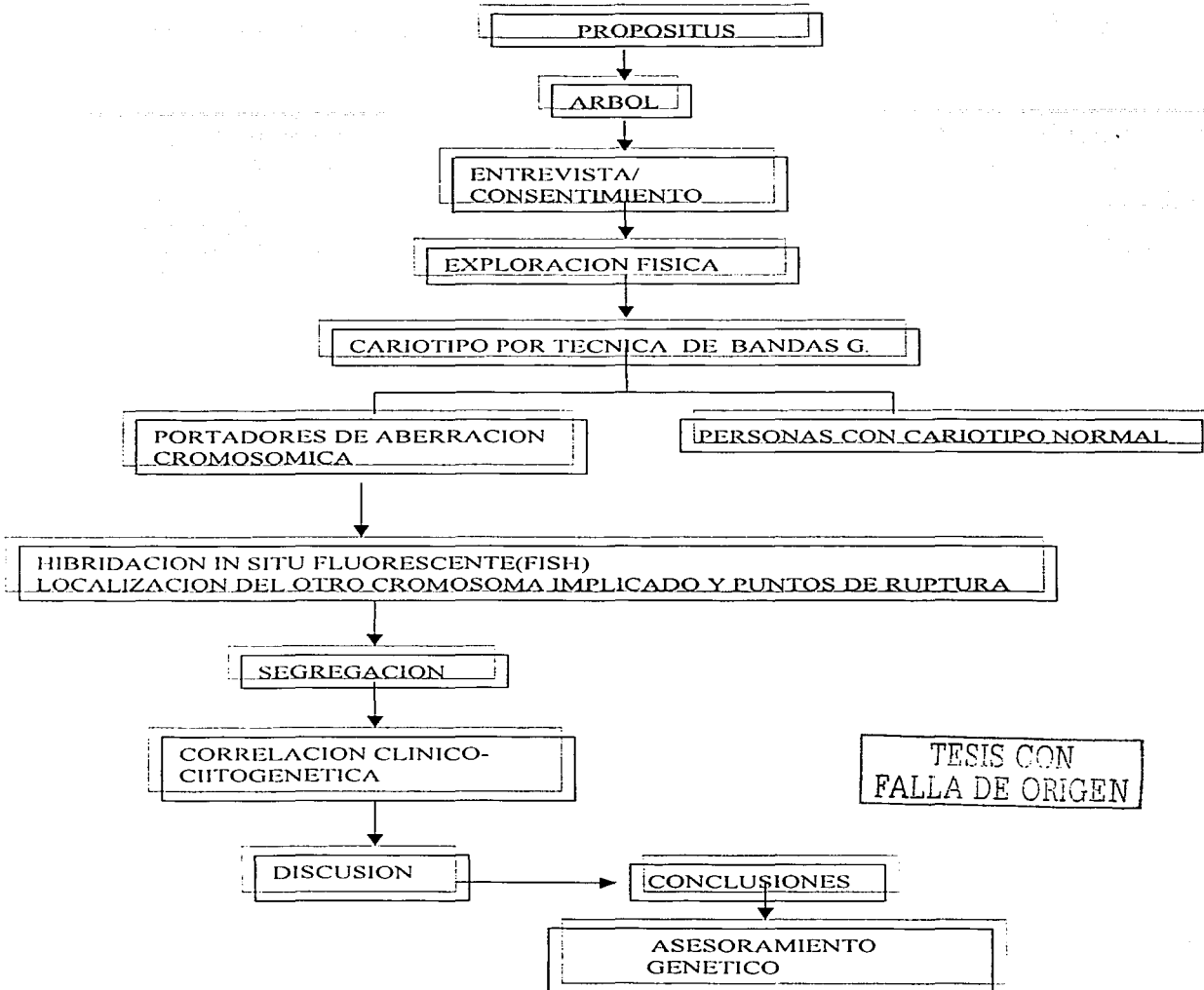
Se realiza árbol genealógico por rama materna del caso índice, posteriormente, examen físico completo incluyendo a todos los familiares hasta la última generación encontrada (anexo 2 y 3). Con previo consentimiento informado y firma de la hoja de autorización correspondiente (anexo 1). Posteriormente, se realiza análisis citogenético por técnica clásica (anexo 4), para la detección de portadores de aberración cromosómica y posteriormente se procede a realizar por medio de citogenética molecular (FISH) (ver anexo 5) la detección del otro cromosoma implicado y establecer puntos de ruptura de la translocación en estudio, utilizando sondas para cromosomas 22, 3, 9, y 11 respectivamente.

Una vez obtenidos estos datos, se realiza el patrón de segregación cromosómica con sus respectivas variantes así como la correlación con las alteraciones fenotípicas documentadas en la historia clínica, comparándola con lo informado en la literatura mundial y mediante análisis clínico-documental se establece la correlación de esta aberración cromosómica con una susceptibilidad genotípica a desarrollar un proceso neoplásico.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

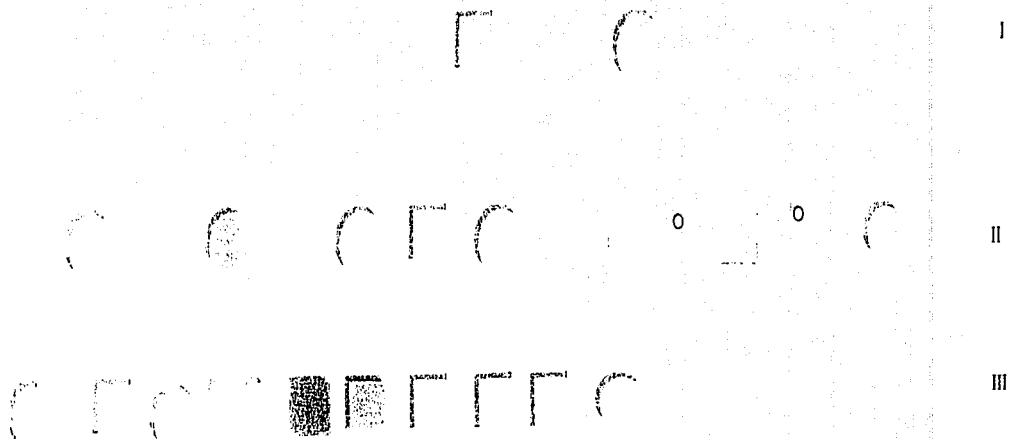


**RUTA CRITICA.**



## VIII.RESULTADOS

### ARBOL GENEALOGICO



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA.



PROPOSITUS

RETARDO PSICOMOTOR  
SECUNDARIO A HIPOXIA



PORTADORA DE TRANSLOCACION BALANCEADA

El paciente propositus es un lactante masculino de 2a7m de edad.

Antecedentes heredofamiliares positivos para procesos neoplásicos ya que la abuela materna fallece a los 37 años de edad por Leucemia Mieloblástica aguda. Un primo hermano con retardo psicomotor, aparentemente secundario a encefalopatía hipóxico-isquémica, antecedentes de consanguinidad y endogamia negados.

Producto de gesta IV, madre de 28 años de edad, apta para la reproducción al momento de la concepción y cuyos antecedentes obstétricos son: Partos:1, Abortos:2, (los cuales fueron en forma espontánea y durante el primer trimestre de la gestación), embarazo de curso tórpido con amenaza de aborto secundario a infección de vías urinarias durante el primer trimestre de la gestación, recibe tratamiento con antibióticos, nace a las 36 semanas de edad gestacional vía cesárea por presentación pélvica y preeclampsia materna, con un peso de 2750g, talla 50cm, perímetro cefálico 33cm, APGAR 7/8 y datos de hipotonía.

A la exploración física presenta micro-dolicocefalia, pabellones auriculares de implantación baja y rotados hacia la parte posterior, poliotia, fistula preauricular de lado derecho, hoyuelos preauriculares, apéndice preauricular derecho, fisuras palabrales antimongoloideas, hipoplasia y asimetría de alas de la nariz, paladar alto, ojival, retrognatía, exceso de piel en la nuca, articulaciones coxofemorales subluxables a maniobras de exploración, pie valgo bilateral, hiperelásticidad cutánea y articular. Desarrollo psicomotor retrasado. **Ver imágenes correspondientes**

TESTS CON  
FALLA DE ORIGEN

A los 18 meses de edad presenta movimientos clónicos y persiste la hipotonía muscular

A través de tomografía axial de cráneo se documentan datos de polimicrogiria en área temporal, así como atrofia cortico-subcortical fronto-temporal bilateral.

Ultrasonido renal sin evidencia de alteraciones morfológicas

Potenciales evocados auditivos con hipoacusia severa mixta, bilateral.

### **FOTOGRAFIAS**

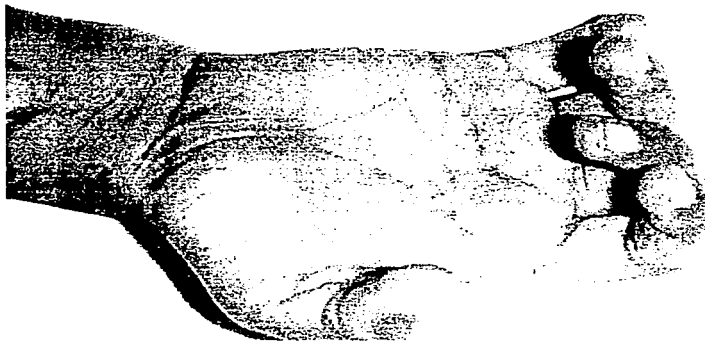


Fotografía de frente de paciente propositus: Observe implantación baja de pabellones auriculares, filtrum largo y prominente, labios gruesos y asimetría de alas de la nariz.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



**Fotografía de perfil de paciente propositus:** Observe la implantación baja de pabellón auricular, rotado hacia la parte posterior y cicatriz de resección de fistula preauricular.

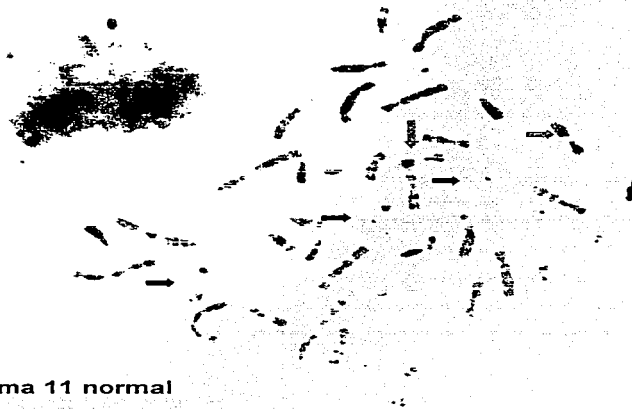


**Fotografía de palma de la mano de paciente propositus:** Notese la alteración en patrón de dermatoglifos.

Se realiza cariotipo convencional con técnica de bandas G, el cual reporta 47, XY q- +der(22) (22q12 → 22pter), por lo anterior se procede a realizar cariotipo a ambos padres con técnica de bandas G encontrando un resultado normal en el caso del padre, en tanto que en el caso de la madre se reporta el siguiente resultado: 46,XX 22q-, sin embargo a través de esta técnica no es posible identificar la identidad del otro cromosoma implicado en la translocación por lo que se procede a la aplicación de técnica de citogenética molecular (*Hibridación In Situ Fluorescente*).

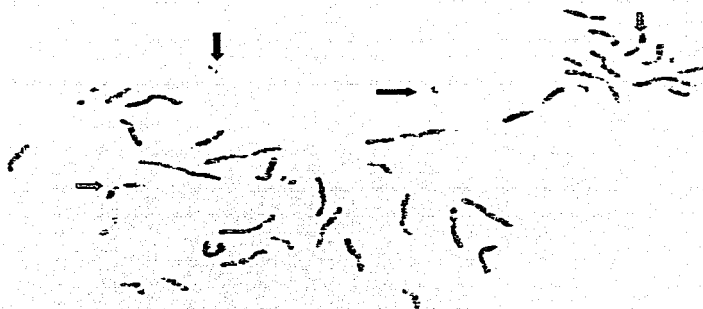
IMÁGENES.

**Cariotipo técnica bandas "G" propositus.**



- Cromosoma 11 normal
- Cromosoma 22 normal
- Cromosoma 22 derivativo

### Cariotipo técnica Bandas "G" materno.



- Cromosoma 11 normal
- Cromosoma 11 translocado
- Cromosoma 22 normal
- Cromosoma 22 translocado

La técnica de *FISH* fue realizada aplicando de primera intención una sondas tipo pintado dual color para los cromosomas 22, 3, 9 y 11 respectivamente, en cultivo de linfocitos del paciente propositus para identificar la identidad del otro cromosoma implicado en la translocación, resultando ser este el cromosoma 11.

Posteriormente se procede a realizar la misma técnica pero con cultivo de linfocitos de la madre del paciente propositus, y como resultado se observa que la madre es portadora balanceada para la translocación 11;22.

Sin embargo, para establecer con mayor precisión la ubicación de los puntos de ruptura, se aplicó *FISH* utilizando sonda ABL/BCR, lo cual permitió establecer estos puntos de ruptura en 11q22.3 y 22q12. Cariotipo :

46,XX t(11;22) (11pter→ 11q22.3 : : 22q12→ 22pter) (44)

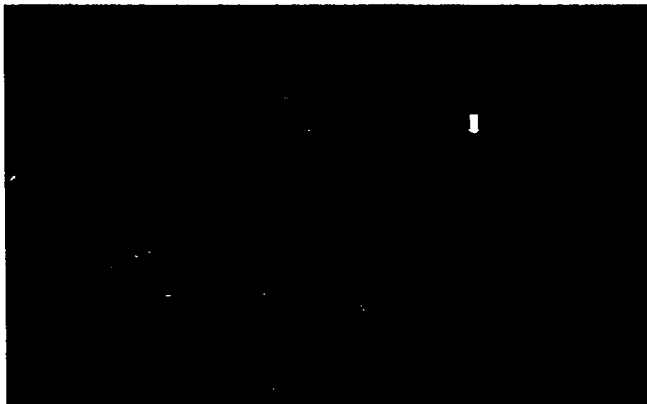
(Ver imagen correspondiente).

46, XX. Ish t(11;22)(q23.3;q11.2)(wcp 22)

**FISH para la sonda painting 22**

**Cromosoma 22 normal**

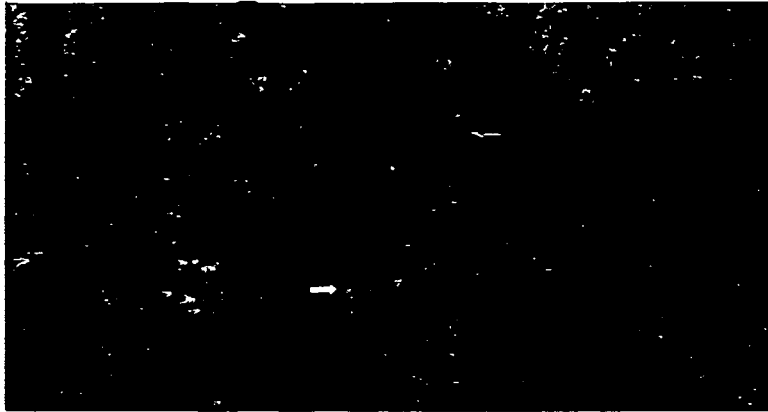
**→ Cromosoma 11,22 translocados**



TESTE CON  
FALLA DE ORIGEN



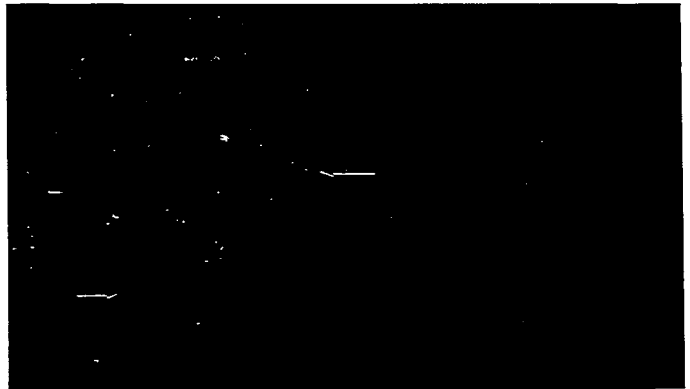
**FISH para la sonda painting 22**



**Cromosoma 22 normal**

**→ Cromosoma 11,22 translocados**

**FISH para la sonda bcr/abl**



**→ Cromosoma 9**

**→ Cromosoma 22**

TRIPLEN  
FALLA DE ORIGEN

En el caso del paciente propositus, se observan dos cromosomas 22 y dos cromosomas 11 normales, más un derivativo 22 que produce un genotipo prácticamente trisómico total para el cromosoma 22 y parcial para el cromosoma 11. Cariotipo

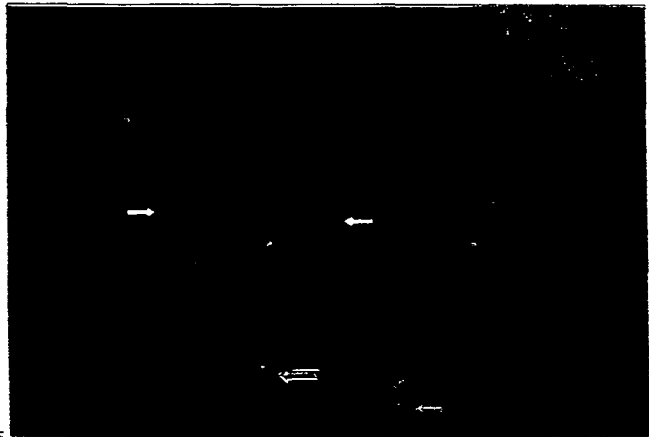
47, XY +der(11;22)(q23.3; q12) t(11;22) (22pter → 22q12::11q22.3 → 11qter)mat.  
(44)

*Ver imagen correspondiente.*

47, XY. Ish der(22) t(11;22)(q23.3;q11.2) mat (wcp 22).

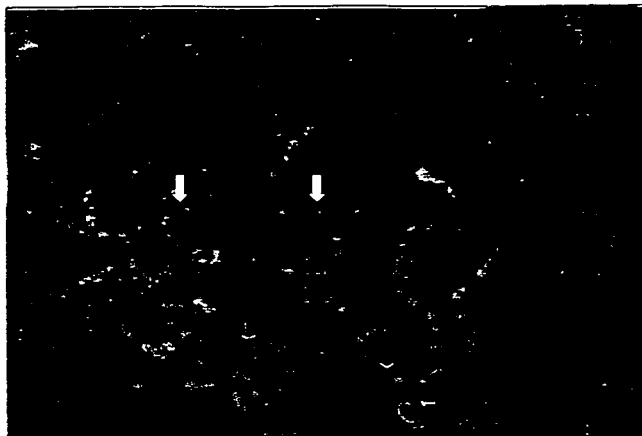
**FISH para la sonda painting 22 tomada con filtro verde.**

→ Cromosoma 22 normal  
→ Cromosoma 22 der.  
→ Centromero cromosoma 15



TECIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## FISH para sonda painting 22



Cromosoma 22 normal

➔ Cromosoma 22 der

➔ Centromero cromosoma 15

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

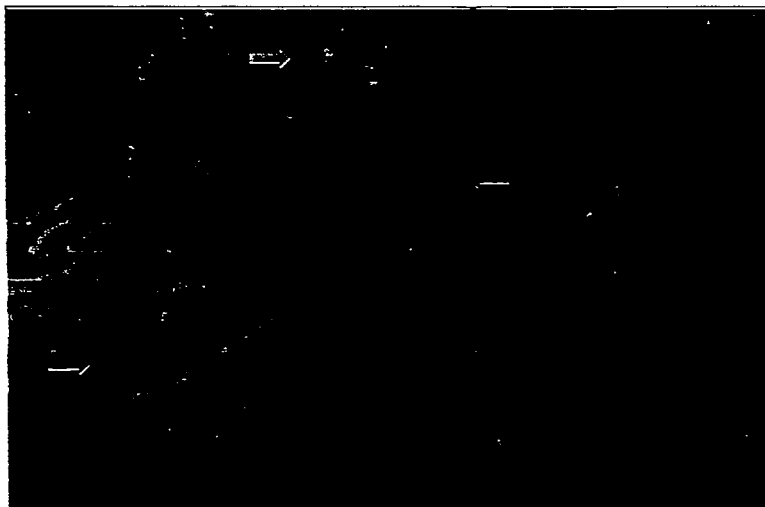
Por lo anterior podemos deducir de acuerdo con lo revisado ya en la literatura mundial, que nuestro paciente es resultado de una segregación 3:1 de una madre portadora de translocación balanceada.

Se corrobora además, que los datos clínicos que presenta el paciente corresponden con lo reportado en la literatura para un síndrome de derivativo 22. Posteriormente se analiza al resto de la familia, (previamente obtenido el consentimiento informado), realizándose examen clínico completo y cariotipo con técnica de bandas G, sin embargo, ninguna alteración cromosómica fue documentada a través de esta metodología y se corroboró mediante la aplicación de *Hibridación In Situ Fluorescente* (ver fotografía de FISH realizado a tío paterno).

#### FISH para sonsa bcr/abl.

→ Cromosoma 22

→ Cromosoma 9



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Por lo que respecta a los resultados obtenidos de la historia clínica y examen físico en el resto de la familia: no fueron documentadas alteraciones en el fenotipo ni dificultades de aprendizaje, a excepción de un primo hermano del propositus que cursa con retardo psicomotor secundario a encefalopatía hipoxico-isquémica, la cual a su vez fue condicionada por preeclampsia materna y cuyo cariotipo es normal: 47,XY.

Un dato importante dentro de los antecedentes heredofamiliares es la presencia de abortos repetidos tanto en la madre como en la abuela materna del paciente propositus además de cuadro de leucemia mieloide aguda en esta última (ya que dicho cuadro implica la presencia de rearrreglos con el brazo largo del cromosoma 11, los puntos de ruptura para este rearrreglo cromosómico se ubican entre 11q11 a 11q23 y dentro de esta región una serie de genes con implicaciones específicas en carcinogénesis).

Si bien no es posible para efecto del presente trabajo obtener muestra de sangre para realizar cariotipo a la abuela materna del propositus, el hecho de no haber encontrado más portadores balanceados de la misma translocación entre los miembros de la generación III, no descarta la posibilidad de que esta persona fuese también portadora de translocación balanceada al igual que la madre del paciente propositus.

## IX. DISCUSION.

Como se muestra en el presente trabajo, el mecanismo que lleva al cariotipo desbalanceado observado en el síndrome de derivativo 22 (entendiéndose como derivativo el segmento cromosómico extra que porta el centrómero y resulta de una segregación no alterna en portadores de una translocación), es una segregación 3:1 en la meiosis de la madre portadora, pero se han reportado diferentes casos que sugieren mecanismos alternativos. En estos casos, la segregación parece corresponder a una no-disyunción en meiosis II, o no-disyunción postcigótica del derivativo 22 ( 1)Lockwood y cols. 1989 (36), Abeliobich and Carmi 1990 ( 1), Lurie y Podleschuk 1992 (37), Simi y cols. 1992 (52 ). No obstante, Dawson y cols en 1996 (12) reportan un caso en el que el derivativo 22 es resultado de una segregación adyacente I, producto de una translocación de novo paterna complementado con un gameto disómico para el cromosoma 22 de origen materno. En el mismo año, Funke y cols( 18) realizando un análisis de segregación de un pequeño número de marcadores del cromosoma 22, demuestran que los productos desbalanceados heredan un cromosoma normal de cada uno de los padres, así como el derivativo 22 del padre portador de la translocación, sugiriendo con esto una segregación 3:1; sin embargo, esto también podría ser explicado por un mecanismo de segregación 2:2 en una segregación adyacente 2 que contenga el 22 normal y el derivativo 22 y sin cromosoma 11, el cual sería rescatado por complementación con un gameto disómico para el cromosoma 11 del padre no portador (54).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Para explicar el mecanismo que diera origen a estos tipos de segregación propuestos: Emanuel en 1980 (16) sugiere que la asimetría del entrecruzamiento en paquitene podría dar como resultado una orientación discordante del cuadrivalente en metafase I, predisponiendo a una segregación 3:1 en anafase. Posteriormente en 1989 Koduru y Chaganti (31) proponen que podría haber alguna falla en la formación del quiasma dentro del segmento 22q produciendo un derivativo 22 univalente en la segregación durante anafase de la primera división meiótica.(18 )

Iselius en 1983 realiza la revisión de 85 casos con esta translocación, y reporta que 82 fueron de origen materno, en tanto que tres eran de origen paterno(27 ).

En 1989 Lockwood y cols( 36) reportan el caso de un varón en quien los cromosomas desbalanceados podrían haber resultado de una segregación 3:1 en meiosis I ya que el padre portador contribuía con ambos cromosomas translocados y el derivativo 22, así el desbalance fue interpretado como una no disyunción en meiosis II paterna, o alternativamente de una no disyunción postcigótica. Estos recién nacidos reportan una doble trisomía: de 11q22.3 a qter y de 22pter a q11.2 (52 ).

Lindembaum en 1990 sugiere una tercera posibilidad acerca de cómo el entrecruzamiento que involucrará el cromosoma 22 derivativo y el normal entre el centromero y el punto de ruptura de la translocación fue asociado con una segregación 3:1 en meiosis I, de tal modo que el derivativo 22 y el 22 normal así como el derivativo 11 pasaran juntos a meiosis II, lo cual llevaría a observar el cariotipo anormal en el propositus( 35).

Simi y cols en 1992 (52) reportan nuevamente el caso de un paciente con cariotipo desbalanceado, el cual es resultado de una translocación paterna. Propone que el cariotipo desbalanceado probablemente resulta de una no-disyunción del derivativo 22 en meiosis II en un espermatozoido que recibió ambos: el derivativo 11 y el derivativo 22 aparentemente después de una segregación alterna, así los polimorfismos encontrados en los brazos cortos de los derivativos 22 indican que el entrecruzamiento ocurrió de 22pter a q11.2 en los brazos cortos del cuadrivalente. Con todo lo anterior se propone que el producto desbalanceado recibe el 22 supernumerario no sólo como resultado de una trisomía terciaria, sino como resultado de una no-disyunción en meiosis II. Se observó además que la proporción de productos balanceados normales fue de 27:28, lo que indica que la segregación alterna es seguida en frecuencia por una segregación normal en la meiosis (11).

Solamente un 0.5% de los bivalentes del grupo G hacen un quiasma en el brazo corto Laurie y Hulten 1985(32); es más grande la proporción de brazos largos del cromosoma 22 que tienen un quiasma simple con una localización distal-medial distal al punto de ruptura del derivativo 22 (32).

Armstrong y cols en el 2000(3), realizan un análisis empleando microscopía electrónica para observar el complejo sinaptonémico, así como Hibridación In Situ Fluorescente (FISH) en color dual para investigar la meiosis cromosómica en un hombre portador de una translocación 11;22 en estado balanceado. El complejo sinaptonémico fue observado en 49 de 50 núcleos estudiados, y aproximadamente el 50% (26 de 50) reveló un cuadrivalente clásico



completamente sinapsado, y una proporción de estos (10 de 26) demostró algún grado de asimetría, sugiriendo una sinápsis heterológa, mientras que el resto de las células parecían tener una sinapsis incompleta. El análisis de FISH demostró sólo cuadrivalentes. Todos los tipos de segregación fueron encontrados en metafase de la segunda división meiótica, por lo tanto no habría ninguna indicación de una segregación preferencial 3:1 en anafase de la primera división meiótica, y por lo tanto el derivativo 22 de recién nacidos portadores de t(11;22) al parecer no es secundario a una segregación meiótica 3:1 especialmente común, sino más bien el derivativo 22 es resultado de una selección postcigótica dentro de otros cariotipos desbalanceados( 3 ).

Esta generalmente establecido que lo que lleva a un cariotipo desbalanceado observado en el síndrome de derivativo 22 supernumerario es una segregación 3:1 en la meiosis del padre portador , pero se han reportado diferentes casos que sugieren mecanismos alternativos; en estos casos la segregación parece ser el resultado de una no disyunción en meiosis II, o no disyunción postcigótica(33)(47)(50)(51)(59).

En el cromosoma 22, la región 22q11 es susceptible de sufrir rearrreglos y se ha asociado al síndrome Velocardiofacial/síndrome Digeorge y síndrome de ojo de gato(40). Los pacientes con síndrome Velocardiofacial/Digeorge tienen deleciones hemicigotas de 22q11, muchos casos ocurren esporádicamente en la población sugiriendo a ésta región como susceptible de ruptura. En más del 90% de pacientes se han encontrado deleciones de 3 megabases(Mb), en un 7% el punto de ruptura es más distal dando como resultado deleciones de 1.5Mb y en unos pocos casos se han encontrado deleciones únicas(10).

En 1999 Edelmann y cols realizan estudios de mapeo físico para identificar secuencias que pudieran conferir susceptibilidad para deleciones cromosómicas, identificándose un repetido de copia baja de más de 200 kilobases (kb) de tamaño en 11q22, el cual contiene una serie de genes y pseudogenes, y a este punto se denominó LCR22 (14)

Edelman y Baumer coinciden en pensar que las deleciones son producidas por eventos de recombinación homóloga inter e intracromosómica entre secuencias LCR22. (13)

Así mismo fueron caracterizados pacientes con síndrome de ojo de gato, los cuales eran portadores de un cromosoma 22 supernumerario satelitado que contenía la región 22pter a q11 (49) y más tarde fueron identificados dos puntos de ruptura de la duplicación: uno pequeño CESI (sitio I síndrome ojo de gato) y uno más grande CESII(39) y estos puntos de ruptura fueron encontrados en los mismos LCR22s proximal y distal respectivamente a los puntos de deleción común de 3Mb observados en los síndromes Velocardiofacial/Digeorge, demostrando con esto que un evento de recombinación homóloga intercromosómica entre los dos LCR22s media la duplicación de la región de 3Mb(15).

Con estos resultados se demuestra que la región LCR22 media diferentes arreglos en 22q11, llevando a una variedad de desordenes cromosómicos que se traducen en diferentes cuadros clínicos congénitos (17).

Warburton en 1991 (58), para definir el punto de ruptura en 11q23 y determinar si muestra alguna homología con las secuencias LCR22, realiza un análisis de haplotipo en pacientes con síndrome de derivativo 22 y encuentra que el punto de

ruptura en 11q23 ocurre dentro de dos marcadores génicos que son: DIIS1340 y APOC3-TETA. Ambos marcadores fueron incluidos en un cromosoma artificial. Para determinar si este punto de ruptura se presenta en más portadores, se realizaron estudios de mapeo con FISH, y se llegó a la conclusión de que ésta región posee secuencias que son susceptibles de ruptura. También se delimitó el punto de ruptura en ambos derivados de portadores no relacionados a una región rica en repetidos AT de 190pb, lo cual indica que los repetidos pueden mediar eventos de recombinación en el cromosoma 11 (58).

LCR22 guarda repetidos ricos en AT sugiriendo con esto que estas secuencias motivo pueden mediar eventos de recombinación entre cromosomas no homólogos durante la meiosis (58).

El cromosoma 22 sólo representa el 2% del genoma humano haploide (Morton 1991) (42), muchas enfermedades malignas y desarrollo de anomalías son asociadas con rearrreglos recurrentes de este cromosoma (Kaplan et al 1987)(28), incluyendo rearrreglos asociados a tumores tal como el sarcoma de Edwin t(11;22) y el neuroepitelioma periférico (Aurias et al 1984; Turc.Carel et al 1984). (4, 56) Estudios previos en un número limitado de familias con t(11;22) sugieren que en un grupo, los puntos de ruptura ocurren en 22q11, entre los marcadores D22S788 (N41) y ZNF 74(Shaikh et al 1997[51]; Funke et al 1999) y este intervalo entre los puntos de ruptura es diferente del establecido en el estándar de 3 Mb de la deleción asociada a los síndromes Velocardiofacial/Digeorge, y del rearrreglo asociado al síndrome de ojo de gato. (15, 39) El punto de ruptura en el cromosoma 11 no ha sido mapeado con precisión, pero en un solo portador se ha localizado distal a DIIS144 y proximal al marcador APO A I en 11q23.2 (Budarf et

al 1989 [7], Tunaclyffe et al 1993[55]), ésta región es distal a 11q22-23 y está involucrada en múltiples rearrreglos implicados en tumores (Arai et al 1996 [2]) pero proximal a ambos puntos de ruptura t (11;22) asociados a Neuroepitelioma y Sarcoma de Edwin y del síndrome de Jacobsen [causado por una deleción distal 11q y caracterizado por retardo psicomotor de leve a moderado, trigonocefalia, dismorfias faciales, defectos cardiacos, trombocitopenia ( 17 ) ] con puntos de ruptura en 11q23.3 - 11q24.2 (Tunaclyffe et al 1999[55]).

Posteriormente, en el 2000, Hiroki y cols.(23) para analizar los puntos de ruptura de la t (11;22), clonaron los fragmentos de fusión de los cromosomas 11 y 22 de un portador balanceado, demostrando que existen regiones palindrómicas alrededor de los puntos de ruptura tanto en el cromosoma 11, como en el 22. En el cromosoma 11, la translocación ocurre dentro de una región corta palindrómica rica en AT (ATRR). El punto de ruptura en el cromosoma 22 se encuentra dentro de una brecha no clonable en la secuencia genómica. En el análisis por computadora de las secuencias de DNA que flanquean los puntos de ruptura, se predice la formación de estructuras en asa o cruciformes y esto hace suponer que estas estructuras inestables del DNA en 22q11 y 11q23 facilita la translocación(11;22) recurrente(23).

Dado que el cromosoma 22 ha sido secuenciado casi en su totalidad(42), se ha observado que en su región 22q permanecen un pequeño grupo de brechas) que impiden su clonación completa y LCR-B (en donde se ubica el punto de ruptura) se encuentra dentro de una brecha de aproximadamente 90kb. La porción de los fragmentos de fusión de la t(11;22) se encuentran dentro de una brecha entre CHK89 y b562f10 (42).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Diferentes familias no relacionadas con t(11;22) demostraron puntos de ruptura similares en ambos cromosomas indicando que sus translocaciones se encuentran dentro del mismo palíndromo ATRRs y producen estructuras de DNA inestables en 22q11 y 11q23 responsables de la t(11;22) recurrente. (42)

Una vez demostrado que los puntos de ruptura de la t (11;22) habían sido mapeados en repetidos ALU específicos en los cromosomas 11 y 22, indican que este evento es secundario a una recombinación ALU-ALU. HILL y cols. realizan un estudio con cinco personas que aparentemente no tenían un ancestro común y los puntos de ruptura en los cromosomas 11 y 22 parecían ser casi idénticos a nivel de la secuencia genómica y un pequeño número de bases de diferencia entre estos ejemplos indica una variación en la posición en los puntos de ruptura, pero parece que se encuentra limitada. Los puntos de ruptura del derivativo 11 están localizados en una región de 32pb y los del derivativo 22 en una región de 21pb. La ocurrencia esperada para esta translocación es secundaria a múltiples eventos independientes. Los resultados de este trabajo sugieren que la recombinación ALU-ALU está sujeta a un grado no predecible de selección. Los portadores balanceados de esta translocación aparentemente son normales pero se ha sugerido que pueden presentar un riesgo 10 veces mayor para cáncer de mama(22).

En el caso de los pacientes estudiados en el presente trabajo, los puntos de ruptura encontrados en la translocación coinciden con la ubicación más frecuente reportada en la literatura ya que fueron ubicados en 11q22.3 y 22q11-12.

Basandose en un análisis por PCR inverso del fragmento de fusión 11;22, se concluye que la región trisómica en el cromosoma 22 se superpone a la región deletada en el síndrome velo-cardio-facial y Di George. El punto de ruptura en el 22 translocado es distal al punto de ruptura de la deleción de 1.5Mb del síndrome velo-cardio-facial. Aquí mismo establecen que el punto de ruptura se encuentra dentro de un repetido ALU de 350pb próximo a una secuencia rica en AT en el cromosoma 11. La recombinación ocurre 9kb próximo al gen APOA4 y 20kb distal al pseudogen APOA4. En forma similar establecen que el punto de ruptura en el cromosoma 22 se localiza en un elemento ALU translocado localizado en uno de los repetidos LCR22, regiones entre COMT(distal) y ZNF74(próximo) y dentro de un gap en el que se habían definido secuencias del cromosoma 22. Las secuencias alrededor del punto de ruptura de la t (11;22) sólo revelan secuencias ALU y al parecer estas recombinaciones mediadas por secuencias ALU son responsables de una gran variedad de desordenes genéticos, por ejemplo: alteración del receptor LDL, alfa globina, beta globina, oncogen c-sis y apolipoproteína B. Ambos segmentos ALU involucrados en la t(11;22) tienen una secuencia consenso 5'...CCTGTAATCCCAGCATTGGGGAGGC..3' la cual se ha asociado con otras recombinaciones, ésta secuencia consenso contiene un pentanucleotido CCAGC que es parte de chi, una secuencia conocida de 8 pb la cual estimula a RecBC-mediando la recombinación en E. Coli. No está muy claro si ésta secuencia consenso es recombinogénica o si la asociación de repetidos ALU involucrados en recombinación es circunstancial(22).

Sin embargo, todas estas conclusiones se hacen dudosas, ya que meses más tarde, Hiroki Kurahashi y colaboradores ( 24 ) realizan la secuenciación del fragmento de fusión clonado de 4.5kb del cromosoma 11 y esta secuencia fue comparada con la del fragmento de fusión del derivativo 11 producida por PCR inverso, poniendo de manifiesto que el producto de PCR inverso sustentó una delección entre los elementos ALU, es decir que las verdaderas regiones del punto de ruptura se encuentran delecionadas en el producto de PCR. El análisis de productos de PCR truncados indican una mezcla de secuencias de dos elementos ALU distintos, sugiriendo que los fragmentos de fusión descritos por HILL y colaboradores son artefactos de PCR mediados por elementos ALU( 24 ).

El estudio de otras translocaciones constitucionales apoya el concepto de que el LCR22 puede ser preferencialmente involucrado. Por ejemplo los puntos de ruptura de una translocación 17;22 asociados a neurofibromatosis tipo I muestran un mapa de sobrerpetidos invertidos proximales y distales a LCR22, otro ejemplo es una translocación 1;22 asociada con ependimoma tiene un punto de ruptura en LCR22(4).

El efecto de la expresión de genes alrededor de los puntos de ruptura de una translocación, se desconoce. Es importante hacer notar que esta región en el cromosoma 22 ha demostrado pérdida de heterocigocidad de esta región en una gran variedad de cánceres (38).

La gran cantidad de genes ubicados alrededor de los puntos de ruptura involucrados en la translocación 11;22 y la peculiaridad de que muchos se encuentran relacionados en rearrreglos de procesos neoplásicos, lleva a la gran interrogante de si alguna persona translocada 11:22 balanceada o

desbalanceada es susceptible a sufrir algún tipo de neoplasia, la respuesta es sí, ya que la incidencia para cáncer de mama en personas portadoras de translocación 11:22 es 10 veces más frecuente en comparación con la población general.

Lindblom y colaboradores (34), estudiando a 8 familias con un total de 22 portadores balanceados para la translocación documentan que en 5 familias había casos de cáncer de mama, en tanto que en una más se había reportado alguna otra malignidad. Y poco antes se describe el gen de la estromelisin 3, y lo describen como miembro de las metaloproteinasas de matriz, ubicado en 22q11.2 en proximidad con el gen BCR involucrado en la leucemia mieloide crónica y proponen que puede contribuir al cáncer de mama(7). Lo anterior hace ser cautos en el asesoramiento genético y abre nuestra visión hacia las repercusiones en el fenotipo que pueden tener las rupturas cromosómicas ocurridas en el mecanismo de formación de una translocación en una persona portadora balanceada, ya que, aunque no produce desbalance en la dosis génica, puede interferir en el funcionamiento de los genes ubicados en el punto de ruptura o adyacentes a él.

Por lo que respecta al cuadro clínico encontrado en el paciente propositus, presentamos un cuadro de correlación de característica clínicas presentes en trisomía 11 parcial, trisomía 22 parcial y nuestro paciente propositus.



CARACTERISTICA CLINICA	TRISOMIA 22	TRISOMIA 11	PROPOSITO
			S
Peso bajo al nacimiento	*	*	
Retardo mental	*	*	*
Microcefalia		*	*
Fisuras Palpebrales antimongoloides	*	*	
Apéndices-hoyuelos preauriculares	*	*	*
Implantación baja de pabellones auriculares	*	*	*
Paladar alto y/o hendido	*	*	*
Uvula bifida	*		
Hipertelorismo	*		
Exceso de piel en la nuca		*	*
Malformaciones cardiacas	*	*	*
Filtrum largo		*	
Epicanto	*		
Nariz corta	*		*
	*		*
Clavicula bipartita		*	
Cuello corto		*	*
Malformaciones de tracto urinario		*	

Cutis laxa

\* \*

Displasia de p elvis

\* \*

Defectos de tubo neural

\* \*

Micropene

\* \*

Pliegues palmares anormales

\* \*

\*característica clínica presente.

Por lo observado en el cuadro de correlación clínica, el paciente presenta características de ambos estados de trisomía parcia ( 11 y 22) y cumple con los criterios cl nicos observados en el síndrome de derivativo 22.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## X. CONCLUSIONES

La translocación 11;22 a pesar de ser la única translocación no robertsoniana recurrente en humanos y una de las más frecuentes reportadas, presenta una dificultad para su diagnóstico citogenético ya que generalmente los puntos de ruptura se encuentran ubicados en regiones crípticas (idénticas por patrón de bandas) escapando muchas veces al ojo del citogenetista. Por lo anterior, en la presente investigación se pone de manifiesto la utilidad de la aplicación de herramientas de citogenética molecular en el diagnóstico de diferentes cuadros clínicos.

De acuerdo con los resultados obtenidos por *FISH* realizado al paciente propositus, él es portador de un síndrome de trisomía 22 casi total y parcial para el cromosoma 11.

(síndrome de derivativo 22) esto como consecuencia de una segregación 3:1 en los gametos de su progenitora, quien a su vez es portadora de una translocación 11;22 balanceada.

Las características clínicas encontradas en el paciente propositus corresponden con las reportadas en la literatura de pacientes con síndrome de derivativo 22.

Por lo anterior, gracias a la aplicación de la técnica de *FISH* fue posible detectar el tipo de segregación 3:1 observada en el paciente.

Este tipo de segregación es muy frecuente dentro de los productos de personas translocadas balanceadas para t(11;22), esto no por mostrar un patrón anormal de segregación o entrecruzamiento en meiosis sino más bien por mostrar una selección postcigótica.

Fue realizado cariotipo con técnica de bandas G a todos los hermanos de la paciente portadora de la translocación balanceada, resultando en todos los casos citogenéticamente normales, lo anterior fue corroborado con técnica molecular. Sin embargo, dentro de la historia clínica realizada a todos los miembros de la familia en estudio, se encontró dentro de los antecedentes heredo-familiares un dato de suma importancia, ya que la madre de ellos había fallecido a consecuencia de un cuadro de leucemia mieloide aguda y además había presentado abortos repetitivos.

Por lo anterior, concluimos que aún cuando no es posible contar con muestra para realizar cariotipo a la madre de la persona portadora de translocación balanceada, el antecedente de haber presentado una historia de abortos repetitivos, hace sospechar el estado de portador balanceado.

Por otra parte, no es posible realizar asociación alguna del cuadro de leucemia en la abuela materna del propositus, con las alteraciones citogenéticas encontradas en propositus y su progenitora, ya que los puntos de ruptura para dicha translocación se ubican en una posición cromosómica más distal que el locus de leucemia en ambos cromosomas implicados.

Sin embargo, por lo reportado en la literatura mundial, la paciente portadora de la translocación balanceada presenta un riesgo 10 veces mayor para cáncer de mama que la población general, por lo que en el asesoramiento genético se deberá hacer hincapié en revisiones clínicas periódicas y en caso necesario realizar estudio de imagen para una detección oportuna.

La aplicación de las técnicas de citogenética molecular resultan ser una herramienta de vital importancia para el diagnóstico correcto de una infinidad de alteraciones cromosómicas que con las técnicas habituales resultaría imposible observar y deberían pasar a formar parte de las técnicas de rutina en los laboratorios de citogenética de las instituciones de salud ya que los diagnósticos serían realizados con más fidelidad.

Con el presente trabajo dejamos campo abierto a investigaciones futuras que como finalidad lleven el establecer la frecuencia de translocación 11;22 en parejas con abortos repetitivos así como en pacientes con retardo mental y malformaciones múltiples que ayuden a estimar su frecuencia y establecer el grado de predisposición a cáncer de mama y/o otras neoplasias en la población mexicana.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## XI. REFERENCIAS

1. Abeliobich D, Carmi R. The Translocation 11q; 22q: A Novel Unbalanced Karyotype. *Am J Med Genet.* 1990; 37: 288.
2. Arai Y, Hosoda F, Nakayama K, Okhi M. A Yeast artificial Chromosome contig and Not I Restriction Map That Spans the Tumor Supresor Gene(s) locus, 11q22.3-q23.3. *Genomics.* 1996; 35: 196-206.
3. Armstrong J, Goldman A, Speed R, Hulten M. Meiotic Studies of a Human Male Carrier of the Common Translocation, t(11;22), Suggest Postzygotic Selection rather than preferential 3:1 MI Segregation as the Cause of Liveborn Offspring with a Unbalanced Translocation. *Am J Genet.* 2000; 67: 601-609.
4. Aurias A, Rimbaut C, Buffe D, Zucker J. Translocation involving Chromosome 22 in Ewing's Sarcoma: A Citogenetic Study of Four Fresh Tumors. *Cancer Genet Cytogenet.* 1984; 12: 21-25.
5. Baumer A, Dutly F, Balmer D, Riegel M. High level of unecual meiotic crossovers at the origin of the 22q11.2 on 7q11.23 deletions. *Hum Mol Genet.* 1998; 7 : 887- 894.

TEST CON  
FALLA DE ORIGEN

6. Bolinger M, Soukup S, Cat-eye Syndrome. Partial Trisomy 22 Due to Translocation in the Mother. Am J Dis Child. 1977 ; 131 : 893-897.
7. Budarf M, Sellinger B, Griffin C, Emanuel B. Comparative Mapping of the Constitutional and Tumor Associated 11;22 Translocations. Am Hum Genet. 1989; 45: 128-139.
8. Buyse M, Birth Defects Encyclopedia Center for Birth Defects. Information Services, INC. Blackwell; Page 2043-2044, 362-363.
9. Campana M, Serra A, Neri G. Role of Chromosome Aberrations in Recurrente Abortion: A Study on 269 balanced traslocations. Am J Med Genet. 1986; 24 : 341-356.
10. Carlson C, Sirotkin H, Pandita R, Goldberg R. Molecular Definition of 22q11 Deletions in 151 Velocardiofacial Syndrome Patients". Am J Hum Genet. 1997; 61: 620-629,
11. Chandley A. Involvement of 3:1 disjunction in the common reciprocal translocation t(11;22)(q23.3;q11.2). Hum Genet 1992; 90: 191-192.
12. Dawson A, Mears A, Chudley A, Bech-Hansen T. Der (22) t(11;22) Resulting from a Paternal the Novo Translocation Adjacent I Segregation

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

- and Maternal Heterodisomy of Chromosome 22. *J Med Genet.* 1996; 33: 952-956.
13. Edelman L, Pandita R, Morrow B. Low-copy repeats mediate the common 3 Mb deletion in patients with velo-cardio-facial syndrome. *Am J Hum Genet* . 1999; 64: 1076-1086.
14. Edelman L, Pandita R, Spiteri E, Funke B. A Common Molecular Basis for Rearrangement Disorders on Chromosome 22q11. *Hum Mol Genet.* 1999; 8: 1157-1167.
15. Edelman E, McCain R, Goldberg R, Pandita S. A Common Break Point on 11q23 in carriers of the constitutional t (11;22) translocation. *Am J Hum Genet.* 1999; 65: 1608-1616.
16. Emanuel B, Goldmuntz E, Budarf M, Shaikh T. Blocks of Duplicated Sequence Define the Endpoints of DGS/VCFS 22q11.2 Deletions. In: Clark E, Nakazawa M, Takao A (eds). *Etiology and Morphogenesis of Congenital Heart Disease.*
17. Fraccaro M, Lindsten J, Ford C, Iselius L. The 11q;22q translocation: A European Collaborative Analysis of the 43 cases. *Hum Genet.* 1980; 56: 21-51.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



18. Funke B, Edelman L, Mc Cain N, Ferreira J. Der ( 22 ) Syndrome and Velo-cardio-facial Syndrome / Di George Syndrome Share a 1.5-Mb Region of Overlap on Chromosome 22q11. *Am J Hum Genet.* 1999; 64: 747-758.
19. Guizar V. *Genética Clínica. Diagnostico y Manejo de las Enfermedades Hereditarias México* 2001 3ª ed. Edit. Manual Moderno. 5-32.
20. Gorlinger P, Mc Geary S, Magenis E. Partial Trisomy 22: A recognizable Syndrome. *Clin Genet.* 1977; 12: 9-16.
21. Harrison. *Principios de Medicina Interna.* México, 1991 Edit. Interamericana, Mc Graw Hill.
22. Hill A, Foot N, Chaplin T, Young B. The Most Frequent Constitutional Translocation in Humans, the t(11;22)(q23;q11) is due to a Highly Specific Alu Mediated Recombination. *Hum Mol Genet.* 2000; 9 : 1525-1532.
23. Hiroki K, Tamin H, Shaikh P, Bruce A. Regions of Genomic Instability on 22q11 and 11q23 as the Etiology for the Recurrent Constitutional t(11;22). *Hum Mol Genet.* 2000; 9: 1665-1670.
24. Hiroki K, Tamim H, Shaikh S, Beverly S. Alu-mediated PCR Artifacts and the constitutional t(11;22) Breakpoint. *Hum Mol Genet.* 2000; 18: 2727-2732.

25. Hiroshi N, Yoshirumi Y, Yoshikazu K. Partial Trisomy of 11 and 22 Due to Familial Translocation t(11;22)(q23;q11), Inherited in Three Generations. Hum Mol Genet .1979; 51: 349-355.
26. Hsu L, Shapiro L, Gertner M, Lieber E. Trisomy 22: A Clilical Entity. J Pediatr. 1971; 79: 12-19.
27. Iselius L, Lindsten J, Aurias A, Fraccaro M. The 11q;22q Translocation: a Collaborative study of 20 New Cases and Analysis of 110 Families. Hum Genet . 1983; 64: 343-355.
28. Kaplan J, Aurias A; Julier C, Prieur M. Human Chromosome 22. J Med Genet. 1987;24: 65-78.
29. Kessel E, Pfeiffer R. 47, XY + der (11;22)(q23.3;q12) Following Balanced Translocation t(11;22) (q23;q12 ) mat. Remarks on the problem of trisomy 22. Hum Genet . 1977; 33: 111-116.
30. Kim H, Hsu L, Goldsmith L, Strauss L. Familial Translocation With Partial Trisomy of 13 and 22: Evidence That Specific Regions of Chromosomes 13 and 22 are Responsible for the Phenotype of each Trisomy. J Med Genet. 1977; 14: 114-119.

31. Koduru P, Chaganti R. Meiotic Segregation in Human  $t(11;22)(q23\ q11)$  Carriers a Teorical Consideration. *Genome* . 1989; 32: 24-29.
32. Laurie D, Palmer R, Hulten M. Studies on Chiasma Frecuency and Distribution in Two Fertile Men Carring Reciprocal Translocations: One With a  $t(9;10)$  Karyotype and one with a  $t(Y;10)$  Karyotypr. *Hum Genet*. 1984; 68: 235-247.
33. Lidenbaum R, Bobrow M. Reciprocal Translocations in man 3:1 meiotic Disjunction resulting in 47 or 45 chromosome offspring. *J Med Genet*. 1975; 12: 29-43.
34. Lindblom A, Sandelin K, Iselius L, Dumanski J. Predisposition for breast cancer in Carriers of Constitutional translocation 11q;22q. *Am J Hum Genet*. 1994;54: 871-876.
35. Lindenbaum R. Unusual Segregation of the Constitutional 11q;22q Translocation May Be Explained by Crossover in Interchange Segment Followed by 3:1 Segregation at Meiosis I. *Hum Genet*. 1990; 85: 43
36. Lockwood D, Farrier A, Hecht F, Allanson J. Not All Chromosome Imbalance Resulting from the 11q;22q Translocation is Due to 3:1 Segregation Nondisjunction in First Meiosis. *Am J Med Genet*. 1989; 83: 287-288.

37. Lurie I, Podleschuk L. 11q 22q Translocation: Third case of imbalance not due to 3:1 nondisjunction in first meiosis. *Am J Med Genet.* 1992; 42: 216.
38. Martin J. The Molecular Basis of Leukemia. *The New England Journal of Medicine.* 1994; 3: 26-98.
39. Mc Taggart K, Budarf M, Driscoll D, Emanuel B, Cat Eye Syndrome Chromosome Breakpoint clustering: Identification of Two Intervals Also Associated with 22q11 Deletion Syndrome Breakpoints. *Cytogenet Cell Genet* 1998; 81: 222-228.
40. Mears A, El-Shanti H, Murray J, Mc Dermid H, Minute Supernumerary Ring Chromosome 22 Associated with Cat Eye Syndrome: Further Delineation of the Critical Region. *Am J Hum Genet* 1995 ; 57: 667-673.
41. Michels VV, Medrano C, Venne V, Ricardi V. Chromosome Translocations in Couples with Multiple Spontaneous Abortions. *Am J Hum Genet* 1986; 24: 341-356.
42. Morton N. Parameters of the Human Genome .*Proc Natl Acad Sci USA.* 1991; 88: 7474-7476

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

43. Ono J, Haraba K, Hasegawa T, Kodaka R, Central Nervous System Abnormalities in Chromosome Deletion at 11q23. Clin Genet. 1994; 45 : 325-329.
44. Paris Conference: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. Birth defecs. 1978 ; 14:1.
45. Pascale D, De Blais M, Bounet, Amiel J. Ebstein Anomaly Associated with Rearrangements of Chromosomal Region 11q. Am J Med Genet, 1998; 80: 157-159.
46. Peny L, Dell Aquila M, Jones M, Bergoffen J, Clinical and Molecular Characterization of Patients with Distal 11q Deletions. Am J Hum Genet 1995; 56: 676-683.
47. Petrovic I, De Capoa A, Giancotti P, Barisic I, Unusual Segregation of t(11;22) resulting from crossing-over followed by 3:1 disjunction at meiosis I. Clin Genet 1996; 50: 515-519.
48. Pinko H, Therman E, Uchida I. Partial 11q Trisomy Syndrome. Human Genetics 1981; 58: 129-134.
49. Reiss J, Welebre R, Brown M, Bangs C, Tandem Duplication of Proximal 22q: A cause of Cat Eye Syndrome. Am J Genet 1985; 20: 165-171.

50. Schinzel A, Schmid W, Auf. Der. Maur. Maser H, Degenhardt. Incomplete Triosomy 22 Familial 11;22 Translocation with 3:1 meiotic Disjunction. Delineation of a common clinical picture and report of nine new cases from six families. Hum Genet. 1981; 56 : 249-262.
51. Shaikh T, Driscoll, Budarf M, Emanuel B. Molecular Evidence for 3:1 Meiotic Malsegregation in the Supernumerari Der (22) Syndrome. Am J Human Gent. 1997; 61: A50.
52. Simi P, Ceccarelli M, Barachini A, Florida G, The Unbalanced Offspring of the Male Carriers of the 11q; 22q Translocation : Nondisjunction at Meiosis II in a Balanced Spermatocyte. Hum Genet 1992; 88: 482-483.
53. Takano T, Yamanouchi Y, Kawashima S, Date M, 11q Trisomy Detected by Fluorescence In Situ Hybridization. Clin Genet, 1993; 44: 334-328.
54. Tamin H, Marcia L, Livija C, Elaine H, Clustered 11q23 and 22q11 Breakpoint and 3:1 Meiosis Malsegregation in Multiple Unrelated t(11;22) Families. Am J Genet 1999; 65: 1595-1607.
55. Tunaclyffe A, Jones C, Le Paslier D, Todd R. Localization of Jacobsen Syndrome Breakpoints on a 40Mb physical Map of Distal Chromosome 11q. Genome Res. (1993) 9; 44-52

56. Turc-Carel C, Philip I, Berger M, Philip T. Chromosome Study of Ewing's Sarcoma (ES) Cell Lines: Consistency of a Reciprocal Translocation  $t(11;22)(q24;q12)$ . *Cancer Genet Cytogenet.* 1984; 12: 1-19.
57. Turner B, Jennings A, Trisomy for Chromosomes 22. *Lancet* 1961; II: 49-50.
58. Warburton D, De Novo Balanced Chromosome Rearrangements and extra marker Chromosomes Identified at Prenatal Diagnosis: Clinical Significance and Distribution of Breakpoints. *Am J Hum Genet* 1986; 24: 341-356.
59. Zackai E, Emanuel B, Site Specific Reciprocal Translocation,  $t(11;22)(q23;q11)$  In several Unrelated Families with 3:1 meiotic Disjunction. *Am J Med Genet* 1980; 7: 507-521.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## XII. ANEXOS.

### ANEXO 1. CARTA DE CONSENTIMIENTO.

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL. HOSPITAL DE PEDIATRIA DEL  
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI.

#### SUBCOMITE DE ETICA

#### CARTA DE CONSENTIMIENTO PARA PARTICIPAR EN UNA INVESTIGACION

A quien corresponda:

Yo \_\_\_\_\_ declaro libre y voluntariamente que acepto que mi hijo (a) participe en el estudio: \_\_\_\_\_ cuyos objetivos consisten en: \_\_\_\_\_ Estoy consciente de que los procedimientos, pruebas y tratamientos para lograr los objetivos mencionados consistirán en \_\_\_\_\_ y que los riesgos a mi hijo(a) serán \_\_\_\_\_ entiendo que el presente estudio se derivan los siguientes beneficios \_\_\_\_\_

Es de mi conocimiento que seré libre de retirarme de la presente investigación en el momento que yo así lo desee. También que puedo solicitar información adicional acerca de los riesgos y beneficios de mi participación en este estudio. En caso de que decidiera retirarme, la atención que como paciente recibe mi hijo (a) en esta institución no se vera afectada.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Nombre \_\_\_\_\_ Firma \_\_\_\_\_

Dirección \_\_\_\_\_ Fecha \_\_\_\_\_

Testigo \_\_\_\_\_ Dirección \_\_\_\_\_

Testigo \_\_\_\_\_ Dirección \_\_\_\_\_

Nombre del investigador principal \_\_\_\_\_

Nombre del tesista \_\_\_\_\_

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## ANEXO 2. HISTORIA CLINICA (INTERROGATORIO)

Nombre: \_\_\_\_\_ Cédula: \_\_\_\_\_

Edad \_\_\_\_\_ Sexo \_\_\_\_\_ Edo. \_\_\_\_\_

Civil \_\_\_\_\_

Ocupación: \_\_\_\_\_ Escolaridad: \_\_\_\_\_

Procedencia: \_\_\_\_\_ Informante: \_\_\_\_\_

Antecedentes/heredofamiliares \_\_\_\_\_

Antecedentes/Personales \_\_\_\_\_ no  
patológicos \_\_\_\_\_

Antecedentes personales patológicos. \_\_\_\_\_

Padecimiento actual: \_\_\_\_\_

ARBOL GENEALOGICO.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

### ANEXO 3 (EXPLORACION FISICA)

SOMATOMETRIA:

PESO \_\_\_\_\_ TALLA: \_\_\_\_\_ PC: \_\_\_\_\_ SI: \_\_\_\_\_ SS: \_\_\_\_\_ SS/SI: \_\_\_\_\_

CABEZA: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

CUELLO: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

TORAX: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

ABDOMEN: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

GENITALES: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

EXTREMIDADES SUPERIORES: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

EXTREMIDADES

INFERIORES: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

ESTUDIOS DE LABORATORIO.

ESTUDIOS DE GABINETE:

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## ANEXO 4 TECNICA CLASICA DE CITOGENETICA

### A) SIEMBRA:

En frasco ámbar por duplicado de cada muestra ( A y B) colocar 5ml de medio ya preparado (100ml RPMI +1ml de glutamina, + 1ml de antibiotico[penicilina o estreptomycinina], +15ml de suero fetal) más 200uL de fitohemaglutinina, añadir 10-14 gotas de sangre periférica del paciente, homogeneizar y colocar en ambiente de CO<sub>2</sub> al 5%, incubar por 72hrs a 37°C. En la estufa de cultivo.

### B) COSECHA.

Agregar Colchicina 150uL (de una solución madre 10mM) a cada frasco por 45min. Luego centrifugar a 1600rpm por 5min. Posteriormente desechar el sobrenadante. Agregar sol. Hipotónica 10ml ( 5.58k de KCl + 2g de EDTA aforar a 1lt) e incubar a 37°C por 45min. Agregar 1ml de sol. De Carnoy (ácido acético + metanol 3:1) y centrifugar por 5min a 1600 r.p.m. quitar el sobrenadante y lavar las veces que sea necesario hasta obtener el botón blanco. Dejar 0.5ml de muestra.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

### C) ELABORACION DE LAMINILLAS:

Lavar las Laminillas en solución de etanol, enjuagar y colocar en un recipiente con alcohol al 96% (en refrigeración) posteriormente pulirlas y pasarlas a un recipiente con agua destilada helada. Tomar una laminilla y depositar unas gotas de la muestra sobre ella, soplar sobre la muestra y pasar al fuego por 10 seg. Marcar con el número de caso y secar. Una vez fría enjuagar en agua destilada, depositarla en un contenedor y dejar madurar 2 días a 45-60°C para bandas G, y para FISH en atmosfera de nitrogeno a -20°C.

### D) BANDAS G. TRIPSINA:

Depositar la laminilla por 30-40seg en un recipiente con Tripsina y posteriormente pasar a un recipiente con cloruro de sodio por 15seg. luego depositar en un recipiente más con colorante de wright 15seg. a continuación colocar en otro recipiente con colorante de Giemsa por 45 seg. Y por ultimo enjuagar en agua destilada.

TRIPSINA: 30ml de fosfato de sodio + 30ml de fosfato de potasio + 100 microlitros de tripsina en dil. 1:1 (calentar los fosfatos y una vez alcanzados los 37°C añadir la tripsina.

### COLORANTE WRIGHT:

30ml de buffer C + 10 ml de colorante de wright.

### COLORANTE DE GIEMSA:

24ml de fosfato de sodio+24ml de fosfato de potasio (buffer ambos)+2ml de colorante de giemsa.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## **ANEXO 5 TECNICA DE HIBRIDACIÓN IN SITU FLUORESCENTE. ( FISH).**

Corroborar área con metafases y núcleos ( si usted tiene material en botón

guardar bien cerrado, hacer laminillas frescas, si no, guardar las laminillas en atmósfera de nitrógeno a  $-20^{\circ}\text{C}$ ).

Introducir las laminillas en alcoholes (preparada la solución a partir de alcohol absoluto y agua destilada) recién preparados 70-85-100% dos min. Cada uno a temperatura ambiente.

Introducir laminillas en solución salina Citrato 2XSSC  $37^{\circ}\text{C}$  10min a ph de 7.0(175.3g NaCl + 88.2g de citrato de sodio dihidratado aforar a 1lt con agua destilada).

Introducir laminillas en alcoholes (recién preparados)70-85-100% 2min cada una a temperatura ambiente.

Introducir las laminillas 5min en Formamida 2XSSC 70% (28ml de formamida + 4ml de sol 20XSSC + 8ml de agua destilada [40ml] )con ph de 7.0 a  $73^{\circ}\text{C} +1$ .

Introducir laminillas en alcoholes helados 70-85-100% 2 min. cada uno.

Adicionar 5ml de la sonda (3.5UL buffer + 0.5UL sonda + 1.0 agua a)vortex, b)centrifugar, c)vortex, d)desnaturalizar la sonda 5min a  $72^{\circ}\text{C} +1^{\circ}\text{C}$  en baño maria y e) se deja en platina a  $45-50^{\circ}\text{C}$  )en el área de elección, colocar un cubreobjetos evitando que se formen burbujas.

Colocar las laminillas en una platina a  $45-50^{\circ}\text{C}$ , sellar y dejar 2min a esta temperatura.

Hibridar a  $37^{\circ}\text{C}$  48hrs en cámara húmeda.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Pasadas las 48hrs quitar cuidadosamente el cemento, evitando mover el cubreobjetos, introducir la laminilla y cubreobjetos en una solución de 0.4XSSC-TWEEN 0.2% ph 7.0 a 72°C ±1 durante 2min dejando que se deslice el cubreobjetos cuidadosamente.

Pasando este tiempo lavar a temperatura ambiente durante dos minutos en una solución 2XSSC-Tween 0.2% ph 7.0 dejar secar al aire en obscuridad y a temperatura ambiente. Montar 5ul de solución de DAPI II asegurándose que no se formen burbujas, observar bajo microscopio de fluorescencia ( si observa que existe mucho ruido de fondo, grabar algunas imágenes en el microscopio, lavar nuevamente en solución 2XSSC Tween al 0.2% ph 7.0 a temperatura ambiente durante 5min. Agitando suavemente, volver a poner el colorante y observar al microscopio.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN