



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO
FEDERICO GÓMEZ

ANÁLISIS CLÍNICO Y CITOGÉNÉTICO MOLECULAR EN PACIENTES CON
DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE SÍNDROME VELOCARDIOFACIAL
ATENDIDOS EN EL HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ
DE JUNIO 2008 A MAYO 2010

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN GENÉTICA MÉDICA

P R E S E N T A :
DRA. LUZ DEL CARMEN MÁRQUEZ QUIROZ

TUTORA: DRA. VERÓNICA FABIOLA MORÁN BARROSO

ASESORAS: DRA. CONSTANZA GARCÍA DELGADO
DRA. ROCÍO SÁNCHEZ URBINA
ASESOR METODOLÓGICO: DRA. CLAUDIA GUTIERREZ CAMACHO





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.

Directora de tesis:

Dra. Verónica Fabiola Morán Barroso
Profesora Titular de la Especialidad de Genética Médica
Hospital Infantil de México Federico Gómez

Asesores de tesis:

Dra. Constanza García Delgado
Profesora adjunta de la Especialidad de Genética Médica
Hospital Infantil de México Federico Gómez

Dra. Rocío Sánchez Urbina
Investigador en Ciencias Médicas "A"
Hospital Infantil de México Federico Gómez

Asesor metodológico:

Dra. Claudia Gutiérrez Camacho
Médica Adscrita al Departamento de Educación de Pre y Posgrado
Hospital Infantil de México Federico Gómez

Dr. Jaime Nieto Zermeño
Director de Enseñanza
Hospital Infantil de México Federico Gómez

AGRADECIMIENTOS.

A las Dras. Verónica F. Morán Barroso y Constanza García Delgado por su apoyo para la realización de éste proyecto.

A la Dra. Rocío Sánchez Urbina por compartir el trabajo realizado.

A la M. en C. Alicia Cervantes Peredo por su entusiasmo e interés en compartir el conocimiento en *pro* de la genética en México.

Al M. en C. Roberto Guevara Yáñez y a la Dra. Claudia Gutiérrez Camacho por su asesoramiento en la realización de ésta tesis.

A la Dra. Rosa Isela Ortiz De Luna y al Dr. Francisco Flores Ramírez por compartir su experiencia y enseñanzas en la genética clínica.

A mis compañeros de generación y a todo el equipo de Genética por los momentos compartidos.

A las personas que amo por hacerme tan feliz.

ÍNDICE.

I.	INTRODUCCIÓN.....	8
I.1	ASPECTOS HISTÓRICOS.....	8
I.2	ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DEL SVCF.....	10
I.3	ASPECTOS CLÍNICOS.....	11
I.3.1	Características faciales:.....	11
I.3.3	Alteraciones cardiovasculares.....	14
I.3.4	Alteraciones endocrinológicas.....	15
I.3.5	Alteraciones del lenguaje.....	17
I.3.6	Alteraciones psiquiátricas y del aprendizaje.....	17
I.3.7	Otras manifestaciones clínicas asociadas.....	18
I.3.8	Manifestaciones radiológicas.....	19
I.4	ASPECTOS DEL DESARROLLO EMBRIONARIO.....	21
I.5	BASES CITOGÉNÉTICAS Y MOLECULARES.....	27
II.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	35
III.	JUSTIFICACIÓN.....	36
IV.	OBJETIVOS.....	37
IV.1	GENERAL.....	37
IV.2	ESPECÍFICOS.....	37
V.	MATERIAL Y MÉTODOS.....	38
V.1	Universo de estudio.....	38
V.2	Procedimiento de estudio.....	38
V.3	Análisis estadístico.....	41
VI.	TIPO DE ESTUDIO.....	42
VII.	VARIABLES DE ESTUDIO.....	42

VIII. RESULTADOS.....	43
VIII.1 Número de pacientes estudiados y características demográficas.....	43
VIII.2 Análisis citogenético con bandas GTG.....	46
VIII.3 Análisis citogenético molecular por FISH.	47
VIII.4 ANÁLISIS DE LOS DATOS CLÍNICOS.	48
VIII.4.1 HALLAZGOS CRANEOFACIALES.	48
VIII.4.2 HALLAZGOS OFTALMOLÓGICOS.	51
VIII.4.3 CARACTERÍSTICAS NASALES.....	53
VIII.4.4 HALLAZGOS FARÍNGEOS, LARÍNGEOS Y DE VÍA AÉREA.	55
VIII.4.5 HALLAZGOS EN PABELLONES AURICULARES.....	57
VIII.4.6 HALLAZGOS CARDIOVASCULARES.	59
VIII.4.7 HALLAZGOS ENDOCRINOLÓGICOS.	60
VIII.4.8 HALLAZGOS ABDOMINALES.....	61
VIII.4.9 HALLAZGOS GENITOURINARIOS.....	61
VIII.4.10 HALLAZGOS MUSCULOESQUELÉTICOS.	62
VIII.4.11 EXTREMIDADES.	62
VIII.4.12 HALLAZGOS NEUROLÓGICOS.....	64
VIII.4.13 CARACTERÍSTICAS DE LENGUAJE, HABLA, VOZ.	64
VIII.4.14 PROBLEMAS DEL DESARROLLO EN LA INFANCIA.....	65
VIII.4.15 ALTERACIONES COGNITIVAS Y PSICOLÓGICAS.....	66
IX. DISCUSIÓN.....	67
X. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.....	81
ANEXO 1.....	86
ANEXO 2.....	87
ANEXO 3.....	87

RESUMEN.

Antecedentes. El síndrome Velocardiofacial (SVCF) es causado por la del22q11.2, es el síndrome por microdelección más común con una incidencia de 1:2,000 - 4,000 RNV y de 1:3800 en población hispana. Presenta fenotipo variable que involucra alteraciones faciales, cardiológicas, endocrinológicas, inmunológicas, velofaríngeas y psiquiátricas con más de 180 datos clínicos reportados.

Planteamiento del problema. ¿Cuáles son las características clínicas encontradas y la frecuencia de la microdelección 22q11.2 en pacientes con diagnóstico clínico de SVCF en el HIMFG de junio de 2008 a febrero de 2010?.

Justificación. Debido a su frecuencia y a la gran variabilidad fenotípica es importante conocer las características clínicas más frecuentes en nuestra población para hacer una sospecha diagnóstica y ofrecer la confirmación del diagnóstico por medio de FISH, así como otorgar un manejo integral y asesoramiento genético.

Objetivo general. Determinar las características fenotípicas y la frecuencia de la del22q11.2 en los pacientes con sospecha clínica de SVCF atendidos en el HIMFG de junio de 2008 a mayo de 2010.

Objetivos específicos. 1.- Identificar las características clínicas más frecuentes de los pacientes del HIMFG con la del 22q11.2 2.- Determinar la frecuencia de la del22q11.2 mediante el uso del análisis de FISH. 3.- Proporcionar asesoramiento genético y manejo integral. Tipo de estudio: transversal y descriptivo.

Material y métodos. Muestra: se incluyó a todos los pacientes con sospecha clínica de SVCF del HIMFG atendidos en los servicios de Genética, Cardiología, Endocrinología, Foniatría. Se les realizó cariotipo con técnica de bandas GTG y FISH con sonda TUPLE1 para la búsqueda de la del22q11.2. Se recabaron los datos clínicos en tablas de concentración para posteriormente determinar la frecuencia de los mismos. Al grupo de padres de hijos con diagnóstico confirmado por

FISH también se les realizó cariotipo y FISH. El análisis estadístico se realizó con prueba de X² y prueba exacta de Fisher.

RESULTADOS. Análisis por FISH de 62 pacientes (28 Masculinos y 34 Femeninos): 27 fueron positivos para la delección. Se analizó a 23 padres, todos negativos para la del22q11.2. Se encontraron 2 pacientes con cariotipo anormal por técnica de bandas GTG: 46,XY,del(10)(p13) y 45,XX,der(12),t(12;22)(q24;q11),-22[100].

Los hallazgos clínicos que resultaron estadísticamente significativos fueron: facies hipotónica, hiperrinofonía, nariz de punta bulbosa, paladar hendido, úvula bífida, hélix plegado, atresia o estenosis pulmonar y retraso del lenguaje. Se reportaron 2 defunciones: un paciente con interrupción de arco aórtico y choque cardiogénico y otro con interrupción de arco aórtico tipo B.

DISCUSIÓN. La decisión para solicitar una prueba de FISH para confirmar la del22q11.2 depende de la sospecha clínica. Si bien existen ciertos hallazgos clínicos que pueden ser utilizados como indicadores, ninguno sí solo constituye la certeza diagnóstica. Ha aumentado la proporción de pacientes positivos para la del22q11 confirmados por FISH, lo que podría deberse a una mayor sensibilización al diagnóstico clínico. No se ha detectado ningún caso familiar, probablemente debido al tamaño de la muestra y la proporción de pacientes analizados. Los casos en que el diagnóstico clínico no fue confirmado por FISH requerirán de mayor estudio, probablemente de los genes de la región entre otras técnicas por CGH-microarreglos. Lo anterior es de relevancia en el asesoramiento genético de los pacientes y sus familias.

I. INTRODUCCIÓN.

El síndrome Velocardiofacial (SVCF) es el síndrome por microdelección más común en los seres humanos con una incidencia variable según la población reportada de entre 1:2,000 - 7,000 RNV¹⁻² y de 1:3,800 en población hispana^{1,3}. Su fenotipo es muy variable e involucra alteraciones faciales, velofaríngeas, cardiológicas, endocrinológicas, inmunológicas, psiquiátricas, entre otras con más de 180 datos clínicos reportados⁴. El SVCF es causado por la del22q11.2, de *novo* en 90%⁵ de los casos y sólo 10% corresponde a casos familiares. En la actualidad algunos autores consideran que solamente se puede establecer este diagnóstico cuando se demuestra la del22q11.2, independientemente del fenotipo presente (Dr. R. Shprintzen, comunicación personal, 2010).

I.1 ASPECTOS HISTÓRICOS.

El SVCF fue descrito por primera vez en 1955 por la Dra. Eva Sedlacková⁶, foniatra de Praga (actual República Checa) quien describió la combinación de voz hipernasal y disminución de los movimientos faciales. Atribuyó lo anterior a un acortamiento del paladar blando y a una alteración de la innervación que también afectaba la musculatura facial⁷.

En 1968 el Dr. Robert Strong, cardiólogo pediatra, describió una familia con cardiopatía congénita en donde la madre y sus tres hijos estaban afectados con arco aórtico derecho, retraso mental y dismorfias faciales⁸, la revisión posterior de las fotografías publicadas demuestra que estos casos pueden ser atribuidos al síndrome velocardiofacial⁴.

Posteriormente el Dr. Angelo DiGeorge, endocrinólogo pediatra del Hospital St. Christopher's en Filadelfia, EUA describió 3 niños con deficiencia inmunológica congénita de células T e hipoplasia de glándulas paratiroides. Atribuyó estos hallazgos a una alteración en el desarrollo del tercer y cuarto arcos branquiales⁴.

Cayler en 1967 describió pacientes con anomalías conotruncales y asimetría facial al llanto⁹. En Japón, en 1976, Kinouchi y colaboradores, describieron la apariencia facial de los pacientes con anomalías conotruncales o síndrome CTAFS por sus siglas en inglés: *Conotruncal anomaly face syndrome*¹⁰.

En 1978 el Dr. Robert J. Shprintzen describe 12 pacientes con cardiopatía congénita, facies característica, voz hipernasal, alteraciones palatinas y problemas de aprendizaje. Y es precisamente él quien acuña el término "Síndrome Velocardiofacial"^{4,11}.

En un esfuerzo por unificar el amplio espectro fenotípico encontrado en la deleción 22q11.2, Wilson en 1993 propuso el acrónimo CATCH22 del inglés *conotruncal heart defect, abnormal face, T-cell deficiency, clefting e hypocalcemia*, como consecuencia de una alteración en el cromosoma 22¹². Sin embargo, este término no fue aceptado ya que tiene una connotación negativa referente a la novela homónima de Heller describiendo una situación en la que no es posible realizar nada al respecto¹³⁻¹⁴; y a la percepción de que los padres de un niño afectado difícilmente estarían de acuerdo en que su hijo tiene una facies anormal¹⁴.

El primer reporte de una microdeleción intersticial 22q11.2 en el SVCF fue hecho en 1992 por Scambler¹⁵. En ese mismo año publicó un análisis molecular para determinar la frecuencia de la monosomía 22q11 en el Síndrome de DiGeorge, en donde se comprobó la deleción en 33 de 35 pacientes estudiados¹⁶.

I.2 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DEL SVCF.

La incidencia ha sido difícil de estimar teniendo un amplio rango entre 1:2000 y 1:7000² entre otras causas, debido a las diferentes presentaciones clínicas que los pacientes tienen al momento del diagnóstico. Lo anterior, ya que el SVCF es una alteración en donde muchos de los hallazgos clínicos no son aparentes o detectables al momento del nacimiento ni durante la infancia temprana. Esta variación en el cuadro clínico en pacientes pediátricos y adultos trae como consecuencia que sean diagnosticados tardíamente e incluso que sean subdiagnosticados².

También es posible que debido a las complicaciones por el tipo de cardiopatía congénita y a la atención primaria que reciban al nacimiento, algunos pacientes con SVCF no sobrevivan al período neonatal y por lo tanto la frecuencia varíe. Se ha reportado que pacientes con SVCF que tienen atresia pulmonar en asociación con cardiopatía compleja no sobreviven el período neonatal,¹⁷ por lo que se puede sospechar una discordancia entre prevalencia e incidencia.

I.3 ASPECTOS CLÍNICOS.

El SVCF tiene un espectro fenotípico extremadamente variable. Se han descrito más de 180 características clínicas diferentes⁴ incluyendo casi todos los órganos y sistemas, de las cuales ninguna se ha reportado en el 100% de los casos y algunas tienen muy baja frecuencia. La mayoría de los pacientes que se identifican en el período neonatal es por el tipo de cardiopatía congénita que presentan (conotruncal), sin embargo, hasta 30% de los pacientes con SVCF no presentan cardiopatía, y otros pueden tener anomalías cardiacas silentes, como el arco aórtico derecho que no es detectado si no se busca de forma intencionada².

A continuación se describen los 8 aspectos clínicos que con mayor frecuencia presentan alteraciones en el SVCF.

I.3.1 Características faciales:

La mayoría de los pacientes presentan facies alargada, desplazamiento lateral del canto interno, fisuras palpebrales estrechas, hipertelorismo, párpados gruesos, hipoplasia malar, nariz prominente o bulbosa con raíz nasal cuadrada e hipoplasia de alas nasales. Boca pequeña, filtrum corto, retrognatia, micrognatia y pabellones auriculares de baja implantación, dismórficos con fusión de hélix-antehélix. Con menor frecuencia se encuentra asimetría facial^{5,14}.

La apariencia facial característica es más evidente durante la infancia y puede en ocasiones no ser aparente en los recién nacidos o adultos¹⁴ (Figura 1).



Figura 1. Facies típica en el SVCF.
Se observa facies hipotónica, fisuras palpebrales estrechas, hipoplasia malar y nariz bulbosa².

I.3.2 Alteraciones Velofaríngeas:

Las malformaciones del paladar son muy comunes, las más frecuentes son el paladar hendido submucoso (PHS) y el paladar hendido submucoso oculto (PHSO)^{5,18-19}. Debido a que se requiere una evaluación especializada e implica procedimientos como la realización de una nasolarinoscopia para la detección de este tipo de alteraciones, probablemente se ha subdiagnosticado la frecuencia del paladar hendido, especialmente cuando se busca al nacimiento².

Se ha identificado una frecuencia alta de asimetría palatina y faríngea en pacientes con SVCF, esta última es descrita en la valoración endoscópica²⁰. Otras alteraciones identificadas en la exploración faríngea son las malformaciones vasculares como la ectopia de arteria carótida interna que se puede encontrar muy superficial²¹⁻²² y las arterias vertebrales tortuosas²³. Esta situación se ha relacionado a su vez con un mayor riesgo durante la cirugía correctiva de paladar, aunque es un punto controversial debido a que algunos cirujanos consideran que si se puede ver el latido carotideo durante el procedimiento, puede evitarse un acercamiento que ponga en riesgo esa región (Dr. R. Shprintzen, comunicación personal, 2010).

Así mismo se han reportado alteraciones en la musculatura de la faringe que están en relación con el tamaño y la distribución de las fibras musculares²⁴. La interacción de los factores mencionados se relaciona con la presencia de la insuficiencia velofaríngea característica de este síndrome que se puede manifestar como alteraciones del lenguaje y dificultad para la alimentación⁵.

I.3.3 Alteraciones cardiovasculares.

Aproximadamente 70% de los pacientes con SVCF tienen una cardiopatía congénita. Las cardiopatía se caracterizan por ser defectos cono-troncales o del arco aórtico, como por ejemplo tetralogía de Fallot (en ~30% de los casos)^{14,25-26}, arco aórtico derecho o cervical, interrupción de arco aórtico tipo B (~15%), defecto septal ventricular (~15%) y persistencia de tronco arterioso (~10%).

El 10% de los casos presenta otras alteraciones¹⁴ como son: arterias subclavias aberrantes, arterias pulmonares discontinuas, hipoplásicas, estenóticas o con defectos en la arborización, aneurisma disecante de la arteria pulmonar²⁷⁻²⁸, septum infundibular desalineado, hipoplásico o ausente, válvula semilunar bicúspide, displásica, insuficiente o estenótica²⁹. La cardiopatía más frecuente en el SVCF (al igual que ocurre en la población general) es la comunicación interventricular (CIV), sin embargo, de los pacientes con CIV es una baja proporción los que presentan SVCF.

Los pacientes con SVCF comprenden un alto porcentaje de los pacientes con malformaciones cardíacas cono-troncales e incluyen a más de la mitad de los pacientes con interrupción de arco aórtico tipo B y casi a la mitad de los casos de tronco arterioso, además de un tercio de las CIV por desalineación y más de 15% de los pacientes con tetralogía de Fallot^{2,30}.

Ha sido confirmado que la presencia de este tipo de cardiopatía en el SVCF se debe a la haploinsuficiencia del gen *TBX1* localizado en la región 22q11.2³¹⁻³³.

I.3.4 Alteraciones endocrinológicas.

Las alteraciones hormonales son comunes en el SVCF y si bien el hipoparatiroidismo fue la primera alteración endocrinológica descrita en el síndrome DiGeorge, también se han reportado deficiencia de hormona de crecimiento, hipotiroidismo e hipertiroidismo^{5,34}.

La función paratiroidea anormal en el síndrome de DiGeorge puede variar desde una hipocalcemia grave neonatal a una insuficiencia de hormona paratiroidea subclínica manifestada ante un estímulo desencadenante³⁴. En el síndrome de DiGeorge de presentación completa se describe ausencia de paratiroides sin función de linfocitos T, a diferencia del tipo parcial en donde puede existir función de células T, esto como consecuencia de una malformación, hipoplasia o alteración en el descenso del timo y glándulas paratiroides³⁵.

La hipocalcemia es considerada un dato cardinal del síndrome, se ha reportado con prevalencias diferentes dependiendo de los criterios de selección de los pacientes. En una serie de 158 pacientes con del22q11.2 confirmada se detectó que 77 (49%) presentaban hipocalcemia³⁶ y en otro grupo europeo de 340 pacientes, 203 (60%) la presentaron, de los cuales 39% tuvo crisis convulsivas y 70% hipocalcemias transitorias³⁷.

El hipoparatiroidismo puede ser desencadenado por períodos de aumento en la demanda del metabolismo como puede ser una cirugía cardiopulmonar, enfermedad aguda o durante la adolescencia o adultez. La hipocalcemia en los niños con del22q11.2 se debe invariablemente al hipoparatiroidismo como fue originalmente descrito por DiGeorge en 1965 y ha sido documentado como aplasia e hipoplasia de las glándulas paratiroides durante cirugías o autopsias³⁴.

Las alteraciones en el crecimiento se detectaron en el síndrome desde 1980, cuando Young y colaboradores reportaron talla baja en 11

de 27 pacientes (41%)³⁴, posteriormente Shprintzen reportó talla por debajo de la percentila 3 en 15 de 39 pacientes analizados (39%)³⁸.

En el Hospital Infantil de Filadelfia, 39 de 95 niños (41%) con del22q11.2 presentaron talla por debajo de la percentila 5 y 4 de ellos tenían talla baja extrema. En todos se encontró deficiencia de hormona del crecimiento, los niveles de IGF1-like y la proteína 3 de unión a IGF1-like se encontraron por debajo de lo establecido por edad y género. Las pruebas de estimulación de la hipófisis con arginina, clonidina y L-dopa demostraron que la respuesta máxima de la hormona de crecimiento estaba por debajo de lo normal³⁹. Dos de estos cuatro pacientes mostraron alteraciones anatómicas en la resonancia magnética de cerebro, como hipoplasia anterior de hipófisis e inserción infundibular anormal con ectopia de hipófisis posterior. Las alteraciones cerebrales en el SVCF habían sido descritas anteriormente, pero no involucraban a la glándula hipófisis⁴⁰.

Las alteraciones de la tiroides han sido reportadas en forma esporádica en estos pacientes, Driscoll encontró hipotiroidismo en 1 de 15 pacientes con SVCF (7%) y Wilson lo reportó en 2 de 44 (5%). En el estudio colaborativo de Europa se detectó en 4 de 548 pacientes (0.7%) con delección 22q11.2^{34,37} y Goldberg documentó hipotiroidismo primario en 1 de 120 pacientes (0.8%). El hipotiroidismo primario levemente compensado se ha visto en pacientes adolescentes³⁴.

Otras alteraciones reportadas son retraso en la velocidad de crecimiento, persistencia de la forma fetal del cartílago tiroideo, tráquea corta con disminución del número de anillos cartilaginosos, así como tetania hipocalcémica en el recién nacido³⁵.

El conocimiento en la prevalencia de las alteraciones hormonales es importante no sólo para el asesoramiento genético, sino también para proporcionar un cuidado óptimo a los pacientes.

I.3.5 Alteraciones del lenguaje.

Las variaciones en el lenguaje son muy frecuentes, aproximadamente 75% presenta voz hiperrinofónica y un alto porcentaje muestra alteraciones de articulación graves².

El establecimiento del lenguaje se encuentra retrasado levemente. En la evaluación de la función faríngea el paciente debe repetir palabras o frases estandarizadas, por lo que la cooperación del paciente es esencial. Debido al retraso del desarrollo y a los problemas de comportamiento es difícil realizar esta evaluación antes de los 5 años de edad¹⁴.

En los pacientes con voz hipernasal leve es necesario iniciar terapia del lenguaje inmediatamente para mejorar la función del velo palatino. Se pueden utilizar ejercicios de la corriente de aire nasales u orales o ejercicios del paladar como soplar. En los casos de disfunción velofaríngea con resonancia hipernasal moderada o grave con escape nasal se debe utilizar faringoplastia¹⁴.

I.3.6 Alteraciones psiquiátricas y del aprendizaje.

Los pacientes con SVCF pueden presentar déficit del razonamiento matemático, retraso mental, alteraciones psiquiátricas como déficit de atención, hiperactividad, trastorno de ansiedad generalizada, depresión, trastorno paranoide y esquizofrenia, entre otros ⁴¹. La presencia de psicosis es 25 veces mayor que en la población general² y la presencia de esquizofrenia se ha estimado en 2-5%⁴².

Si bien, tienen dificultad considerable para las matemáticas presentan un desarrollo relativamente normal para la lectura. La dificultad para entender y representar cantidades numéricas posiblemente esté relacionada con una atención viso-espacial pobre

que puede estar asociada a las alteraciones de la corteza parietal inferior⁴³.

El primer reporte de alteraciones psiquiátricas en SVCF fue en 1992⁴⁴ y coincidió con el hallazgo de la del22q11.2. Este hecho estableció un interés especial para la búsqueda de genes relacionados con entidades psiquiátricas en la región deletada, incluyendo a *COMT* el cual codifica a la catecol-O-metiltransferasa, enzima responsable de la degradación de catecolaminas, como la dopamina y la epinefrina.⁴⁵

También se han realizado estudios enfocados a la estructura y función del cerebro de los pacientes con SVCF, en los que se ha reportado reducción en el volumen de las sustancias gris y blanca, características anormales del cuerpo calloso, la amígdala, el núcleo caudado y la región temporo-parietal.⁴⁶⁻⁴⁸⁻⁴⁶

1.3.7 Otras manifestaciones clínicas asociadas.

Los problemas en la alimentación también son comunes en el SVCF, éstos pueden ser por múltiples alteraciones como hipotonía, cardiopatía congénita, alteraciones endócrinas, obstrucción de la vía aérea secundaria a retrognatia o disminución del tono muscular.

Las alteraciones oftalmológicas reportadas incluyen vasos retinianos tortuosos, disco óptico pequeño, embriotoxón, catarata, coloboma y microftalmos unilateral⁴⁹.

La hipoacusia que se presenta en estos pacientes en la mayoría de los casos es de tipo conductivo y está relacionada con otitis media crónica. Sin embargo, 15% de los pacientes con del22q11.2 tiene algún grado de hipoacusia neurosensorial, de éstas la mayoría son leves y unilaterales⁵.

Las alteraciones inmunológicas son comunes y usualmente se manifiestan como infecciones frecuentes durante los primeros cuatro años de vida, particularmente del aparato respiratorio. Las infecciones crónicas de oído medio se presentan en 75% de los individuos afectados y como ya se mencionó pueden tener secuelas como la hipoacusia conductiva. También se puede presentar deficiencia de IgM⁵⁰.

En el SVCF, también se han reportado características como: microcefalia, paresia facial unilateral, secuencia Robin, hipoacusia neurosensorial, disfunción del nervio glossofaríngeo, cuello corto, hipotonía faríngea, debilidad de la cintura escapular⁵¹, broncoespasmo, agenesia pulmonar⁵²⁻⁵³, hernia umbilical, hernia inguinal, escoliosis, dedos delgados o estrechos, polidactilia⁵⁴ e hipospadias⁵.

I.3.8 Manifestaciones radiológicas.

En la radiografía de tórax se identifica la ausencia de la silueta del timo desde la primera semana de vida. Dentro de las malformaciones cardiovasculares se pueden diagnosticar defecto septal ventricular con o sin arco aórtico derecho, tetralogía de Fallot, hipoplasia de arterias pulmonares, crecimiento, tortuosidad y desplazamiento medial de carótidas internas, entre otras³⁵.

A nivel de cráneo y sistema nervioso central puede haber platibasia, occipitalización de C1, fosa posterior pequeña, quiste adyacente al asta anterior, signos de hiperintensidad focal en la sustancia blanca, puente y vérmix pequeños⁵⁵, paquigiria⁵⁶, polimicrogiria⁵⁷⁻⁵⁸, alteración de la sustancia blanca⁵⁹, malformación de Arnold Chiari tipo 1⁶⁰. Así como displasia espondiloepifisial⁶¹.

Existen también alteraciones como fístula traqueoesofágica, atresia esofágica, alteraciones diafragmáticas, hipoplasia pulmonar, malrotación intestinal, hidronefrosis, y ano imperforado. A nivel vertebral se describe disminución en los centros de osificación del hueso hioides y alteraciones vertebrales, especialmente defectos en la línea media de C1, alteraciones posteriores en C2 y fusión de C2 y C3⁶².

En el diagnóstico prenatal con ultrasonido se puede detectar aumento de la translucencia nucal ⁶³ y malformaciones cardíacas como la tetralogía de Fallot ⁶⁴⁻⁶⁵.

I.4 ASPECTOS DEL DESARROLLO EMBRIONARIO.

Las estructuras primariamente afectadas en el SVCF derivan de la tercera y cuarta bolsas faríngeas, que a su vez derivan de las células de la cresta neural. Ésta sólo existe en el desarrollo embrionario temprano, lo que sugiere una haploinsuficiencia de los genes localizados en la región 22q11.2, y expresados en las primeras semanas de gestación¹⁴.

El aparato faríngeo es un sistema de estructuras embrionarias que participan en la formación de la cabeza y el cuello durante el periodo embrionario. Está compuesto por arcos faríngeos, bolsas faríngeas, surcos faríngeos y membranas faríngeas⁶⁶.

Los arcos faríngeos inician su desarrollo a comienzos de la cuarta semana a partir de las células de la cresta neural que migran hacia las futuras regiones de la cabeza y el cuello. Son estructuras simétricas bilaterales que se desarrollan en forma segmentaria a lo largo del eje antero-posterior. Cada arco está constituido por un núcleo de mesénquima, recubierto por ectodermo en la parte externa y endodermo en la cara interna⁶⁷ (Figura 2).

El mesodermo origina los músculos faciales y del cuello, mientras que el mesénquima derivado de la cresta neural da origen a estructuras esqueléticas de la cara y del sistema cardiovascular⁶⁷. Además de estar llenos de mesénquima, cada arco tiene una arteria principal (arco aórtico) y un par craneal. Cada uno también tiene un cordón central de mesénquima cartilaginosa, que dará lugar a derivados esqueléticos adultos específicos⁶⁷.

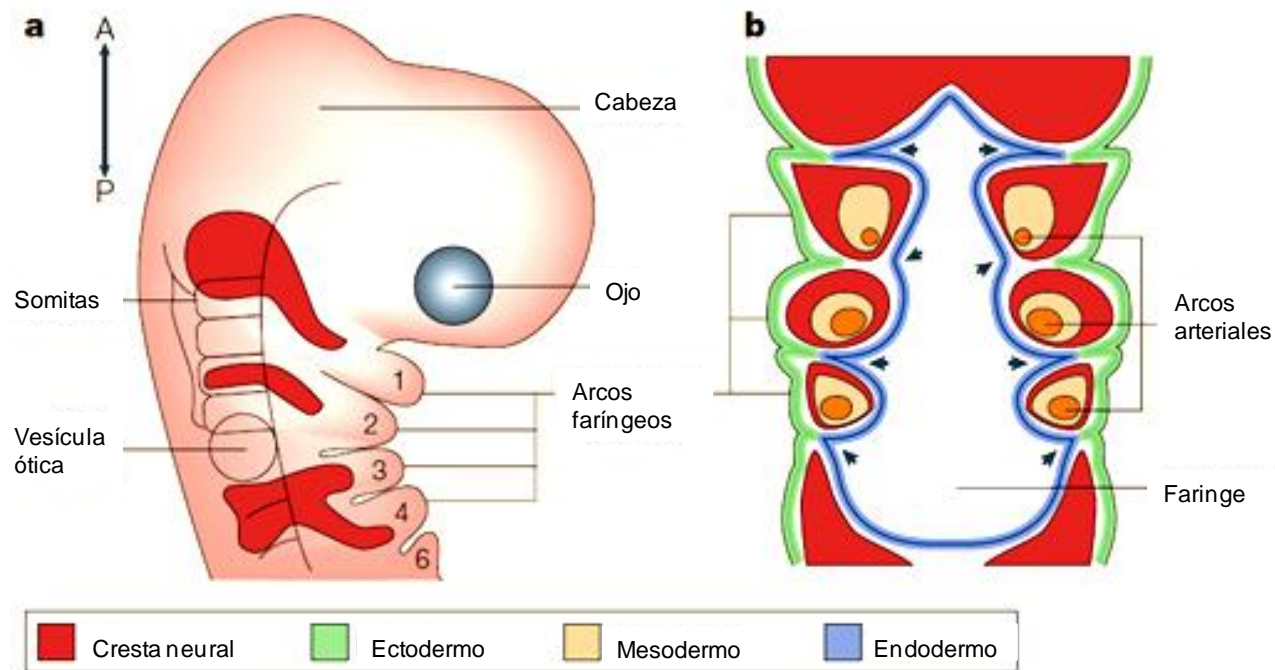


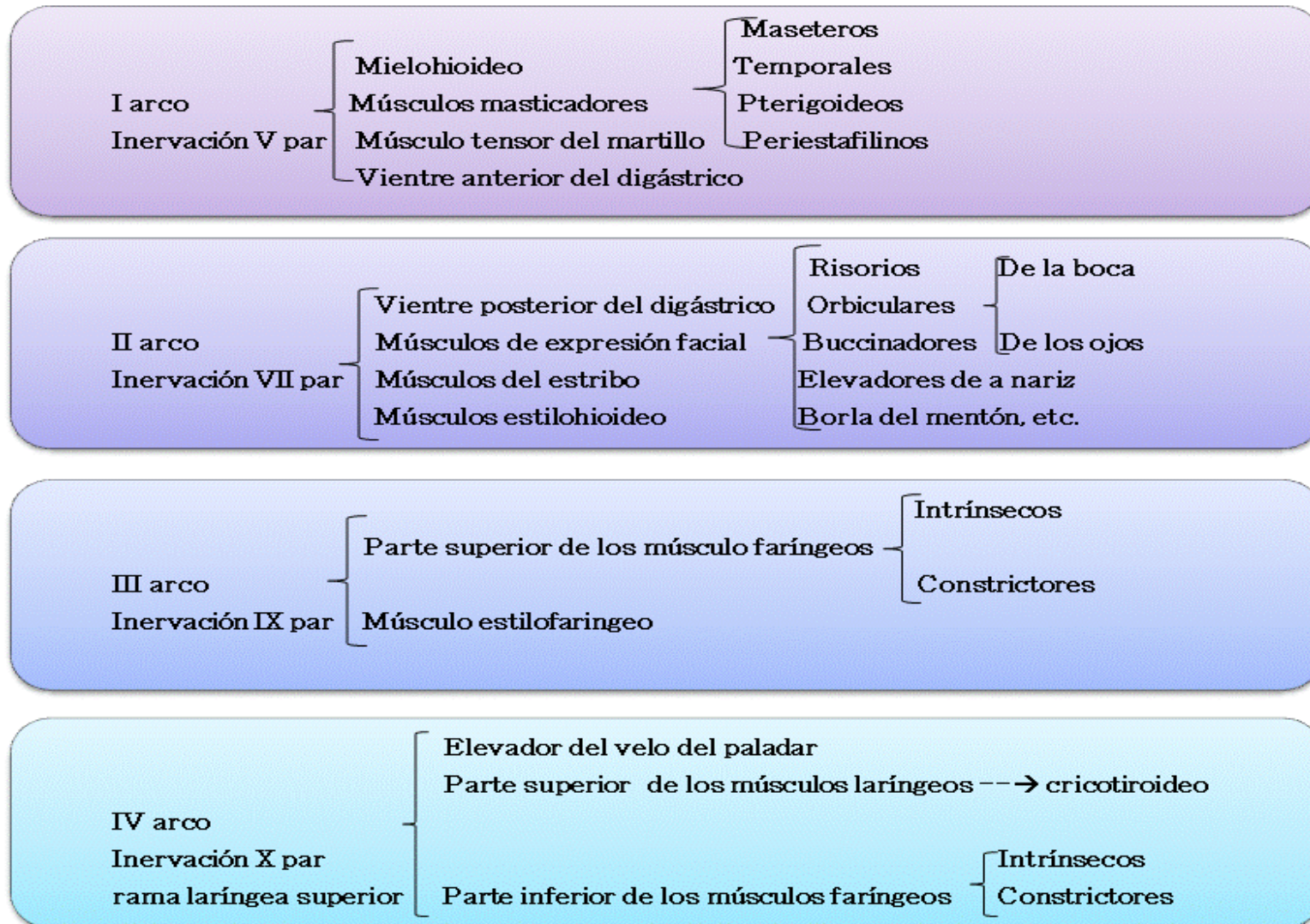
Figura 2. a) Complejo de arcos y bolsas faríngeas (aparato faríngeo). Las tres capas blastodérmicas forman parte del aparato faríngeo. **b)** Cada arco faríngeo tiene un recubrimiento externo de ectodermo (verde), un recubrimiento interno de endodermo (azul) y entre éstos se encuentra un centro de ectomesénquima de cresta neural (rojo). Modificada de Linsay 2001⁶⁸.

El primer arco branquial (mandibular) contribuye a la formación de las estructuras de la cara y del oído. El cartílago de Meckel (su cordón cartilaginoso central), es un componente importante de la mandíbula embrionaria, hasta que es rodeado por hueso intramembranoso y da lugar a la mandíbula definitiva. La musculatura del primer arco se relaciona con la masticación, la faringe y el oído medio. Una característica que comparten estos músculos es su inervación por el trigémino (par V)⁶⁹.

El segundo arco branquial (hioideo) también forma una cadena de estructuras esqueléticas desde el cuerpo del hueso hioides hasta el estribo del oído medio. La gran mayoría del mesodermo migra a la cara para formar los músculos de la expresión facial, también da lugar a la formación del músculo estapedio asociado con el estribo. Estos músculos del segundo arco están inervados por el nervio facial (par VII).

El tercer arco branquial da lugar a las estructuras relacionadas con el hueso hioides y la porción superior de la faringe. El esqueleto del tercer arco se convierte en el cuerno mayor del hueso hioides. El derivado muscular (estilofaríngeo) está inervado por el nervio glosofaríngeo (par IX)⁶⁹.

El cuarto arco da origen a ciertos músculos (cricotiroideo, elevador del velo del paladar, constrictores de la faringe, músculos intrínsecos de la laringe y músculos estriados del esófago) y cartílagos de la laringe (tiroides, cricoides, aritenoides, corniculado y cuneiforme) y la parte inferior de la faringe. Los músculos están inervados por el vago (par X), también se prolonga hacia las cavidades torácica y abdominal.⁶⁷ (Cuadro 1).

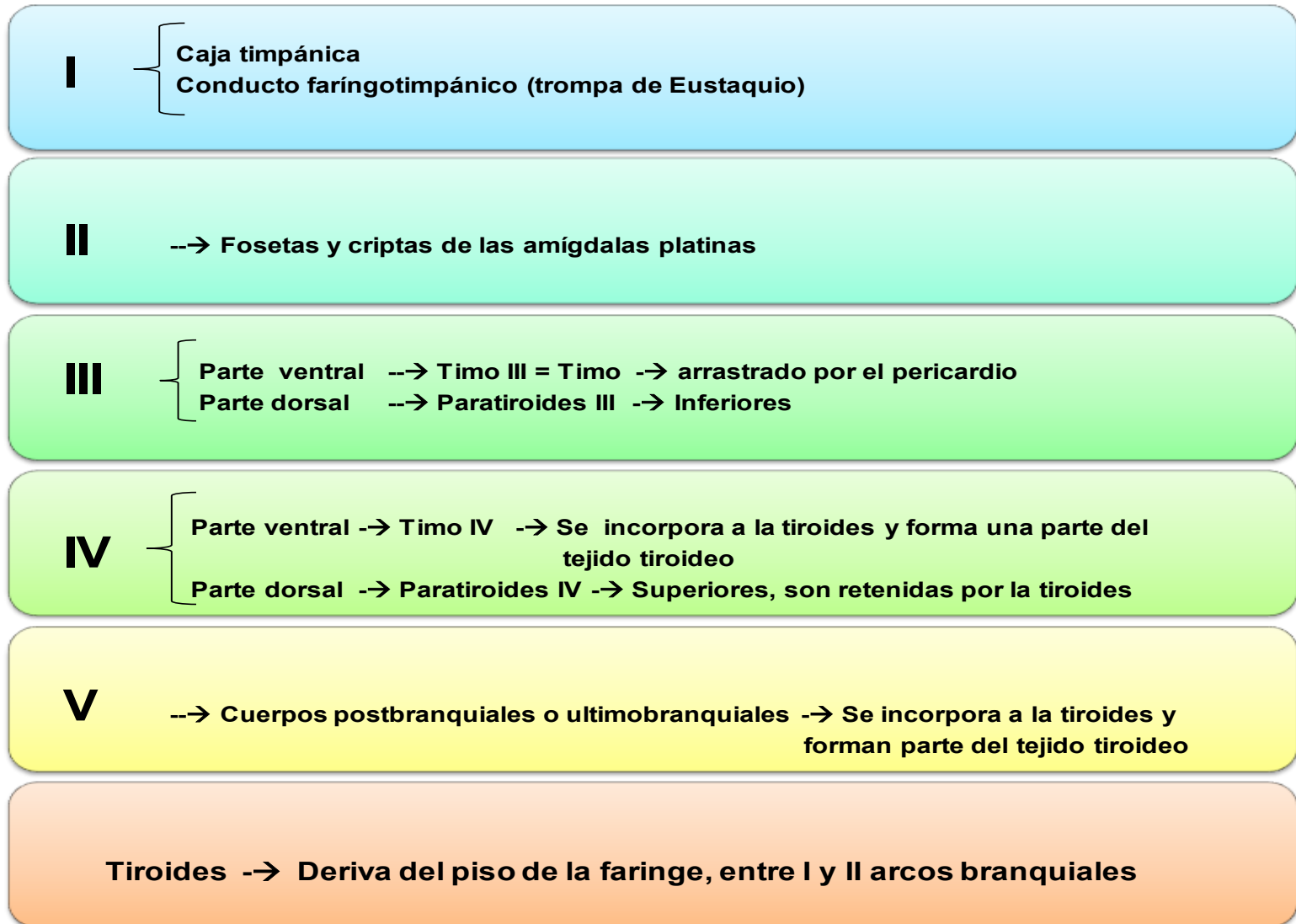


Cuadro 1. Derivados de arcos faríngeos. Modificado de Carlson 2009⁶⁷.

Las primeras bolsas faríngeas tienen una participación importante en el desarrollo del oído. El extremo de cada bolsa crece hasta convertirse en el antro timpánico del oído medio y el resto se convierte en trompa de Eustaquio. Las segundas bolsas faríngeas propiamente dichas están presentes sólo en la fosa supratonsilar⁶⁶.

Las terceras bolsas faríngeas son una estructura más compleja. Hacia la quinta semana de gestación, pueden reconocerse en el endodermo de la masa sólida dorsal unas células identificables como tejido paratiroideo. La elongación ventral de la tercera bolsa se diferencia en la porción epitelial del timo. Los primordios del timo y de las glándulas paratiroides pierden su conexión con la tercera bolsa faríngea y migran en dirección caudal a partir de su lugar de origen. En la línea media se adosan a la glándula tiroides y sobrepasan los primordios paratiroideos de la cuarta bolsa para formar las glándulas paratiroides inferiores⁶⁶.

En las cuartas bolsas faríngeas, hacia la sexta semana, cada porción dorsal se desarrolla hacia una glándula paratiroides superior que llega a situarse en la superficie dorsal de la glándula tiroides. Durante el período embrionario se diferencian las células principales y se piensa que se tornan activas en la regulación del metabolismo del calcio fetal. Las células oxifilas se diferencian 5 a 7 años después del nacimiento. La porción ventral de cada cuarta bolsa se desarrolla hacia un cuerpo último branquial, éste se fusiona con la glándula tiroides y después se difumina dentro de ella para originar las células parafoliculares o células C productoras de calcitonina de la glándula tiroides⁶⁶ (Cuadro 2).



Cuadro 1. Bolsas faríngeas. Modificado de Carlson 2009⁶⁷.

I.5 BASES CITOGENÉTICAS Y MOLECULARES.

Los estudios citogenéticos han proporcionado información acerca de la pérdida y ganancia de segmentos cromosómicos que pueden ser originadas por alteraciones en los eventos de recombinación. En la actualidad se ha puesto mayor atención en la caracterización de las variaciones en el genoma, las cuales caen en un rango que va desde solo un nucleótido hasta cambios cromosómicos visibles microscópicamente (alteraciones <5Mb)⁷⁰.

Estudios recientes se enfocan en identificar cambios en el número de copias en el genoma, los cuales ocurren en individuos sanos. Estas variaciones en el número de copias (CNV, por sus siglas en inglés) incluyen inserciones y deleciones. Las inserciones o deleciones de >1kb contribuyen en la diversificación del genoma humano lo cual ha llamado la atención en relación a la etiología de las enfermedades de origen genético. Tal es el caso de segmentos duplicados, en número bajo de copias (LCR, o *low-copy repeats*) que tienen una homología alta y que constituyen aproximadamente 5% del genoma⁷¹.

En el genoma humano se han encontrado regiones cromosómicas caracterizadas por la presencia de segmentos específicos duplicados (Figura 3). Estos segmentos duplicados presentan un nivel alto de secuencias idénticas, hasta 98%, predisponiendo a estas regiones para la recombinación homóloga no alélica, lo que puede resultar en deleciones, duplicaciones e inversiones, que provocan desórdenes genómicos⁷¹.

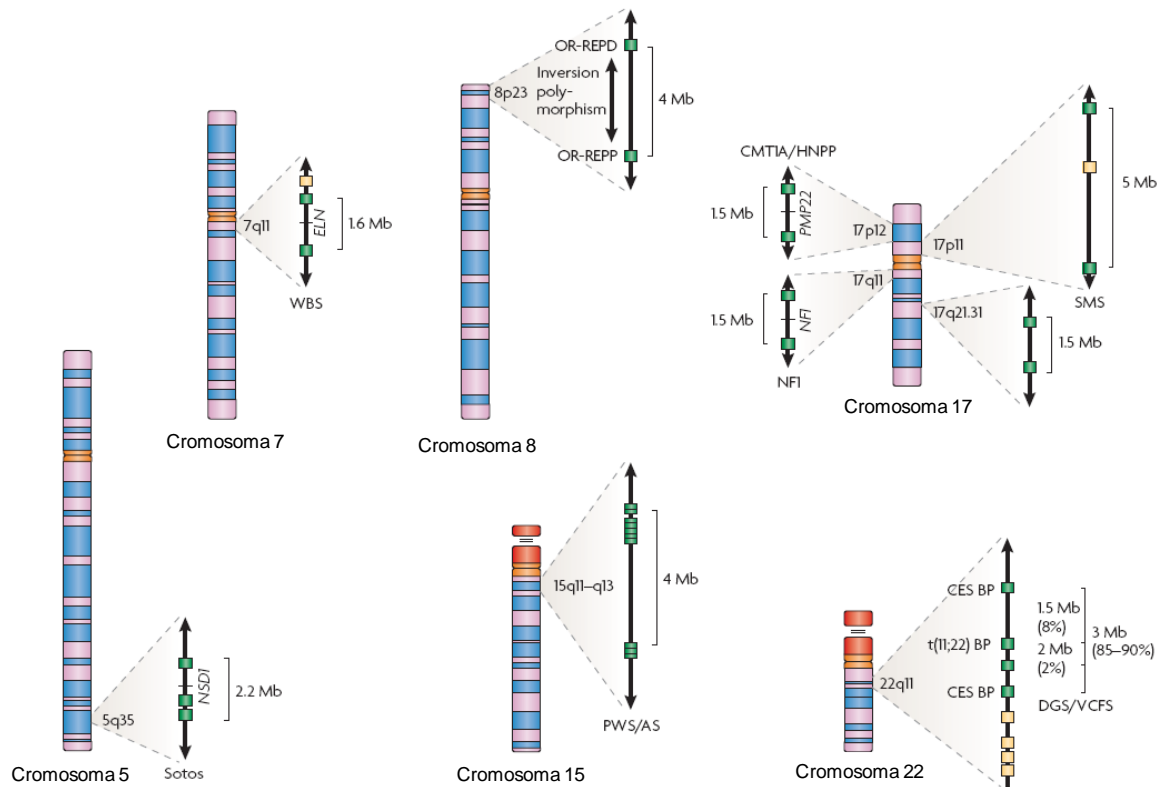


Figura 3. Rearreglos cromosómicos mediados por duplicaciones segmentales. Los segmentos duplicados que se muestran en color verde indican regiones que se han identificado como responsables de los rearrreglos cromosómicos recurrentes, mientras que los cuadros amarillos indican copias que están involucradas con menor frecuencia en rearrreglos cromosómicos. Modificado de Emanuel y colaboradores 2007⁷⁰.

En el mecanismo que ocasiona estos rearrreglos cromosómicos, intervienen secuencias homólogas (LCR) que usualmente van de 10 a 400 kb. El análisis de los rearrreglos reveló que la alineación incorrecta de LCR homólogos no alélicos durante la recombinación depende de las características de la arquitectura del genoma. Estas características incluyen el tamaño del repetido, el grado de homología, la distancia entre los LCR y la orientación de uno respecto al otro. Puede ser que el tamaño influya más que el grado de homología en la interacción inicial. Las recombinaciones pueden ocurrir en forma intercromosómica, intracromosómica e intracromátide⁷¹ (Figura 4).

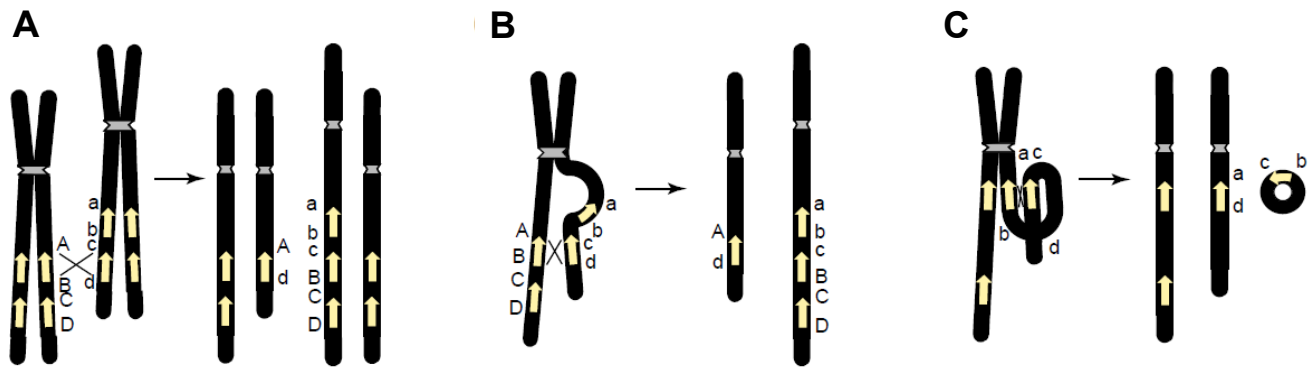


Figura 4. Representación esquemática de rearrreglos genómicos por recombinación homóloga no alélica basada en la alineación entre repetidos en bajo número de copias (LCR/NAHR). Los cromosomas se muestran en negro, las flechas amarillas representan LCR. La figura describe los LCR de forma horizontal acorde a la orientación y estructura. Los rearrreglos cromosómicos y los productos predecibles son descritos por los mecanismos: intercromosómicos (A); intracromosómicos (B); e intracromátidas (C). Modificada de Stankiewicz 2002⁷¹.

Las alteraciones descritas originan síndromes clínicos, los que están relacionados con la pérdida o ganancia de una región debido a la dosis de los genes contenidos en el intervalo cromosómico (Figura 2). Un ejemplo de ello son las alteraciones del cromosoma 22, en él pueden existir deleciones como en el SVCF, duplicaciones como en el síndrome de cat eye y translocaciones recurrentes como la t(11;22) con el der(22) en el síndrome de Emanuel⁷⁰ (Figura 5).

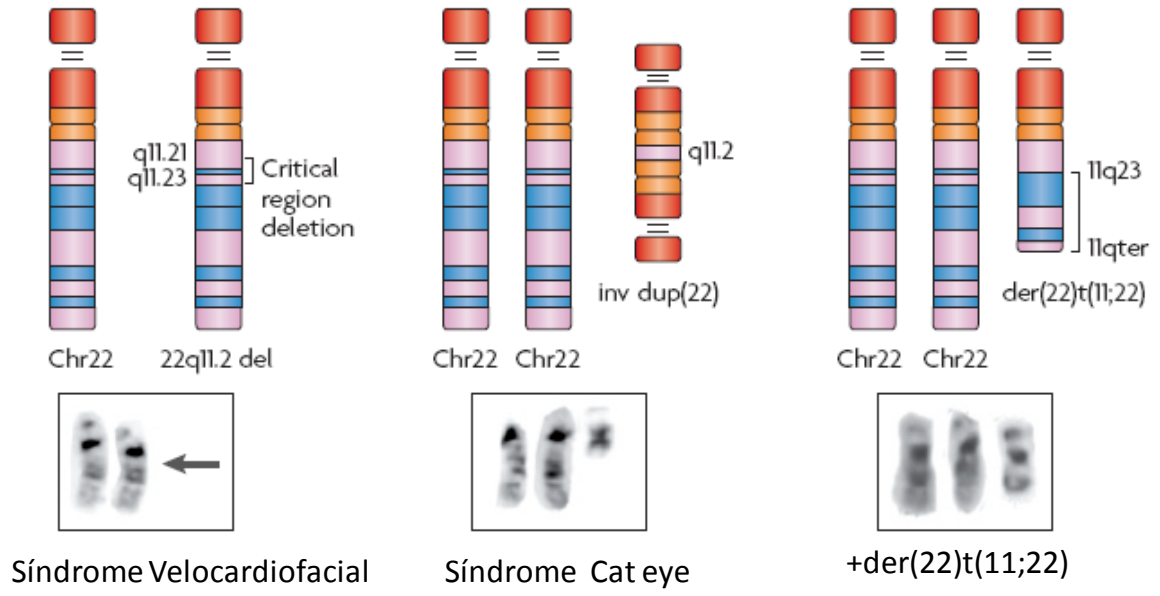


Figura 5. Ideograma y cariotipo parcial de anomalías del cromosoma 22. La del22q11.2 está indicada por la flecha, asociada con el SVCF y SDG. La inv dup(22) es asociada con el síndrome de Cat eye y el +der(22)t(11;22) un derivativo 22 que es generado por la translocación entre los cromosomas 11 y 22. Modificado de Emanuel y colaboradores 2007⁷⁰.

Los síndromes por microdelección son alteraciones genómicas que se conocen también como “síndromes de genes contiguos” debido a que la pérdida del segmento cromosómico contiene múltiples genes y su expresión en el fenotipo es derivado de la suma de alteraciones ocasionada por la haploinsuficiencia de los genes involucrados y no de un solo gen⁵.

Dentro de las alteraciones genómicas y síndromes por microdelección, se encuentran la del22q11.2 la cual está presente en el SVCF. La del22q11.2 es el síndrome por microdelección más frecuente, el 85-90% de los pacientes tienen una delección de 3Mb, conteniendo aproximadamente 40 genes², asimismo existe una delección de 1.5Mb que es la segunda en frecuencia y los demás tipos dependen del sitio de recombinación (Figura 6).

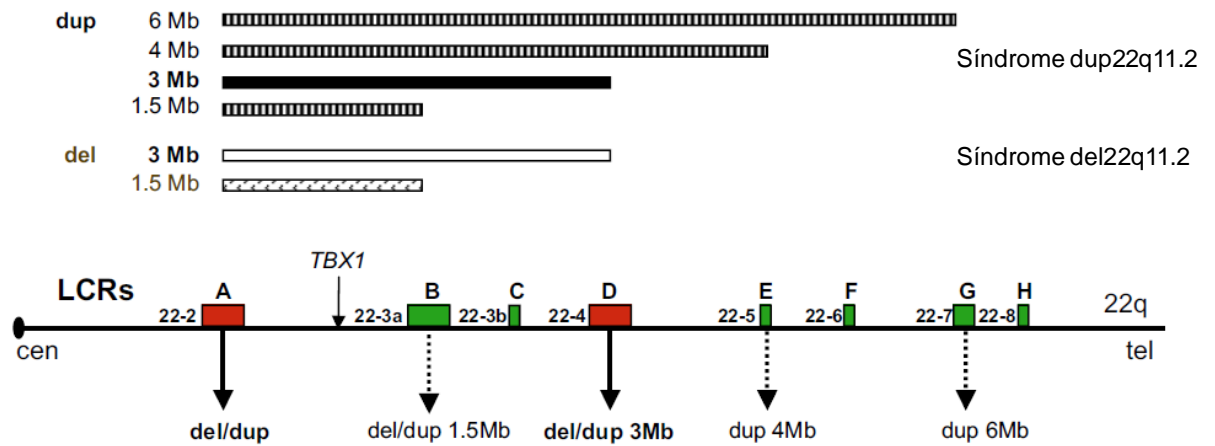


Figura 6. Representación esquemática de la región 22q11.2, muestra la localización de los LCR22 y la mayoría de los puntos de ruptura en deleciones y duplicaciones de síndromes 22q11.2. Modificada de Portnoi 2009⁷².

Actualmente se ha establecido que 100% de los individuos con diagnóstico de SVCF presentan la microdelección 22q11.2^{2,4}. El tamaño de la deleción es variable de un individuo a otro. En 90% de los afectados se encuentra una deleción de 3 Mb con puntos de ruptura idénticos. Aproximadamente 8% de los casos tienen una deleción de 1.5 Mb con el mismo punto de ruptura proximal y 2% deleciones más pequeñas^{5,14}.

Generalmente las deleciones surgen espontáneamente debido a una inestabilidad conferida por las secuencias específicas (LCR) del cromosoma 22. Un total de 8 LCR fueron identificadas en 22q11, pero sólo cuatro están involucradas en la región típicamente deletada. Estas se denominan LCR-A, -B, -C, y -D⁷³.

Los LCR-A y -D que corresponden a los extremos de la deleción de 3Mb (Figura 7), son los más largos en tamaño y los que comparten mayor similitud, ya que poseen 97-98% de secuencias idénticas. El LCR-A tiene una longitud de ~350kb, LCR-B de ~135 Kb, y LCR-D ~250 Kb, el LCR-C es el más corto.

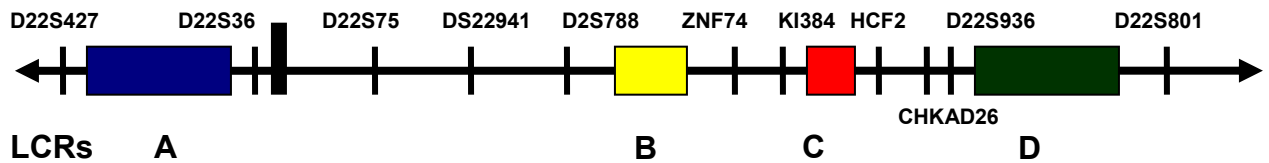


Figura 7. Diagrama de la posición de los LCR (-A, -B, -C, y -D) en la región de 3Mb delimitada por los marcadores D22S427-D22S801. LCR-A se encuentra entre los marcadores D22S427y D22S36; LCR-B entre D22S788 y ZNF74; LCR-C entre KI384 y HCF2, y LCR-D entre D22S936 y D22S801⁷³.

En las deleciones de 3 Mb hay más de 30 genes involucrados y en las de 1.5 Mb más de 25 genes. Sin embargo, hasta el momento no se ha confirmado alguna correlación entre el fenotipo y el genotipo en relación al tamaño de la deleción identificada, ya que la variabilidad se presenta también en casos familiares (Figura 8).

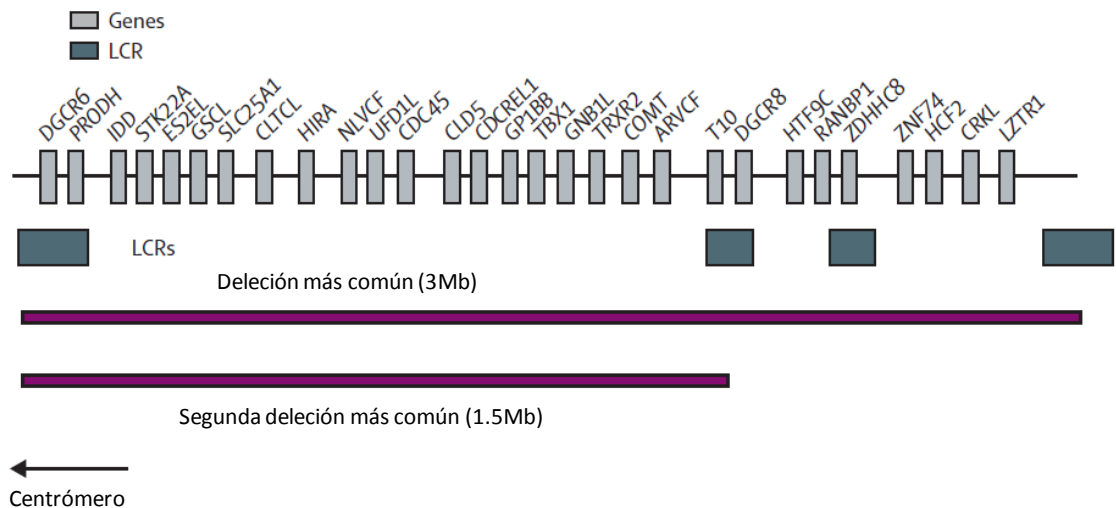


Figura 8. Genes comúnmente deletados en la región del cromosoma 22. Modificada de Kobrynski y colaboradores 2007⁷⁴.

Se han propuesto varios genes candidatos para el SVCF basándose en su localización en la región o a la expresión en los órganos afectados. Sin embargo, no es posible atribuir las características o el espectro fenotípico a alteraciones de un solo gen sino a la contribución o a la relación aditiva de varios genes, que dan origen al síndrome⁵. Algunos de los genes candidatos se describen a continuación.

Se han utilizado diversos modelos animales para dilucidar la función de los genes de la región crítica. *HIRA* codifica para el ortólogo de las proteínas de la levadura Hir1p y Hir2p, que son correpresores de la regulación de genes de histonas dependientes de ciclo celular y son expresados en los tejidos derivados de la cresta neural. La atenuación de Hira en las células de cresta neural de los embriones de pollo resulta en un aumento en la incidencia de PCA⁷⁵.

UFD1L es el ortólogo de la levadura de un gen altamente conservado involucrado en la degradación de proteínas mediada por ubiquitinas; también es altamente expresado en los arcos faríngeos, en la cabeza y en las extremidades tanto de embriones de pollo como de ratón. La atenuación de *Ufd1l* en células de la cresta neural de pollo lleva a un aumento en la incidencia de defectos del septo cardíaco⁷⁶.

Crkol (en humanos *CRKL*) codifica para una proteína adaptadora SH2-SH3-SH3 involucrada en la respuesta a factores de crecimiento y en la señalización de adhesión focal, la cual se expresa en células de la cresta neural durante el desarrollo. Los ratones homocigotos nulos para *Crkol* mueren durante el período embrionario y desarrollan un fenotipo similar al síndrome por del22q11, incluyendo defectos del arco aórtico y cono-troncales, alteraciones craneofaciales y de timo; lo que sugiere la contribución de *CRKL* en el fenotipo del síndrome. Sin embargo, los ratones heterocigotos con mutaciones en *Crkol* son viables y normales, lo que indica que dicho gen no muestra haploinsuficiencia, al menos en el ratón⁷⁷.

COMT codifica para catecol-O-metiltransferasa y *PRODH* para una deshidrogenasa de prolina, ambos genes están potencialmente implicados en el fenotipo psiquiátrico y del comportamiento del síndrome. Los ratones con mutaciones en *Comt* muestran alteraciones en el comportamiento emocional. Los mutantes para *Prodh* tienen una deficiencia en los canales sensorimotoraes, que llama la atención por enfocarse en un estímulo dado y está afectado en algunos pacientes con trastornos psiquiátricos⁷⁸⁻⁷⁹.

TBX1 pertenece a la familia de factores de transcripción T-box, los miembros de esta familia están implicados en el desarrollo del mesodermo y endodermo, en el desarrollo del corazón y en la morfogénesis de las extremidades. Jerome y Pappaioannou reportaron el fenotipo de ratones homocigotos y heterocigotos para mutaciones en *Tbx1*. Los homocigotos morían en el período perinatal y mostraban características compatibles con el síndrome por delección 22q11 como defectos cono-troncales, dismorfias faciales, paladar hendido e hipoplasia de timo y paratiroides. Los heterocigotos sólo presentaban alteraciones del arco aórtico y aunque no mostraban todo el fenotipo, los resultados muestran que *TBX1* es determinante en el fenotipo del SVCF⁸⁰.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

¿Cuáles son las características clínicas encontradas y cuál es la frecuencia de la microdelección 22q11.2 en pacientes con diagnóstico clínico de SVCF atendidos en el Hospital Infantil de México Federico Gómez de junio de 2008 a febrero de 2010?.

III. JUSTIFICACIÓN.

El SVCF es el más frecuente de los síndromes por microdelección, tiene una incidencia de 1:2,000 a 4,000 RNV a nivel mundial y de 1:3,800 RNV reportado en población hispana. Presenta una gran variabilidad fenotípica.

No existen a la fecha publicaciones de series de pacientes mexicanos con diagnóstico clínico y citogenético molecular de SVCF. Es importante conocer las características clínicas más frecuentes en nuestra población para realizar la sospecha clínica de SVCF y proporcionar atención multidisciplinaria.

Este conocimiento contribuirá a la mejora en el diagnóstico de certeza y al manejo y tratamiento multidisciplinario, así como para proporcionar asesoramiento genético.

IV. OBJETIVOS.

IV.1 GENERAL.

Determinar las características fenotípicas y la frecuencia de la microdelección 22q11.2 en los pacientes con sospecha clínica de SVCF atendidos en el Hospital Infantil de México Federico Gómez de junio de 2008 a mayo de 2010.

IV.2 ESPECÍFICOS.

1.- Identificar las características clínicas más frecuentes de los pacientes del Hospital Infantil de México Federico Gómez con fenotipo clínico de SVCF con y sin microdelección 22q11.2 determinada por FISH.

2.- Determinar la frecuencia de la microdelección 22q11.2 en pacientes con fenotipo clínico de SVCF mediante el análisis citogenético molecular.

3.- Proporcionar asesoramiento genético y manejo integral a todos los pacientes identificados con fenotipo clínico de SVFC.

V. MATERIAL Y MÉTODOS.

V.1 Universo de estudio.

Todos los pacientes con sospecha clínica de SVCF que acudieron al Hospital Infantil de México Federico Gómez, atendidos en los servicios de Genética, Audiología y Foniatría, Cardiología, Endocrinología y Psiquiatría de junio 2008 a mayo de 2010.

V.2 Procedimiento de estudio.

Una vez que fue establecida la sospecha clínica de SVCF en un paciente por alguno de los especialistas de los Departamentos clínicos mencionados, se realizó historia clínica y evaluación multidisciplinaria de acuerdo a los requerimientos del caso.

A partir de mayo de 2009 los pacientes fueron evaluados en la Clínica Multidisciplinaria 22q11.2 y se registraron las características clínicas en una hoja de concentración de datos.

La hoja de recolección de datos clínicos cuenta con 124 características fenotípicas agrupadas por aparatos y sistemas que por consenso con los servicios de Genética, Cardiología, Endocrinología, Foniatría y Psiquiatría fueron consideradas las más frecuentemente diagnosticadas en los pacientes.

Los datos de los pacientes atendidos antes del establecimiento de la clínica y del uso de la hoja de concentración de datos, fueron obtenidos del expediente clínico.

El Departamento de Genética realizó historia clínica y evaluación familiar y descartó diagnósticos clínicos diferenciales. Previa autorización de los padres, se tomó fotografías clínicas a los pacientes.

Previo consentimiento informado, se tomó muestra de sangre periférica para realizar cariotipo con técnica de bandas GTG con resolución de 450 bandas y análisis de FISH con la sonda *TUPLE1* (Vysis ®) en donde se revisaron de 25 a 50 metafases y 50 núcleos en interfase. (ANEXO 1: Técnica de cariotipo bandas GTG y técnica de FISH) (Figura 9).

En los casos en que fue positiva la delección se ofreció estudio familiar a los padres para descartar el mismo diagnóstico u otro rearrreglo cromosómico asociado a la del22q11.2. La del22q11.2 fue determinada como positiva o negativa (presente o ausente).

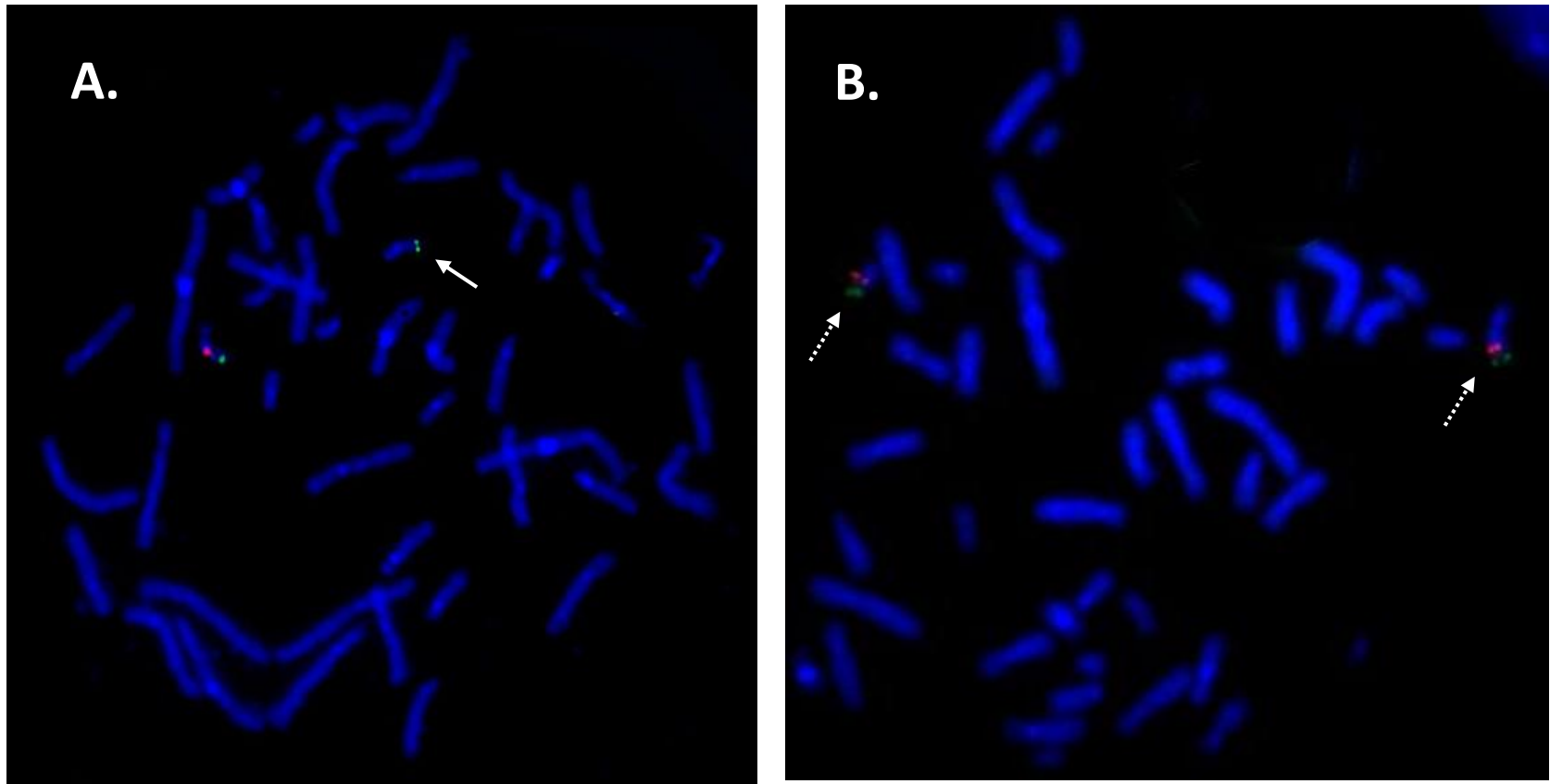


Figura 9. Hibridación *in situ* fluorescente (FISH). Las señales en rojo corresponden a la región 22q11.2 y las señales en verde a la región 22q13 que se utiliza como control. **A.** FISH de un paciente con delección 22q11.2, en uno de los cromosomas 22 se observa sólo una señal (flecha). **B.** Individuo normal en cual se observan las dos señales en ambos cromosomas 22 (flechas punteadas). (Imágenes proporcionadas por la Dra. Rocío Sánchez Urbina, Departamento de Genética, HIMFG).

V.3 Análisis estadístico.

Los datos clínicos de las hojas de concentración de datos (ANEXO 2) fueron agrupados por aparatos y sistemas. Las características clínicas de los pacientes fueron analizadas de dos maneras: las encontradas en los pacientes del universo de estudio (que correspondería a todos los pacientes con diagnóstico clínico de SVCF), separadas en 2 grupos, el de pacientes positivos para la delección y el de pacientes con FISH negativo.

Posteriormente se compararon las frecuencias de los datos clínicos obtenidos en cada uno de los grupos para conocer la significancia de los mismo en el diagnóstico clínico del SVCF vs la confirmación del diagnóstico con la utilización de citogenética molecular.

La determinación de la frecuencia de las características clínicas por percentiles y medidas de tendencia central se realizó con el programa PASW Statistics 18.

Para la comparación de las frecuencias obtenidas se aplicó la prueba de χ^2 la cual es una herramienta de uso general para conocer si existe o no relación entre variables de tipo cualitativo. Sin embargo, su aplicación exige de ciertos requerimientos acerca del tamaño de la muestra. Por lo que también se utilizó la prueba exacta de Fisher que permite analizar si dos variables están asociadas cuando la muestra a estudiar es pequeña y no cumple con las condiciones necesarias para la aplicación de la prueba de χ^2 , estas condiciones exigen que los valores esperados de al menos el 80% de las celdas en una tabla de contingencia, sean mayores de 5. Se consideró que la diferencia era significativa cuando el valor de p era igual o menor de 0.05. Lo anterior fue realizado bajo la supervisión de la Dra. Claudia Gutiérrez Camacho.

VI. TIPO DE ESTUDIO.

Transversal y descriptivo.

VII. VARIABLES DE ESTUDIO.

1.- Presencia de la del22q11.2 determinada por FISH.

2.- Fenotipo de SVFC de acuerdo a las manifestaciones faciales, cardiológicas, endocrinológicas, inmunológicas, velofaríngeas y psiquiátricas.

VIII. RESULTADOS.

VIII.1 Número de pacientes estudiados y características demográficas.

El número final de pacientes incluidos en esta tesis fue de 85 casos (62 pacientes y 23 papás). Los pacientes fueron diagnosticados inicialmente por diferentes departamentos del HIMFG, dependiendo de su cuadro clínico, y atendidos multidisciplinariamente entre junio de 2008 y mayo de 2010.

A todos los casos se les solicitó estudio por la técnica de cariotipo con bandas GTG y análisis por FISH. Se incluyeron a todos los pacientes atendidos en este periodo con diagnóstico clínico de SVCF considerando también a los pacientes valorados en la “Clínica multidisciplinaria de del22q11.2” a partir de marzo de 2009 (Figura 10).

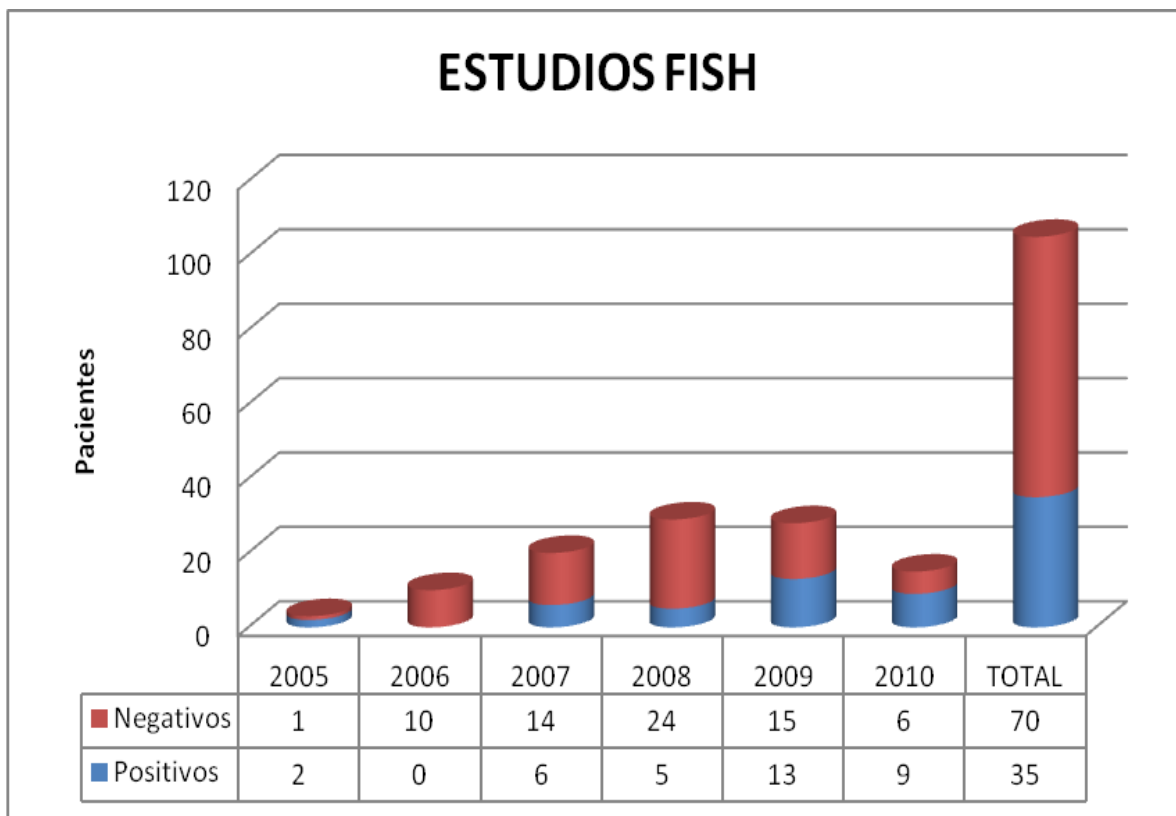


Figura 10. Número de análisis de FISH realizados de diciembre 2005 a mayo 2010. Se muestran los casos positivos o negativos para del22q11 por columna y por año.

De los 88 casos analizados inicialmente, 65 casos son pacientes con diagnóstico clínico de SVCF y 23 casos corresponden al estudio realizado (hasta la fecha) a padres de los pacientes identificados como positivos para la del22q11.2. De los 65 pacientes analizados, 22 se diagnosticaron clínicamente en el período de junio a diciembre 2008; 28 pacientes fueron diagnosticados durante 2009 y 15 pacientes de enero a mayo de 2010 (Cuadro 3).

Debido a que en tres casos no fue posible localizar su expediente, estos casos fueron excluidos del estudio y el análisis se realizó con los datos de 62 pacientes.

Cuadro 3. Número de pacientes y proporción de positivos y negativos para la del22q11.2 analizados de Junio 2008 a Mayo 2010. En la última columna se muestra el número de padres analizados en el período correspondiente.

	Pacientes	Positivos	Negativos	Padres
Jun- Dic 2008	19	5 (26.3 %)	14 (73.7 %)	2
2009	28	13 (46.4 %)	15 (53.6 %)	11
Ene- Mayo 2010	15	9 (60 %)	6 (40 %)	10
Totales	62	27 (43.5 %)	35 (56.5 %)	23

De los pacientes analizados, 34 son mujeres lo que representa el 54.8% de los casos y 28 son varones que representa el 45.2% (Figura 11).

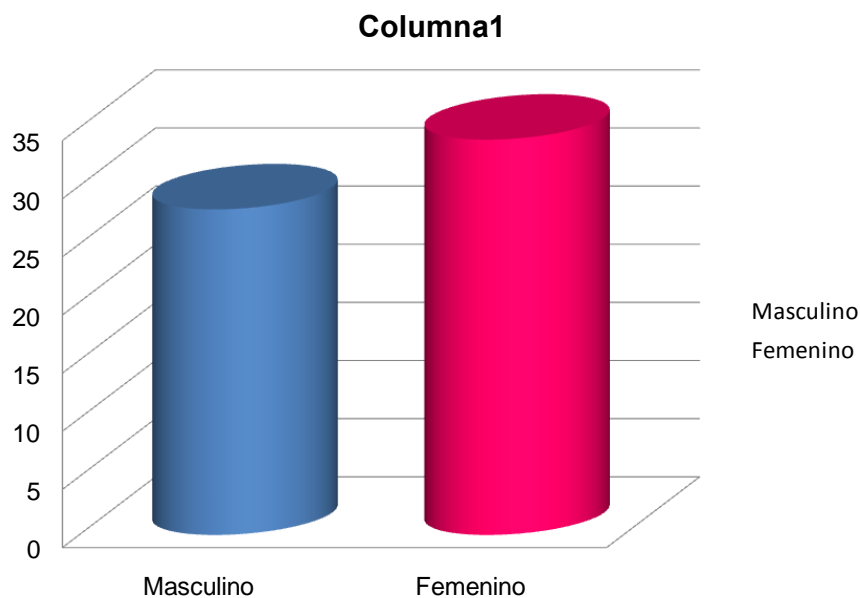


Figura 11. Frecuencia por género de los pacientes analizados.

En relación a la edad de diagnóstico el grupo de edad en el que se llevó a cabo la mayoría de los estudios por FISH fue en los preescolares (48.4%), seguido del grupo de los escolares (32.3%) (Cuadro 4).

Cuadro 4. Frecuencia por edad de los pacientes analizados.

Edad	
	Frecuencia
< 1 año	10 (16.1%)
1-5 años	30 (48.4%)
6-12 años	20 (32.3%)
13-18 años	2 (3.2%)
Total	62 (100%)

En relación a los antecedentes heredofamiliares, hasta este momento no se ha encontrado ningún caso familiar de síndrome por del22q11.2.

VIII.2 Análisis citogenético con bandas GTG.

Hasta este momento se cuenta con resultado de estudio de cariotipo en 49 de 62 pacientes, el resto se encuentra en análisis. Del total de resultados reportados hasta el momento, hubo dos que llamaron especialmente la atención por tratarse de aberraciones estructurales relacionadas con el diagnóstico clínico diferencial del SVCF (Cuadro 5), una del(10p) y una t(12;22).

Cuadro 5. Resultados anormales de cariotipo.

RESULTADOS ANORMALES DE CARIOTIPO
45,XX,der(12),t(12;22)(q24;q11),-22[100]
46,XY,del(10)(p13)[25]

Los estudios de bandas GTG fueron realizados en el laboratorio de citogenética del Departamento de Genética del HIMFG por las citogenetistas Q.F.B. Ana Aparicio Onofre, Q.C. Judith Villa Morales y Biol. Mónica Quintana Palma.

VIII.3 Análisis citogenético molecular por FISH.

En el período comprendido entre junio de 2008 y mayo de 2010, se analizó a un total de 65 pacientes, 3 de ellos fueron eliminados por no contarse con expediente o porque éste estaba incompleto, si bien los tres pacientes excluidos tuvieron FISH negativo.

Se incluyeron 62 pacientes para el análisis por FISH y de datos clínicos. De éstos, 27 fueron positivos a la del22q11.2 y 35 fueron negativos para la delección (Cuadro 6).

Cuadro 6. Resultados del análisis por FISH de Junio 2008 a Mayo 2010	
	Frecuencia
Positivos	27 (43.5%)
Negativos	35 (56.5%)
Total	62 (100%)

De los 23 padres de pacientes detectados con SVCF se analizaron 2 en el período de Junio a Diciembre de 2008, 11 en 2009 y 10 en 2010 con cariotipo bandas GTG y FISH para del22q11.2, encontrándose todos ellos con un complemento cromosómico normal por bandas GTG y sin del22q11.2 por FISH (Cuadro 3).

VIII.4 ANÁLISIS DE LOS DATOS CLÍNICOS.

El análisis de los datos clínicos fue dividido en dos grupos: pacientes con delección y pacientes sin delección. Los hallazgos clínicos se presentan de acuerdo a la clasificación de las características evaluadas y en el orden establecido en la hoja de concentración de datos (ANEXO 2).

Con la finalidad de concentrar los resultados y simplificar el análisis, sólo se incluyeron en los cuadros mostrados aquellas características encontradas en al menos uno de los pacientes.

Posteriormente se compararon estadísticamente las frecuencias de las características clínicas entre los dos grupos. En la tercera columna de las tablas se muestra el valor de p de solamente los datos clínicos que resultaron significativos con las pruebas estadísticas utilizadas.

VIII.4.1 HALLAZGOS CRANEOFACIALES.

En los 62 pacientes (tomados en conjunto y sin distinguir entre pacientes positivos o negativos a la delección), y de acuerdo a la hoja de recolección de datos, se consideraron 10 características clínicas craneofaciales.

En 49 del total de pacientes se encontró alguna de las características clínicas principales relacionada con el SVCF (79%), mientras que en 13 de los pacientes no se encontró ninguna característica de trascendencia clínica fenotípica (21%).

Cuando se consideró por grupo de pacientes positivos o negativos a la del22q11.2, en el grupo de pacientes positivos cuatro pacientes no tenían características craneofaciales de relevancia y la característica más frecuentemente reportada fue hipoplasia del esmalte o caries encontrada en 9 pacientes (33.3%).

Sólo un paciente del grupo negativo para la delección tuvo labio hendido (Cuadro 7).

La facies hipotónica se reportó en 5 de los pacientes con delección 22q11.2 y en ninguno de los pacientes negativos a la delección. El análisis estadístico por prueba de prueba de X^2 reportó una $p=0.040$, $OR=17.35$ y un intervalo de confianza (IC) de 0.91-329.24 (Cuadro 7, Figura 12).

CUADRO 7. HALLAZGOS CRANEOFACIALES			
	POSITIVOS N=27	NEGATIVOS N=35	p N=62
Microcefalia	4 (14.81%)	5 (14.28%)	-
Asimetría facial estructural	1(3.7%)	4 (11.42%)	-
Facies hipotónica	5(18.51%)	0	0.040
Hipoplasia de esmalte y/o caries	9 (33.33%)	4 (11.42%)	-
Comisuras labiales descendentes	3 (11.11%)	2 (5.71%)	-
Labio hendido	0	1 (2.85%)	-
Retrognatía	3 (11.11%)	6 (17.14%)	-



Figura 12. Características craneofaciales de los pacientes positivos para la del22q11.2

* Paciente con cariotipo: 45,XX,der(12),t(12;22)(q24;q11),-22[100]

VIII.4.2 HALLAZGOS OFTALMOLÓGICOS.

En 33 de los 62 pacientes analizados (53.22%) se encontró alguna de las características oftalmológicas relacionadas con el SVCF. Del grupo con FISH positivo para la del22q11.2, en 11 no se reportaron hallazgos oftalmológicos característicos.

Dos fueron las características más frecuentes, en el grupo de pacientes positivos a la delección se encontraron fisuras palpebrales estrechas (29.6%) y un paciente con hipertelorismo (3.7%).

En el grupo negativo para la del22q11.2 las características más frecuentes fueron fisuras palpebrales estrechas (8.5%) y coloboma de iris (8.5%) (Cuadro 8, Figura 13).

En relación a estas características y como se observa en el Cuadro 8, la p fue de 0.69 para fisuras palpebrales estrechas.

CUADRO 8. HALLAZGOS OFTALMOLÓGICOS			
	POSITIVOS N=27	NEGATIVOS N=35	p N=62
Estrabismo	0	2 (5.71%)	-
Fisuras palpebrales estrechas	8 (29.62%)	3 (8.57%)	0.069
Coloboma de iris	0	3 (8.57%)	-
Hipertelorismo	1 (3.7%)	2 (5.71%)	-

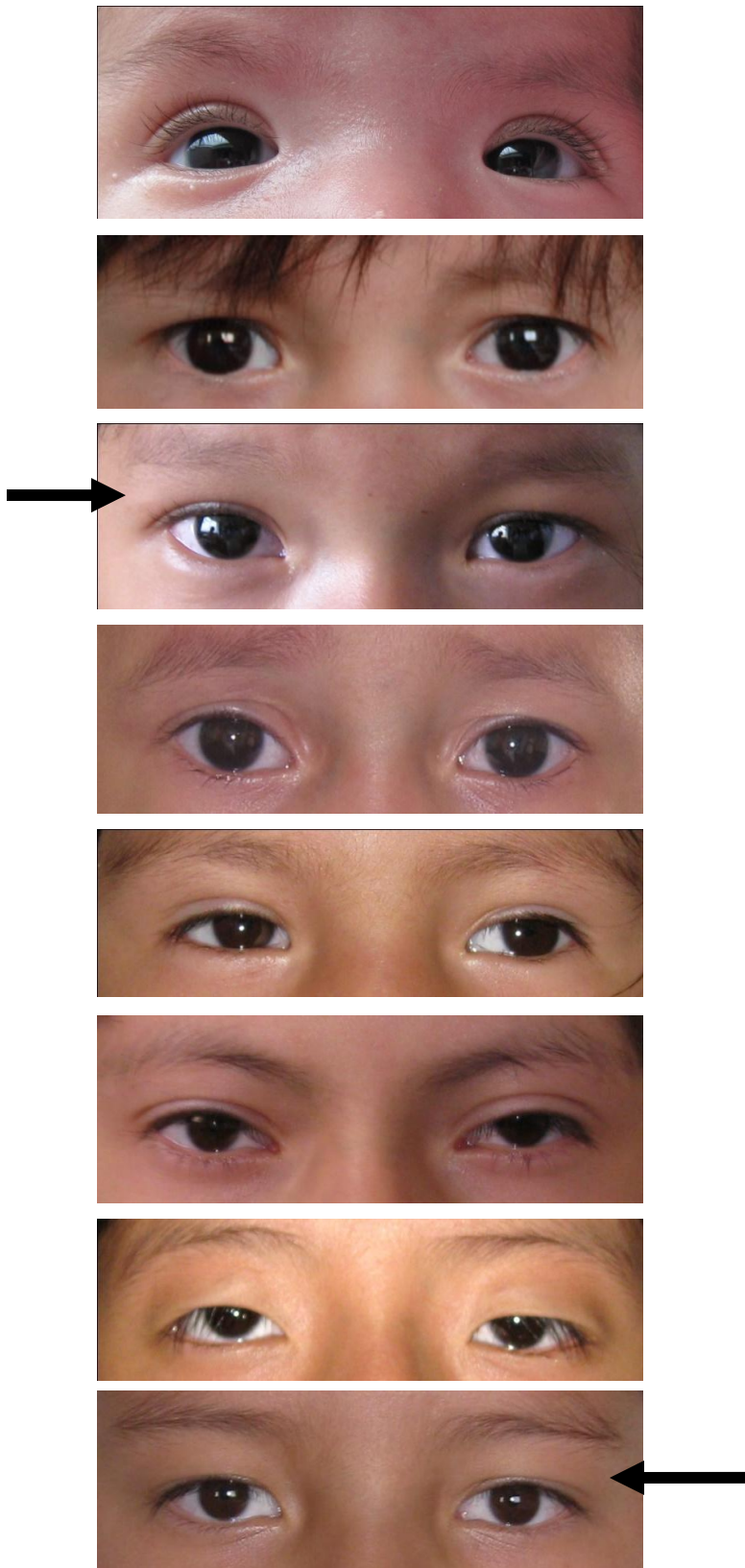


Figura 13. Acercamiento de características oftalmológicas de los pacientes con del22q11.2. Nótese el engrosamiento de la piel del párpado superior (flechas).

VIII.4.3 CARACTERÍSTICAS NASALES.

De los 62 pacientes estudiados, en 20 (32.25%) no se encontraron datos fenotípicos en la nariz relacionados con el SVCF, de estos pacientes, 7 eran positivos y 13 negativos a la deleción.

De los 4 datos clínicos considerados, el más frecuente en ambos grupos fue el puente nasal prominente/ancho, encontrado en 55.55% de los pacientes con deleción y en 34.28% de los pacientes negativos para la misma (Cuadro 9).

Como siguiente característica más frecuente, se encontró la punta nasal bulbosa que tiene una $p=0.039$, $OR=3.86$ e $IC 1.21-12.35$.

Las narinas estrechas estuvieron presentes en 4 de los pacientes del grupo positivo para la deleción (Cuadro 9, Figura 14).

CUADRO 9. CARACTERÍSTICAS NASALES			
	POSITIVOS N=27	NEGATIVOS N=35	p N=62
Puente nasal prominente/ancho	15 (55.55%)	12 (34.28%)	-
Punta nasal bulbosa	12 (44.44%)	6 (17.14%)	0.039
Narinas estrechas	4 (14.81%)	0	-



Figura 14. Vista anterior y lateral de la nariz de los pacientes positivos para la deleción 22q11.2. Nótese la punta nasal bulbosa y el puente nasal prominente.

VIII.4.4 HALLAZGOS FARÍNGEOS, LARÍNGEOS Y DE VÍA AÉREA.

En éste rubro se analizaron 9 características referentes a la vía aérea superior y al aparato de fonación. Se encontraron alteraciones en 32 de los pacientes identificados en ambos grupos (tanto positivos como negativos para la del22q11.2), de los cuales 20 son positivos para la delección.

El dato clínico más frecuentemente encontrado cuando se consideró a los pacientes en conjunto fue el paladar hendido (Figura 15), el cual fue mucho más frecuente en el grupo de pacientes positivos para la delección 40.74% vs 11.42%, encontrándose una $p= 0.018$, $OR= 5.32$ e $IC 1.41-19.42$.

El segundo lugar en frecuencia lo ocupó la úvula bífida identificada en 29.62% vs 5.71% de los pacientes con y sin delección respectivamente, lo que representa una $p= 0.028$, $OR= 6.94$ e $IC= 1.33-36.14$.

La insuficiencia velofaríngea se reportó en 18.51% de los pacientes positivos vs 2.85% en los pacientes negativos para la delección, con $p= 0.102$.

Del grupo positivo para la del22q11.2, un paciente se reportó con la característica de adenoides ausentes o pequeñas, otro tuvo faringe amplia y un tercero presentó úvula hipoplásica (Cuadro 10).

CUADRO 10. HALLAZGOS FARÍNGEOS, LARÍNGEOS Y DE VÍA AÉREA			
	POSITIVOS N=27	NEGATIVOS N=35	p N=62
PH⁺, PHS⁺⁺, PHS oculto	11 (40.74%)	4 (11.42%)	0.018
Úvula hipoplásica	1 (3.7%)	0	-
Úvula bifida	8 (29.62%)	2 (5.71%)	0.028
Adenoides ausentes o pequeñas	1 (3.7%)	0	-
Faringe amplia	1 (3.7%)	0	-
Insuficiencia velofaríngea	5 (18.51%)	1 (2.85%)	0.102

PH⁺ paladar hendido, PHS⁺⁺ paladar hendido submucoso.



Figura 15. Ejemplos de paladar hendido en pacientes con SVCF. **A.** Paladar hendido posterior. **B.** Ausencia de úvula, hipoplasia del esmalte y caries. **C.** Cicatriz en paladar posterior secundaria a palatoplastía.

VIII.4.5 HALLAZGOS EN PABELLONES AURICULARES.

En este rubro, 35 pacientes presentaron alguna de las 10 características analizadas, en el grupo con del22q11.2 positiva dos fueron las más frecuentes: hélix plegado (33.33%) (Figura 16) e hipoacusia neurosensorial (14.81%). En el hélix plegado se encontró una $p= 0.008$, $OR= 9.28$ e $IC 1.79-48.05$.

En el grupo con del22q11.2 negativa las características más frecuentes fueron pits (fosetas) o apéndices preauriculares (17.14%) y pabellones acopados (14.28%). Ninguno de los pacientes positivos a la del22q11.2 presentó *pits* o apéndices preauriculares (Cuadro 11).

CUADRO 11. PABELLONES AURICULARES			
	POSITIVOS N=27	NEGATIVOS N=35	p N=62
Hélix plegado	9 (33.33%)	2 (5.71%)	0.008
Lóbulos pegados	1 (3.7%)	0	-
Pabellones acopados	2 (7.4%)	5 (14.28%)	-
Pabellones pequeños	2 (7.4%)	1 (2.85%)	-
Asimetría leve de pabellones	2 (7.4%)	0	-
Otitis media recurrente	1 (3.7%)	4 (11.42%)	-
Hipoacusia conductiva leve	2 (7.4%)	4 (11.42%)	-
Hipoacusia sensorineural	4 (14.81%)	1 (2.85%)	-
Pits o apéndices preauriculares	0	6 (17.14%)	-
CAE⁺ estrecho	1 (3.7%)	1 (2.85%)	-

CAE⁺ conducto auditivo externo.

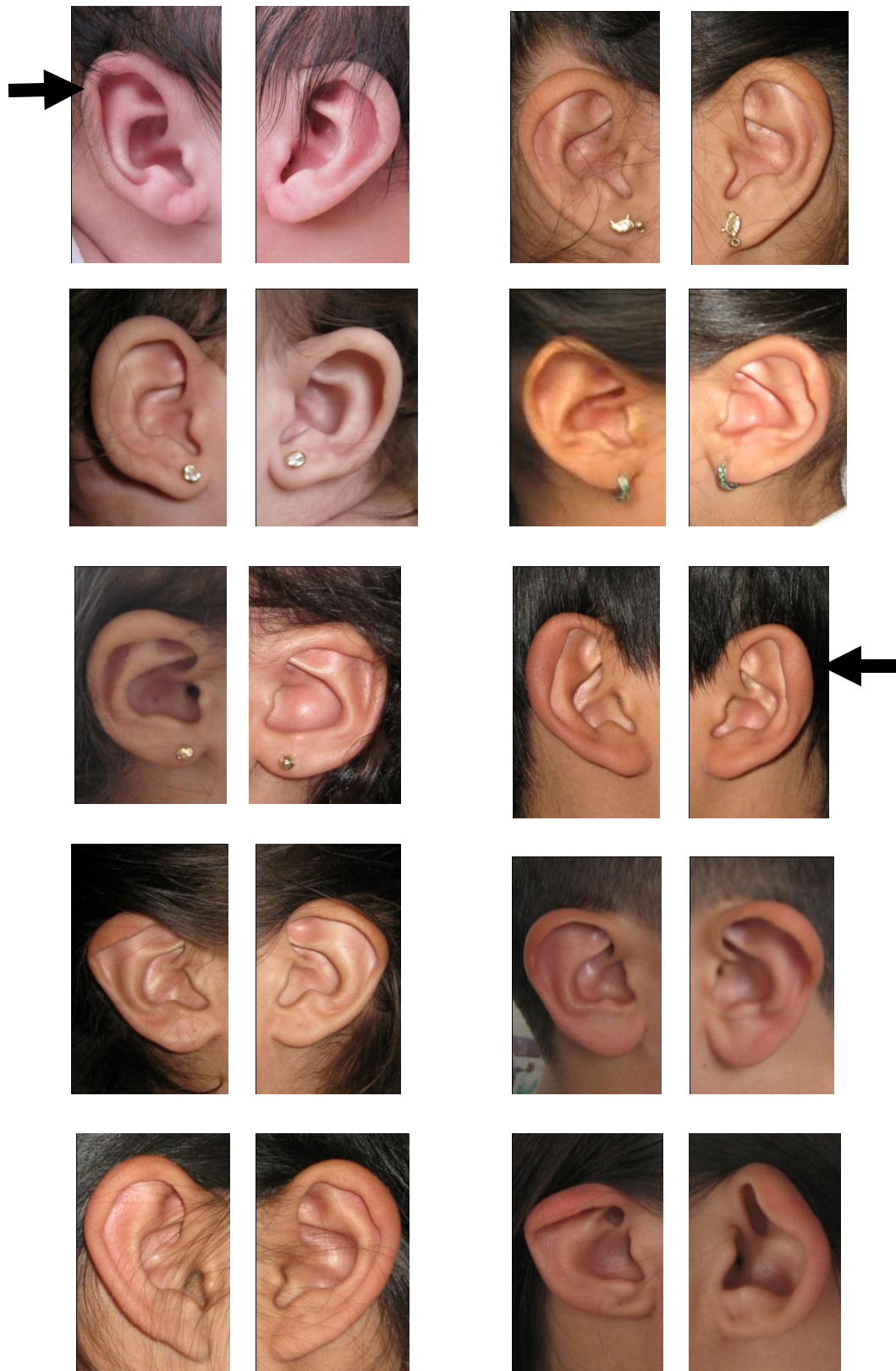


Figura 16. Pabellones auriculares en pacientes con SVCF. Nótese el hélix grueso y plegado (flechas).

VIII.4.6 HALLAZGOS CARDIOVASCULARES.

En 51 de los pacientes se encontró alguno de los 15 tipos de cardiopatía congénita relacionados con el SVCF, de los cuales 25 eran pacientes con del22q11.2 positiva. El hallazgo más frecuente en el grupo positivo para la del22q11.2 fue la comunicación interventricular (CIV) con 48.14%. En el grupo de pacientes negativos a la delección, los hallazgos más frecuentes fueron: persistencia del conducto arterioso (PCA) en 31.42%, seguida de CIV en 25.71%. En ninguno de los dos grupos se encontró alteración de arteria carótida, ni atresia tricuspídea.

La atresia o estenosis pulmonar se encontró con una frecuencia de 33.33% en pacientes positivos vs 8.57% en los negativos a la delección, lo que representó una $p= 0.034$, $OR= 5.33$ e $IC 1.27-22.25$ (Cuadro 12).

CUADRO 12. HALLAZGOS CARDIOVASCULARES			
	POSITIVOS N=27	NEGATIVOS N=35	p N=62
CIV	13 (48.14%)	9 (25.71%)	-
Comunicación interauricular (CIA)	4 (14.81%)	6 (17.14%)	-
Atresia o estenosis pulmonar	9 (33.33%)	3 (8.57%)	0.034
Tetralogía de Fallot	5 (18.51%)	8 (22.85%)	-
Aorta hacia la derecha	2 (7.4%)	1 (2.85%)	-
Tronco arterioso	3 (11.11%)	2 (5.71%)	-
PCA	9 (33.33%)	11 (31.42%)	-
Aorta interrumpida (tipo B)	2 (7.4%)	1 (2.85%)	-
Coartación aortica	1 (3.7%)	2 (5.71%)	-
Alteración de valvas aórticas	1 (3.7%)	1 (2.85%)	-
Arterias subclavias aberrantes	1 (3.7%)	1 (2.85%)	-
Anillo vascular	0	1 (2.85%)	-
Transposición de grandes vasos	0	2 (5.71%)	-

VIII.4.7 HALLAZGOS ENDOCRINOLÓGICOS.

En este rubro las características más frecuentemente encontradas en el grupo con del22q11.2 positiva fueron: retraso del desarrollo/talla baja (29.62%), seguida de hipocalcemia (14.81%).

En el grupo de pacientes negativos las más frecuentes fueron: retraso leve del desarrollo/talla baja (20%), seguida de hipocalcemia, hipoparatiroidismo e hipotiroidismo con 5.71% cada una (Cuadro 13).

CUADRO 13. HALLAZGOS ENDOCRINOLÓGICOS			
	POSITIVOS N=27	NEGATIVOS N=35	p N=62
Hipocalcemia	4 (14.81%)	2 (5.71%)	-
Hipoparatiroidismo	3 (11.11%)	2 (5.71%)	-
Hipotiroidismo	1 (3.7%)	2 (5.71%)	-
Retraso del desarrollo/ Talla baja	8 (29.62%)	7 (20%)	-
Timo ausente o hipoplásico	2 (7.4%)	1 (2.85%)	-

VIII.4.8 HALLAZGOS ABDOMINALES.

De los datos clínicos considerados para esta región anatómica, en 10 de los pacientes se encontraron alteraciones abdominales, el hallazgo más frecuente en ambos grupos, es decir, para los 62 pacientes tomados en conjunto fue la hernia umbilical con 14.81% en pacientes positivos vs 8.57% en pacientes negativos para la del22q11.2 (Cuadro 14).

CUADRO 14. HALLAZGOS ABDOMINALES			
	POSITIVOS N=27	NEGATIVOS N=35	p N=62
Alteraciones renales	0	2 (5.71%)	-
Hernia inguinal	1 (3.7%)	1 (2.85%)	-
Hernia umbilical	4 (14.81%)	3 (8.57%)	-
Malformación ano-rectal	0	1 (2.85%)	-

VIII.4.9 HALLAZGOS GENITOURINARIOS.

Cinco de los varones analizados presentaron alteraciones genitourinarias, la más frecuente en ambos grupos (tanto positivos como negativos para la delección) fue criptorquidia con 7.4% vs 8.57% (Cuadro 15).

CUADRO 15. HALLAZGOS GENITOURINARIOS			
	POSITIVOS N=27	NEGATIVOS N=35	p N=62
Criptorquidia	2 (7.4%)	3 (8.57%)	-

VIII.4.10 HALLAZGOS MUSCULOESQUELÉTICOS.

En 41 de los 62 pacientes no se encontró ninguna alteración de este tipo. En los pacientes positivos para la del22q11.2 sólo se encontraron 2 de las 16 características recopiladas en la tabla de concentración de datos, las cuales fueron hipotrofia muscular e hipermovilidad articular con un paciente cada una (3.7%).

Las alteraciones musculoesqueléticas fueron más frecuentemente encontradas en los pacientes sin delección, siendo la más representativa escoliosis en el 14.28%, seguida por hipermovilidad articular con 11.42% (Cuadro 18).

CUADRO 16. MUSCULOESQUELÉTICOS			
	POSITIVOS N=27	NEGATIVOS N=35	p N=62
Escoliosis	0	5 (14.28%)	-
Hemivértebras	0	2 (5.71%)	-
Espina bífida oculta	0	1 (2.85%)	-
Pie equinovaro	0	1 (2.85%)	-
Hipotrofia muscular	1 (3.7%)	1 (2.85%)	-
Pie plano	0	2 (5.71%)	-
Hipermovilidad articular	1 (3.7%)	4 (11.42%)	-

VIII.4.11 EXTREMIDADES.

En éste rubro 37 de los pacientes no presentaron alteraciones, de ellos 14 pertenecen al grupo de pacientes positivos para la del22q11.2. Las características más frecuentes en los pacientes positivos para la delección fueron: dedos estrechos y pulgares de implantación alta con 11.11% cada uno (Figura 17).

En los pacientes negativos para la del22q11.2 sólo se encontraron contracturas y sindactilia cutánea en 2.85% que correspondería a un paciente cada una (Cuadro 17).

CUADRO 17. EXTREMIDADES			
	POSITIVOS N=27	NEGATIVOS N=35	p N=62
Dedos estrechos	3 (11.11%)	0	-
Contracturas	2 (7.4%)	1 (2.85%)	-
Pulgares de implantación alta	3 (11.11%)	0	-
Sindactilia cutánea	1 (3.7%)	1 (2.85%)	-



Figura 17. Acercamiento de manos de los pacientes con del22q11.2. Llamam la atención la implantación alta del pulgar (flecha negra) y los dedos terminados en punta (flecha punteada).

VIII.4.12 HALLAZGOS NEUROLÓGICOS.

Se evaluaron 8 características neurológicas en donde destacó como hallazgo más frecuente en ambos grupos, el retraso en el desarrollo psicomotor con 44.44% en el grupo de pacientes positivos vs 28.57% en pacientes sin deleción. En segundo lugar de frecuencia se encontraron crisis convulsivas y uno de los pacientes negativos para la del22q11.2 presentó un accidente vascular cerebral (Cuadro 18).

CUADRO 18. HALLAZGOS NEUROLÓGICO			
	POSITIVOS N=27	NEGATIVOS N=35	p N=62
Retraso del desarrollo	12 (44.44%)	10 (28.57%)	-
Convulsiones	7 (25.92%)	4 (11.42%)	-
Infartos	0	1 (2.85%)	-

VIII.4.13 CARACTERÍSTICAS DE LENGUAJE, HABLA, VOZ.

El retraso del lenguaje se presentó en 17 (62.96%) de los 27 pacientes positivos para la del22q11.2 vs 10 (28.57%) de 35 pacientes negativos para la del22q11.2, por lo que se encontró una $p=0.014$, $OR=4.25$ e $IC 1.45-12.40$ (Cuadro 19).

Por otra parte la hiperrinofonia se encontró en 5 (18.51%) de los pacientes positivos para la deleción y en ninguno de los pacientes negativos con una $p= 0.040$, $OR= 17.35$ e $IC 0.91 - 329$.

CUADRO 19. LENGUAJE, HABLA, VOZ			
	POSITIVOS N=27	NEGATIVOS N=35	p N=62
Retraso de lenguaje	17 (62.96%)	10 (28.57%)	0.014
Dislalia (fallas articulatorias)	4 (14.81%)	0	-
Hiperrinofonía	5 (18.51%)	0	0.040
Disfonías	2 (7.4%)	0	-

VIII.4.14 PROBLEMAS DEL DESARROLLO EN LA INFANCIA.

En el grupo de pacientes positivos para la del22q11.2 con mayor frecuencia se identificaron la falla en el crecimiento (29.62%) y reflujo gastroesofágico (29.62%), así como regurgitación nasal (14.81%) y dificultad para la alimentación (11.11%).

En el grupo de pacientes negativos para la del22q11.2 el hallazgo más frecuente fue falla en el crecimiento (20%), seguido de reflujo gastroesofágico (17.14%) (Cuadro 20).

CUADRO 20. PROBLEMAS EN LA INFANCIA			
	POSITIVOS N=27	NEGATIVOS N=35	p N=62
Dificultad para la alimentación	3 (11.11%)	1 (2.85%)	-
Falla en el crecimiento	8 (29.62%)	7 (20%)	-
Reflujo gastroesofágico	8 (29.62%)	6 (17.14%)	-
Regurgitación nasal	4 (14.81%)	1 (2.85%)	-
Irritabilidad	0	1 (2.85%)	-
Constipación crónica	0	1 (2.85%)	-

VIII.4.15 ALTERACIONES COGNITIVAS Y PSICOLÓGICAS

Nueve de los 62 pacientes estudiados presentaron alteraciones cognitivas y psicológicas, las más frecuentes en los pacientes positivos para la del22q11.2 fueron alteraciones del aprendizaje que incluyen a la comprensión de lectura y razonamiento matemático y retraso mental encontrados en un 11.11%. También se detectó IQ bajo para la edad escolar y déficit de atención en 7.4%.

Ninguno de los pacientes presentó alteraciones de la conducta, sin embargo, una paciente evaluada por el servicio de psiquiatría presentó afecto disminuido, labilidad emocional y psicopatología.

En el grupo de pacientes negativos para la del22q11.2 se encontraron alteraciones del aprendizaje, retraso mental y déficit de atención en 2.85% cada una (Cuadro 21).

CUADRO 21. ALTERACIONES COGNITIVAS Y PSICOLÓGICAS			
	POSITIVOS N=27	NEGATIVOS N=35	p N=62
Alteraciones del aprendizaje (matemático, comprensión de lectura)	3 (11.11%)	1 (2.85%)	-
IQ bajo en edad escolar	2 (7.4%)	0	-
Retraso mental	3 (11.11%)	1 (2.85%)	-
Déficit de atención/ Hiperactividad	2 (7.4%)	1 (2.85%)	-

Finalmente, se reportaron dos defunciones en el grupo de pacientes positivos para la del22q11.2, un paciente de 4 meses con choque cardiogénico e interrupción del arco aórtico y un paciente de un mes con interrupción de arco aórtico tipo B.

IX. DISCUSIÓN.

El SVCF es el síndrome por microdelección más frecuentemente reportado en los seres humanos y merece especial atención en la población atendida en nuestra Institución ya que somos centro de referencia nacional para pacientes con enfermedades complejas, entre ellas las cardíacas y por ello supondríamos que ésta podría ser una causa importante en nuestra consulta. A la fecha no se conoce la frecuencia de esta enfermedad en población mexicana y hasta donde sabemos no hay publicaciones al respecto en nuestra población.

En esta tesis se describe la experiencia tanto clínica como de estudios de citogenética molecular por análisis de FISH de pacientes con sospecha clínica de este diagnóstico, atendidos en nuestra Institución de junio de 2008 a mayo de 2010.

En el Departamento de Genética del Hospital Infantil de México Federico Gómez se realiza el estudio de citogenética molecular (FISH) para la del22q11.2 de forma asistencial desde diciembre de 2005. Sin embargo, en nuestra Institución desde hace décadas y aún antes de que el SVCF fuese identificado como tal o se contara con FISH, ya existía una amplia experiencia clínica en el diagnóstico y manejo de estos pacientes, ya fuese como una entidad sindrómica o por solicitud de atención para características clínicas específicas por ejemplo auditivas, cardíacas, endocrinológicas o faciales.

De esta manera, en esta actividad han participado particularmente los Departamentos de Genética, Audiología y Foniatría, Cardiología, Endocrinología, Psiquiatría y a partir de mayo de 2010 de Alergia e Inmunología Clínica.

En marzo de 2009 se reúne por primera vez la Clínica multidisciplinaria de atención a pacientes con del22q11.2, con apoyo y autorización Institucional conformada por médicos de los departamentos

antes mencionados del HIMFG, con el objetivo de brindar la mejor atención a los pacientes. Como parte de sus actividades fue el revisar conjuntamente la historia clínica y los hallazgos fenotípicos de los pacientes con sospecha clínica de SVCF, con la finalidad de establecer un diagnóstico y una terapéutica integral, realizándose sesiones mensuales.

En el presente trabajo de tesis se revisaron 62 pacientes, en todos ellos se realizó historia clínica completa, hasta el momento sin antecedentes heredofamiliares que llamen la atención y tampoco, hasta ahora, por técnica de FISH se han detectado casos familiares en nuestra población estudiada.

Uno de los aspectos que llamaron nuestra atención fue la gran cantidad de características clínicas reportadas en la literatura y la frecuencia de las mismas referidas en nuestra población. Otro aspecto que fue el reto para el clínico, desde el médico general al especialista que es consultado por un problema en particular, lo representan los casos de sospecha clínica, que finalmente son positivos o negativos para el análisis de citogenética molecular, que como se ha descrito, por algunos autores estrictamente hablando sólo el primer grupo (el positivo para la delección) correspondería al diagnóstico de certeza.

Se ha considerado que hay tres elementos sobre los que quisiera enfocar la presente discusión: características clínicas y análisis estadístico de la frecuencia de las mismas en nuestra población, comparando los grupos positivos y negativos para la del22q11.2. Nuestra experiencia cuando se compara con la experiencia mundial y finalmente las implicaciones para el manejo multidisciplinario y el asesoramiento genético.

En cuanto al primer rubro, los hallazgos demográficos de los pacientes analizados encontramos que el 54.8% son femeninos y 45.2% masculinos, por lo que no se considera que exista afectación preferencial de un sexo.

En relación a la edad de diagnóstico el grupo etario en el que se llevó a cabo la mayoría de los análisis por citogenética molecular fue en los preescolares (48.4%), esto probablemente en relación a la causa de consulta que fue cardiopatía congénita y retraso del lenguaje. El principal motivo de consulta en recién nacidos y lactantes es la cardiopatía congénita, problemas inmunológicos o endocrinológicos, que pueden llegar a ser tan graves que comprometen no sólo la función sino también la vida de los pacientes.

En principio se trata de un padecimiento muy frecuente (1:2000 a 40000 RNV) y por ser esta Institución un centro de referencia nacional esperaríamos encontrar un número significativo de pacientes con SVCF. En este sentido sin embargo, es posible que debido a las complicaciones en el período perinatal, la vida de los pacientes pudiera verse comprometida particularmente por las cardiopatías y por lo tanto tendrían menos posibilidades de ser atendidos en un hospital de referencia de tercer nivel. De esta manera, una situación a considerar sería la suposición de que el pronóstico también estaría en relación a la atención primaria. En particular porque el mayor porcentaje de pacientes diagnosticados en nuestra Institución fue en el grupo de preescolares.

En otros casos, podría considerarse que la cardiopatía congénita permanece silente y por lo tanto, no ser un motivo de consulta de urgencia o de referencia a tercer nivel, como en el caso del arco aórtico derecho o las CIVs y CIAs aisladas.

Por otra parte, no perdamos de vista que aproximadamente 30% de los pacientes con SVCF no presentan cardiopatía, en este caso el

motivo de consulta puede ser el retraso del lenguaje o crisis convulsivas secundarias a alteraciones endocrinológicas, principalmente del tipo de la hipocalcemia que se presenta en el 40 – 70% de los pacientes.

Las situaciones clínicas antes mencionadas refuerzan el concepto de que el SVCF es una entidad compleja, con múltiples manifestaciones clínicas y niveles de gravedad que pueden parecer un espectro. El SVCF requiere de atención multidisciplinaria y el médico general o especialista que lo vea de primera intención, debería considerar esta entidad como un diagnóstico diferencial para ofrecerle la mejor atención a los pacientes.

Simultáneamente al análisis de FISH, a todos los pacientes se les realizó cariotipo con técnica de bandas GTG, del total de cariotipos realizados hasta el momento (49) se reportaron 2 con resultados anormales, es decir el 4.08%. La primera consideración al respecto es que el estudio de cariotipo por bandas GTG (o en su caso de citogenética molecular como CGH-microarreglos), es necesario e indispensable para descartar que el paciente tenga un SVCF asociado a un rearrreglo cromosómico *de novo* (que podría o no involucrar al cromosoma 22) o la consideración de que sea una aberración derivada de una alteración en los padres, con todas las repercusiones que tendría para el asesoramiento genético.

Los dos casos mencionados diagnosticados con rearrreglos cromosómicos constituyen un ejemplo de la consideración anterior. De la experiencia de estos casos, el primero tuvo un complemento cromosómico 45,XX,der(12),t(12;22)(q24;q11),-22[100] y correspondía a una paciente de 14 años de edad con fenotipo compatible con el SVCF. El análisis del cariotipo fue realizado en la década de los 1990s por la Biol. Lucía González Marín. La deleción de la región 22q11.2 fue reconfirmada posteriormente por técnica de bandas GTG y FISH en 2009. El cariotipo de los padres fue normal por lo que se trataba de un rearrreglo cromosómico *de novo*. Este caso requiere mayor estudio ya

que en principio es derivado de una segregación adyacente 1, y además debe considerarse si la paciente tiene además una monosomía parcial del cromosoma 12, de la cual deben establecerse sus características en relación a tamaño, punto de ruptura, etc.

El segundo cariotipo anormal correspondió a una fórmula cromosómica 46,XY,del(10)(p13); el cual correspondía a un paciente masculino, de 4 meses de edad al momento del estudio, hospitalizado por dismorfias, hipoparatiroidismo, hipotiroidismo y posteriormente se detectó deficiencia de hormona de crecimiento, los datos anteriores eran sugestivos y se consideró descartar síndrome asociado a del22q11.2. A la exploración presentaba frente amplia, telecanto, epicanto, ptosis palpebral, distriquiiasis, puente nasal ancho, nariz de punta bulbosa, comisuras labiales descendentes, retrognatia, pabellones auriculares en retroposición con hélix grueso, plegado. Dichos hallazgos son compatibles con los reportes en la literatura del síndrome por delección 10p o Síndrome de DiGeorge tipo II⁸¹. El resultado de FISH fue negativo para la del22q11.2. Los cariotipos de los padres se reportaron como normales.

En la experiencia del HIMFG, de diciembre de 2005 a mayo de 2010 se han realizado 105 estudios de FISH con sonda *TUPPLE1* (y algunos casos con la sonda N25), de estos 70 son negativos para la delección 22q11.2 y 35 son positivos.

De los 62 pacientes analizados en el presente trabajo, 19 se detectaron en el período de junio a diciembre 2008, 28 en 2009 y 15 de enero a mayo de 2010. En un inició la mayoría de los pacientes eran identificados por los servicios de genética y cardiología, actualmente también están siendo referidos por audiología y foniatría y endocrinología. El tener un mayor número de pacientes a considerar con este diagnóstico podría ser explicado porque al tener la posibilidad de análisis citogenético molecular, hay una mayor sensibilización al diagnóstico de los pacientes con SVCF por sospecha clínica.

Además del aumento en el número de pacientes referidos con diagnóstico clínico de SVCF, también ha aumentado la proporción de pacientes positivos para la del22q11 confirmados por FISH respecto de aquellos con sólo diagnóstico clínico. Es decir, de los pacientes estudiados de junio a diciembre 2008 se detectaron 26.3% de positivos, en 2009 53.6% y de enero a mayo 2010 60%. (Figura 10 y Cuadro 3). Lo que nos da un total de 27 pacientes positivos (43.5%) y 35 negativos para la del22q11.2 (56.5%) (Cuadro 6).

Lo anterior probablemente es testimonio del esfuerzo e interés que ha reforzado el trabajo en equipo y multidisciplinario de la Clínica de del22q11.2.

Fue posible estudiar a 23 de los padres de pacientes en los que se confirmó el SVCF por del22q11.2 por FISH, en todos hasta el momento se ha encontrado un complemento cromosómico normal por técnica de bandas GTG y además resultaron negativos para la delección 22q11.2 por FISH. En la literatura se refiere que hasta 10% de los casos de SVCF pueden ser casos familiares, probablemente por el tamaño la muestra aún no hemos detectado alguno de estos casos.

El análisis de hallazgos fenotípicos se llevó a cabo con el uso de la tabla de concentración de datos (ANEXO 2) validada por los diferentes departamentos por médicos especialistas de amplia experiencia del HIMFG. Contiene las características clínicas que se consideraron más frecuentes para nuestra población. Éstos fueron revisados tanto de los expedientes clínicos de los pacientes identificados como en su momento en la consulta.

Los hallazgos clínicos se presentaron de acuerdo a la clasificación de las características clínicas en el orden establecido en la hoja de clasificación.

Para el análisis de datos, a los pacientes se les dividió en dos grupos, el primer grupo lo conformaban los pacientes positivos para la

delección 22q11.1 y el segundo grupo los pacientes con diagnóstico clínico con FISH negativo para la delección 22q11.2. Posteriormente estos datos clínicos fueron comparados estadísticamente con la prueba de X^2 y la prueba exacta de Fisher, los resultados estadísticamente significativos se discuten a continuación.

En general los niños con SVCF no llaman la atención por sí mismos, como en el caso de otros síndromes con dismorfias faciales graves o evidentes y por lo tanto los hallazgos craneofaciales deben asociarse con el resto de los aparatos y sistemas involucrados para integrar un diagnóstico clínico y tomar la decisión de realizar un diagnóstico de certeza con ayuda de las pruebas citogenéticas confirmatorias.

En la evaluación de los hallazgos craneofaciales se identificó que el 79% de los pacientes presentaban alguna de las características reportadas en la literatura como más frecuentes. De éstas la más frecuente fue la hipoplasia del esmalte o caries dental (Cuadro 7 y Figura 14-B) presente en 33.33% de los pacientes positivos y 11.42% de los pacientes negativos. Sin embargo, no podemos descartar que esta situación esté en relación con la alta incidencia de caries en la población general y al realizar la comparación estadística, este hallazgo resultó no significativo.

Del grupo de pacientes positivos para la delección, 16% no presentaban características faciales de relevancia, estos pacientes fueron identificados con diagnóstico de SVFC por la cardiopatía conotruncal y los hallazgos faríngeos (por ejemplo, insuficiencia velofaríngea y paladar hendido submucoso en dos de los casos). Esta situación es relevante ya que posiblemente un grupo pequeño pero trascendente de pacientes con del22q11.2 positiva, puede no presentar las características craneofaciales y sin embargo ser SVCF con la delección positiva.

En otros países, se realiza estudio de FISH para del22q11.2 a todos los pacientes con cardiopatía cono-troncal, en particular tetralogía de Fallot (referencia personal Dr. Shprintzen 21-05-2010) ya que existe una frecuencia reportada de 10 a 15%. En este sentido tenemos la experiencia de por lo menos uno de los pacientes atendido en nuestra Institución que tuvo tetralogía de Fallot al nacimiento y que desarrolló otras características del SVCF posterior a un evento quirúrgico de corrección cardíaca siendo identificadas a partir de los 3 años de edad. La reflexión podría estar encaminada a estar “alerta” en estos pacientes con aparente cardiopatía no sindrómica (que desde luego es la situación más frecuente con etiología multifactorial) y que de manera general en nuestro medio no se realiza prueba de FISH en este grupo de pacientes cardíopatas.

El análisis estadístico de la característica de facies hipotónica por prueba de prueba de X^2 reportó una $p=0.040$ que podemos considerar como significativa (<0.05), $OR=17.35$ que nos indica que un paciente positivo para la delección tiene una posibilidad 17 veces mayor de presentar facies hipotónica que uno negativo, pero sin embargo existe un intervalo de confianza (IC) de 0.91-329.24 el cual hace que este hallazgo pierda significancia y tal rango puede explicarse por el tamaño de la muestra.

De los hallazgos oftalmológicos la característica que estuvo presente con mayor frecuencia en los pacientes con microdelección positiva fueron las fisuras palpebrales estrechas en 29.62%. En el grupo de pacientes negativos para la del22q11.2 se encontró coloboma de iris en 8.57%, que aunque es un hallazgo relativamente infrecuente en la del22q11.2, puede estar presente en otras alteraciones del cromosoma 22 como es el síndrome de cat eye (OMIM 115470). En este rubro ninguna de las características resultó estadísticamente significativa.

Un hallazgo que llama la atención en la revisión posterior de las fotografías clínicas es el engrosamiento de la piel del párpado superior que luce como “edematosa” y que parece ser una característica relativamente constante, por lo que se consideró que esta característica en particular podría ser incluida en la tabla de recolección de datos clínicos, a futuro.

Entre las características clínicas correspondientes a la nariz se encontró alguno de los 4 hallazgos clínicos en 20 de los pacientes positivos (74.07%) y en 22 de los negativos (62.85%) para la del22q11.2. Debido a la frecuencia con que se encontró podemos pensar que la nariz es un dato que los clínicos tienen muy presente al buscar intencionadamente las dismorfias faciales, a diferencia de los ojos en donde se reportaron relativamente pocos hallazgos.

El dato clínico más frecuente en este rubro fue el puente nasal prominente / ancho tanto en los pacientes positivos (55.55%), como en los negativos para la del22q11.2 (34.28%).

En segundo lugar de frecuencia se encontró la nariz con punta bulbosa, que estuvo presente en 44.44% de los pacientes con del22q11.2 y en 17.14% de los pacientes sin deleción. Tiene una $p=0.39$ considerada como significativa y $OR=3.86$ que indica que un paciente con deleción tiene casi cuatro veces más posibilidades de presentar nariz bulbosa. Sin embargo, el intervalo de confianza (IC) es de 1.21-12.35 por lo que disminuye la significancia del hallazgo clínico encontrado y como se mencionó anteriormente puede explicarse por el tamaño de la muestra analizada.

Las alteraciones del paladar son muy comunes en los pacientes con SVCF, en los dos grupos estudiados lo más frecuente fue el paladar hendido, lo que concuerda con lo reportado en la literatura. En el grupo de pacientes con del22q11.2 se encontró en 40.74% y en el de negativos 11.42%, por lo que se reporta una $p= 0.018$ con $OR=5.32$ e IC

1.41-19.42. Al igual que en los hallazgos anteriores a pesar de tener una p significativa el intervalo de confianza es muy amplio.

Otro hallazgo que reportó una p significativa fue la úvula bífida, que si bien puede formar parte del paladar hendido, fue considerada como una característica independiente en la tabla de recolección de datos por tratarse de un hallazgo evidente en la exploración física. Esta se encontró en 8 de los pacientes positivos (29.62%) y 2 de los negativos (5.71%), con $p= 0.028$, $OR= 6.94$ e $IC= 1.33-36.14$.

Tanto el paladar hendido como la úvula bífida pueden acompañarse de insuficiencia velofaríngea, sin embargo en este grupo de estudio no se encontró diferencia significativa ($p=102$), probablemente por la dificultad para el diagnóstico. Para evaluar este dato clínico se requiere de nasolaringoscopia y por lo tanto en recién nacidos y hasta el año de edad es más difícil de diagnosticar; sin embargo, puede sospecharse indirectamente por sintomatología como la regurgitación nasal.

En la exploración física de pabellones auriculares el hallazgo más significativo fue el hélix plegado, que se puede observar como grueso o en algunos casos, fusionado con el antehélix. Se encontró en 9 de los pacientes con microdelección 22q11.2 (33.33%) y en 2 de los pacientes sin microdelección con una $p= 0.008$, $OR= 9.28$ e $IC 1.79-48.05$. Los pabellones auriculares en el SVCF son muy característicos como se puede apreciar en la Figura 15.

Del total de pacientes analizados 51 presentaron cardiopatía congénita (82.25%). En 25 de los 27 pacientes con del22q11.2 (92.59%) se diagnosticó cardiopatía congénita. La más frecuente fue la CIV que ocurrió en el 48.14% y en segundo lugar de frecuencia la atresia o estenosis de la pulmonar (33.33%), lo que se corresponde con lo reportado en la literatura^{2,14}. La estenosis de la pulmonar se encontró como una característica estadísticamente significativa por su diferencia

en presentación entre pacientes con y sin del22q11.2 con una $p= 0.034$, OR= 5.33 e IC 1.27-22.25.

En este sentido un tamizaje para búsqueda de la del22q11.2 en los pacientes con las cardiopatías congénitas cono-troncales más frecuentes podría estar indicado por los hallazgos que se pueden esperar, ya que presentan delección aproximadamente 50% de los pacientes con interrupción de arco aórtico tipo B y tronco arterioso y más del 15% de los pacientes con tetralogía de Fallot^{2,30}. De hecho esta práctica, como nos fue comentado, se realiza en otros países.

Las alteraciones endocrinológicas son muy frecuentes en SVCF y deben continuar siendo evaluadas a lo largo de la vida, ya que en algunos casos pueden desencadenarse durante períodos de estrés o de aumento del metabolismo como en la adolescencia o adultez. Las más frecuentes en el grupo de pacientes estudiados fueron retraso del desarrollo/talla baja en el 29.62% de los pacientes con microdelección y el 20% de los pacientes con FISH negativo, este tipo de retraso se puede considerar como parte del síndrome *per se* y no secundario a los problemas de la alimentación, aunque estos también pueden contribuir.

En este sentido, todos los pacientes con del22q11.2. deben tener mediciones periódicas de niveles de calcio y aún niveles normales no excluyen un hipotiroidismo parcial. De la misma forma los padres y familiares deben estar prevenidos sobre los posibles síntomas secundarios a hipocalcemia como calambres, temblor, rigidez y crisis convulsivas.

En los hallazgos abdominales, genitourinarios y musculoesqueléticos no se encontraron características clínicas significativas y en general se presentan con menor frecuencia en el SVCF, por lo que además estos aspectos podrían ser simplificados en la tabla de recolección de datos en una segunda evaluación.

En la exploración de extremidades, lo que llama la atención particularmente son las manos, a este respecto lo más frecuente fueron los dedos estrechos y los pulgares de implantación alta que se encontraron en el 11.11% de los pacientes con SVCF.

El retraso en el desarrollo psicomotor fue el hallazgo neurológico más frecuente en ambos grupos de pacientes, en el grupo positivo para la del22q11.2 se reportó en 44.44% y las crisis convulsivas en 25.92%. Las crisis convulsivas de nuevo inicio deben ser evaluadas a la brevedad para descartar que sean secundarias a hipocalcemia y no tengan otro origen.

En las alteraciones del lenguaje, habla y voz, lo más frecuente en ambos grupos fue el retraso del lenguaje, éste se encontró en 62.96% de los pacientes positivos vs 28.57% de los negativos, por lo que también fue considerado como significativo con una $p= 0.014$, $OR= 4.25$ e $IC 1.45-12.40$.

La hiperrinofonía se presentó en 5 de los pacientes con del22q11.2 (18.51%) y en ninguno de los pacientes negativos, lo que nos traduce una $p= 0.040$, $OR= 17.35$ e $IC 0.91-329$, lo que estadísticamente resulta menos significativo por el amplio intervalo de confianza.

En todos los pacientes con voz hiperrinofónica y paladar hendido se sugiere tener en consideración el realizar una evaluación clínica completa en busca de dismorfias faciales y otros datos que aumenten la sospecha clínica de SVCF.

Los problemas en la infancia reportados con mayor frecuencia, son aquellos relacionados con los problemas de la alimentación y el crecimiento, los cuales pueden ser secundarios a las malformaciones debidas al SVCF como son aquellas presentes en el paladar. Tal es el caso del reflujo gastroesofágico y la regurgitación nasal posiblemente secundarios a insuficiencia velofaríngea por paladar hendido que puede

ser submucoso o submucoso oculto. Sin embargo, en nuestro grupo de pacientes estos hallazgos no fueron significativos.

Las alteraciones cognitivas y psicológicas reportadas con mayor frecuencia en el grupo de pacientes estudiados, fueron retraso mental y las alteraciones del aprendizaje que incluyen las de razonamiento matemático y comprensión de lectura, las cuales estuvieron presentes en 3 pacientes (11.11%). Probablemente la baja frecuencia de estas alteraciones se encuentra en relación con el grupo de edad estudiado y también ésta sea la causa de que ninguna de estas características resultara significativa.

En resumen los hallazgos clínicos que se encontraron con p estadísticamente significativa fueron: facies hipotónica, punta nasal bulbosa, paladar hendido (incluyendo al submucoso o submucoso oculto), úvula bífida, hélix plegado, atresia o estenosis pulmonar, retraso del lenguaje e hiperrinofonía.

La decisión para solicitar una prueba de citogenética molecular (FISH) para confirmar la del22q11.2 depende de la sospecha clínica. Existen ciertos hallazgos que pueden ser utilizados como indicadores ante la sospecha clínica de SVCF, lo que puede llevar a los médicos especialistas y subespecialistas a referir a los pacientes para la realización de un diagnóstico de certeza. Sin embargo, ninguna de estas características por sí sola constituye la certeza del diagnóstico clínico.

En particular un grupo que requerirá de mayor estudio, son aquellos pacientes con fenotipo sugestivo de SVCF por clínica, cuyo estudio de FISH fue negativo. Probablemente el conocimiento a futuro con detalle de la región involucrada, nos explique los mecanismos por los que dichos genes podrían participar en la presentación del síndrome. Esto permitiría a su vez determinar si existen otras regiones

que pudieran estar implicadas en fenotipos relacionados como por ejemplo el síndrome por del10p.

Así mismo no puede descartarse que el aumento de los casos negativos se relacione a no ser estrictos en la selección de los pacientes y a consecuencia de la amplia variedad fenotípica. Si bien, no debemos olvidar que el fenotipo es resultado de la expresión de todos los genes y de la interacción entre ellos y el ambiente, lo que puede darnos una gran variabilidad en la presentación de una entidad clínica, como es el caso de la del22q11.2.

En principio, la especificidad y sensibilidad de la prueba de FISH es cercana al 100%². Por lo que además de lo anterior, debe considerarse otros diagnósticos diferenciales en relación a los pacientes. Una posibilidad diagnóstica es una alteración cromosómica que implique la región crítica de del22q11.2. Entre otros diagnósticos clínicos diferenciales debe incluirse aquellos con cardiopatía congénita, paladar hendido, retraso del desarrollo y alteraciones del comportamiento. Así mismo tenemos al síndrome de Kabuki (OMIM 417920), los efectos de alcohol en el feto, la secuencia de DiGeorge, la secuencia de Pierre Robin, el Síndrome de Opitz y el Síndrome de CHARGE.

En éste como en muchos otros padecimientos, el paciente debe ser visto integralmente por un grupo de atención multidisciplinaria, en donde por consenso se decida la posibilidad diagnóstica y la realización de la prueba confirmatoria, en este caso, FISH para 22q11.2, el cual es el estándar de oro en el diagnóstico.

X. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.

Este trabajo representa el interés de un grupo de especialistas en el diagnóstico de pacientes con SVCF, su manejo y tratamiento multidisciplinario para que los pacientes atendidos tengan una mejor calidad de vida, incluyendo el consejo genético.

Los resultados obtenidos en el grupo de pacientes positivos muestran las características encontradas con mayor frecuencia en los pacientes atendidos en el Hospital Infantil de México Federico Gómez y reflejan aquellas que han sido reportadas en la literatura internacional. Los datos estadísticamente significativos fueron: facies hipotónica, hiperrinofonía, nariz de punta bulbosa, paladar hendido, úvula bífida, hélix plegado, atresia o estenosis pulmonar y retraso del lenguaje. De 62 pacientes analizados (28 Masculinos y 34 Femeninos): 27 fueron positivos para la delección. Se analizó a 23 padres, todos negativos para la del22q11.2.

Entre las perspectivas futuras está realizar el análisis de esta región en relación a CNV, en donde se considera que la presencia de los mismos predisponen para que ocurran diferentes rearrreglos cromosómicos y para cuyo análisis pueden por ejemplo emplearse plataformas de diagnóstico por microarreglos.

Finalmente, con los datos obtenidos en nuestra población de pacientes evaluados hasta el momento se han confirmado los datos clínicos asociados a la presentación del SVCF, subrayando la importancia del análisis y el manejo multidisciplinario de los pacientes.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Repetto, G.M., *et al.* Clinical features of chromosome 22q11.2 microdeletion syndrome in 208 Chilean patients. *Clin Genet* **76**, 465-470 (2009).
2. Shprintzen, R.J. Velo-cardio-facial syndrome: 30 Years of study. *Dev Disabil Res Rev* **14**, 3-10 (2008).
3. Botto, L.D., *et al.* A population-based study of the 22q11.2 deletion: phenotype, incidence, and contribution to major birth defects in the population. *Pediatrics* **112**, 101-107 (2003).
4. Robin, N.H. & Shprintzen, R.J. Defining the clinical spectrum of deletion 22q11.2. *J Pediatr* **147**, 90-96 (2005).
5. Cassidy, S.B. & Allanson, J.E. *Management of genetic syndromes*, (Wiley-Liss, Hoboken, N.J., 2005).
6. Sedlackova, E. [Insufficiency of palatolaryngeal passage as a developmental disorder.]. *Cas Lek Cesk* **94**, 1304-1307 (1955).
7. Sedlackova, E. The syndrome of the congenitally shortened velum. The dual innervation of the soft palate. *Folia Phoniatr (Basel)* **19**, 441-450 (1967).
8. Strong, W.B. Familial syndrome of right-sided aortic arch, mental deficiency, and facial dysmorphism. *J Pediatr* **73**, 882-888 (1968).
9. Gayler, G.G. An "epidemic" of congenital facial paresis and heart disease. *Pediatrics* **40**, 666-668 (1967).
10. Burn, J., *et al.* Conotruncal anomaly face syndrome is associated with a deletion within chromosome 22q11. *J Med Genet* **30**, 822-824 (1993).
11. Shprintzen, R.J. Velo-cardio-facial syndrome: a distinctive behavioral phenotype. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev* **6**, 142-147 (2000).
12. Wilson, D.I., Burn, J., Scambler, P. & Goodship, J. DiGeorge syndrome: part of CATCH 22. *J Med Genet* **30**, 852-856 (1993).
13. Burn, J. Closing time for CATCH22. *J Med Genet* **36**, 737-738 (1999).
14. Yamagishi, H. The 22q11.2 deletion syndrome. *Keio J Med* **51**, 77-88 (2002).
15. Scambler, P.J., *et al.* Velo-cardio-facial syndrome associated with chromosome 22 deletions encompassing the DiGeorge locus. *Lancet* **339**, 1138-1139 (1992).
16. Carey, A.H., *et al.* Molecular genetic study of the frequency of monosomy 22q11 in DiGeorge syndrome. *Am J Hum Genet* **51**, 964-970 (1992).
17. Michielon, G., *et al.* Genetic syndromes and outcome after surgical correction of tetralogy of Fallot. *Ann Thorac Surg* **81**, 968-975 (2006).
18. Shprintzen, R.J. Palatal and pharyngeal anomalies in craniofacial syndromes. *Birth Defects Orig Artic Ser* **18**, 53-78 (1982).
19. Shprintzen, R.J. Velocardiofacial syndrome. *Otolaryngol Clin North Am* **33**, 1217-1240, vi (2000).
20. Chegar, B.E., Tatum, S.A., 3rd, Marrinan, E. & Shprintzen, R.J. Upper airway asymmetry in velo-cardio-facial syndrome. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* **70**, 1375-1381 (2006).
21. MacKenzie-Stepner, K., *et al.* Abnormal carotid arteries in the velocardiofacial syndrome: a report of three cases. *Plast Reconstr Surg* **80**, 347-351 (1987).
22. Tatum, S.A., 3rd, Chang, J., Havkin, N. & Shprintzen, R.J. Pharyngeal flap and the internal carotid in velocardiofacial syndrome. *Arch Facial Plast Surg* **4**, 73-80 (2002).

23. Mitnick, R.J., Bello, J.A., Golding-Kushner, K.J., Argamaso, R.V. & Shprintzen, R.J. The use of magnetic resonance angiography prior to pharyngeal flap surgery in patients with velocardiofacial syndrome. *Plast Reconstr Surg* **97**, 908-919 (1996).
24. Zim, S., *et al.* Thickness and histologic and histochemical properties of the superior pharyngeal constrictor muscle in velocardiofacial syndrome. *Arch Facial Plast Surg* **5**, 503-510 (2003).
25. Miyaji, K., Hannan, R.L. & Burke, R.P. Anomalous origin of innominate artery from right pulmonary artery in DiGeorge Syndrome. *Ann Thorac Surg* **71**, 2043-2044 (2001).
26. Yamagishi, H., *et al.* Ventricular septal defect associated with microdeletions of chromosome 22q11.2. *Clin Genet* **58**, 493-496 (2000).
27. Kinoshita, O., *et al.* Pulmonary arterial aneurysm with CATCH 22 syndrome--a case report. *Angiology* **52**, 789-791 (2001).
28. Tanaka, Y., *et al.* Dissecting pulmonary arterial aneurysm associated with chromosome 22q11 deletion. *Am J Med Genet* **104**, 260-261 (2001).
29. Marino, B., *et al.* Anatomic patterns of conotruncal defects associated with deletion 22q11. *Genet Med* **3**, 45-48 (2001).
30. Goldmuntz, E., *et al.* Frequency of 22q11 deletions in patients with conotruncal defects. *J Am Coll Cardiol* **32**, 492-498 (1998).
31. Merscher, S., *et al.* TBX1 is responsible for cardiovascular defects in velo-cardio-facial/DiGeorge syndrome. *Cell* **104**, 619-629 (2001).
32. Calmont, A., *et al.* Tbx1 controls cardiac neural crest cell migration during arch artery development by regulating Gbx2 expression in the pharyngeal ectoderm. *Development* **136**, 3173-3183 (2009).
33. Zweier, C., Sticht, H., Aydin-Yaylagul, I., Campbell, C.E. & Rauch, A. Human TBX1 missense mutations cause gain of function resulting in the same phenotype as 22q11.2 deletions. *Am J Hum Genet* **80**, 510-517 (2007).
34. Weinzimer, S.A. Endocrine aspects of the 22q11.2 deletion syndrome. *Genet Med* **3**, 19-22 (2001).
35. Lachman, R.S. & Taybi, H. *Taybi and Lachman's radiology of syndromes, metabolic disorders, and skeletal dysplasias*, (Mosby Elsevier, Philadelphia, 2007).
36. McDonald-McGinn, D.M., *et al.* The Philadelphia story: the 22q11.2 deletion: report on 250 patients. *Genet Couns* **10**, 11-24 (1999).
37. Ryan, A.K., *et al.* Spectrum of clinical features associated with interstitial chromosome 22q11 deletions: a European collaborative study. *J Med Genet* **34**, 798-804 (1997).
38. Shprintzen, R.J., Goldberg, R.B., Young, D. & Wolford, L. The velo-cardio-facial syndrome: a clinical and genetic analysis. *Pediatrics* **67**, 167-172 (1981).
39. Weinzimer, S.A., *et al.* Growth hormone deficiency in patients with 22q11.2 deletion: expanding the phenotype. *Pediatrics* **101**, 929-932 (1998).
40. Mitnick, R.J., Bello, J.A. & Shprintzen, R.J. Brain anomalies in velo-cardio-facial syndrome. *Am J Med Genet* **54**, 100-106 (1994).
41. Arnold, P.D., Siegel-Bartelt, J., Cytrynbaum, C., Teshima, I. & Schachar, R. Velo-cardio-facial syndrome: Implications of microdeletion 22q11 for schizophrenia and mood disorders. *Am J Med Genet* **105**, 354-362 (2001).
42. Sugama, S., *et al.* Psychiatric inpatients and chromosome deletions within 22q11.2. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **67**, 803-806 (1999).
43. De Smedt, B., Swillen, A., Verschaffel, L. & Ghesquiere, P. Mathematical learning disabilities in children with 22q11.2 deletion syndrome: a review. *Dev Disabil Res Rev* **15**, 4-10 (2009).

44. Shprintzen, R.J., Goldberg, R., Golding-Kushner, K.J. & Marion, R.W. Late-onset psychosis in the velo-cardio-facial syndrome. *Am J Med Genet* **42**, 141-142 (1992).
45. Gothelf, D., *et al.* COMT genotype predicts longitudinal cognitive decline and psychosis in 22q11.2 deletion syndrome. *Nat Neurosci* **8**, 1500-1502 (2005).
46. Debbane, M., Schaer, M., Farhoumand, R., Glaser, B. & Eliez, S. Hippocampal volume reduction in 22q11.2 deletion syndrome. *Neuropsychologia* **44**, 2360-2365 (2006).
47. Schaer, M., *et al.* Abnormal patterns of cortical gyrification in velo-cardio-facial syndrome (deletion 22q11.2): an MRI study. *Psychiatry Res* **146**, 1-11 (2006).
48. Kates, W.R., *et al.* Frontal and caudate alterations in velocardiofacial syndrome (deletion at chromosome 22q11.2). *J Child Neurol* **19**, 337-342 (2004).
49. Shprintzen, R.J., *et al.* Velo-cardio-facial syndrome. *Curr Opin Pediatr* **17**, 725-730 (2005).
50. Al-Herz, W., McGeady, S.J. & Gripp, K.W. 22q11.2 deletion syndrome and selective IgM deficiency: an association of a common chromosomal abnormality with a rare immunodeficiency. *Am J Med Genet A* **127A**, 99-100 (2004).
51. Bolland, E., Manzur, A.Y., Milward, T.M. & Muntoni, F. Velocardiofacial syndrome associated with atrophy of the shoulder girdle muscles and cervicomedullary narrowing. *Eur J Paediatr Neurol* **4**, 73-76 (2000).
52. Conway, K., Gibson, R., Perkins, J. & Cunningham, M.L. Pulmonary agenesis: expansion of the VCFS phenotype. *Am J Med Genet* **113**, 89-92 (2002).
53. Cunningham, M.L., *et al.* Primary pulmonary dysgenesis in velocardiofacial syndrome: a second patient. *Am J Med Genet A* **121A**, 177-179 (2003).
54. Sanchez-Ramon, S., *et al.* Polydactyly in 22q11 syndrome: should it be taken into account? *Clin Genet* **58**, 84-85 (2000).
55. Eliez, S., Schmitt, J.E., White, C.D., Wellis, V.G. & Reiss, A.L. A quantitative MRI study of posterior fossa development in velocardiofacial syndrome. *Biol Psychiatry* **49**, 540-546 (2001).
56. Ehara, H., Maegaki, Y. & Takeshita, K. Pachygyria and polymicrogyria in 22q11 deletion syndrome. *Am J Med Genet A* **117A**, 80-82 (2003).
57. Sztriha, L., *et al.* Clinical, MRI, and pathological features of polymicrogyria in chromosome 22q11 deletion syndrome. *Am J Med Genet A* **127A**, 313-317 (2004).
58. Bird, L.M. & Scambler, P. Cortical dysgenesis in 2 patients with chromosome 22q11 deletion. *Clin Genet* **58**, 64-68 (2000).
59. Barnea-Goraly, N., *et al.* Investigation of white matter structure in velocardiofacial syndrome: a diffusion tensor imaging study. *Am J Psychiatry* **160**, 1863-1869 (2003).
60. Hultman, C.S., *et al.* Chiari malformation, cervical spine anomalies, and neurologic deficits in velocardiofacial syndrome. *Plast Reconstr Surg* **106**, 16-24 (2000).
61. Adachi, M., *et al.* Generalized skeletal dysplasia in mother and daughter with 22q11 deletion syndrome. *Am J Med Genet A* **117A**, 295-298 (2003).
62. Konen, O., *et al.* C1-2 vertebral anomalies in 22q11.2 microdeletion syndrome. *Pediatr Radiol* **38**, 766-771 (2008).
63. Lazanakis, M.S., Rodgers, K. & Economides, D.L. Increased nuchal translucency and CATCH 22. *Prenat Diagn* **18**, 507-510 (1998).
64. Oh, D.C., *et al.* Prenatal diagnosis of tetralogy of Fallot associated with chromosome 22q11 deletion. *J Korean Med Sci* **17**, 125-128 (2002).
65. Machlitt, A., Tennstedt, C., Korner, H., Bommer, C. & Chaoui, R. Prenatal diagnosis of 22q11 microdeletion in an early second-trimester fetus with conotruncal anomaly presenting with increased nuchal translucency and bilateral intracardiac echogenic foci. *Ultrasound Obstet Gynecol* **19**, 510-513 (2002).

66. Moore, K.L., Persaud, T.V.N. & Torchia, M.G. *The developing human : clinically oriented embryology*, (Saunders/Elsevier, Philadelphia, PA, 2008).
67. Carlson, B.M. *Human embryology and developmental biology*, (Mosby/Elsevier, Philadelphia, PA, 2009).
68. Lindsay, E.A. Chromosomal microdeletions: dissecting del22q11 syndrome. *Nat Rev Genet* **2**, 858-868 (2001).
69. Carlson, B.M. *Human embryology and developmental biology*, (Mosby, St. Louis, Mo., 2004).
70. Emanuel, B.S. & Saitta, S.C. From microscopes to microarrays: dissecting recurrent chromosomal rearrangements. *Nat Rev Genet* **8**, 869-883 (2007).
71. Stankiewicz, P. & Lupski, J.R. Genome architecture, rearrangements and genomic disorders. *Trends Genet* **18**, 74-82 (2002).
72. Portnoi, M.F. Microduplication 22q11.2: a new chromosomal syndrome. *Eur J Med Genet* **52**, 88-93 (2009).
73. Shaikh, T.H., *et al.* Chromosome 22-specific low copy repeats and the 22q11.2 deletion syndrome: genomic organization and deletion endpoint analysis. *Hum Mol Genet* **9**, 489-501 (2000).
74. Kobrynski, L.J. & Sullivan, K.E. Velocardiofacial syndrome, DiGeorge syndrome: the chromosome 22q11.2 deletion syndromes. *Lancet* **370**, 1443-1452 (2007).
75. Farrell, M.J., *et al.* HIRA, a DiGeorge syndrome candidate gene, is required for cardiac outflow tract septation. *Circ Res* **84**, 127-135 (1999).
76. Lindsay, E.A., *et al.* Congenital heart disease in mice deficient for the DiGeorge syndrome region. *Nature* **401**, 379-383 (1999).
77. Guris, D.L., Fantes, J., Tara, D., Druker, B.J. & Imamoto, A. Mice lacking the homologue of the human 22q11.2 gene CRKL phenocopy neurocristopathies of DiGeorge syndrome. *Nat Genet* **27**, 293-298 (2001).
78. Grossman, M.H., Emanuel, B.S. & Budarf, M.L. Chromosomal mapping of the human catechol-O-methyltransferase gene to 22q11.1---q11.2. *Genomics* **12**, 822-825 (1992).
79. Coman, I.L., *et al.* The effects of gender and catechol O-methyltransferase (COMT) Val108/158Met polymorphism on emotion regulation in velo-cardio-facial syndrome (22q11.2 deletion syndrome): An fMRI study. *Neuroimage* (2010).
80. Jerome, L.A. & Papaioannou, V.E. DiGeorge syndrome phenotype in mice mutant for the T-box gene, Tbx1. *Nat Genet* **27**, 286-291 (2001).
81. Van Esch, H., Groenen, P., Fryns, J.P., Van de Ven, W. & Devriendt, K. The phenotypic spectrum of the 10p deletion syndrome versus the classical DiGeorge syndrome. *Genet Couns* **10**, 59-65 (1999).
82. Zuniga, C., *et al.* Comparative study between children with and without cleft lip and cleft palate, part 1: cephalometric analysis. *Cleft Palate Craniofac J* **37**, 281-285 (2000).

ANEXO 1.

ANÁLISIS CITOGENÉTICO Y DE HIBRIDACIÓN *in situ* FLUORESCENTE (FISH)

Citogenética: A todos los pacientes captados se les realizó cariotipo a partir de cultivo de linfocitos de sangre periférica, utilizando técnicas de bandas GTG.

Toma y procesamiento de la muestra:

Preparación de Soluciones:

- Solución de Carnoy o fijador 3 porciones de Metanol absoluto por 1 porción de Ácido acético glacial.
- Solución Hipotónica de KCl 0.075M
Cloruro de Potasio 5.6g 1L
Agua destilada 1L

- a) Se obtienen 1.5ml de muestra de sangre periférica, en una jeringa con 0.1ml de heparina sódica de 1, 000 U.I
- b) Se agregan 700µl de la muestra en 2 tubos de ensayo Falcon desechables de polipropileno esterilizados.
- c) Se agregan 5ml de medio de cultivo PB-MAX (contiene RPMI 1640, fitohemaglutinina, suero fetal de bovino, antibióticos estreptomycin y penicilina, L- glutamina).
- d) Se incuba por 72 horas a 37-37.5°C.
- e) A las 72 hrs se agregan 20µl de colchicina a cada tubo, se agita y se incuban 30min más a 37-37.5°C.
- f) Se centrifuga por 10min a 2, 500 rpm.
- g) Se decanta el sobrenadante y se resuspende agitando en vortex y se agrega solución hipotónica para completar un volumen de 12ml.
- h) Se incuba 30min a 37-37.5°C.

- i) Centrifugar 10min a 2, 500 rpm.
- j) Con pipeta se retira el sobrenadante y en agitación se agrega fijador frío o solución de Carnoy, gota a gota para completar un volumen de 8ml.
- k) Se refrigera por 20 min
- l) Se centrifuga y se retira el sobrenadante, se lleva a un volumen de 8ml para el primer lavado
- m) Se centrifuga nuevamente, se retira el sobrenadante y se lleva a volumen de 6ml para el segundo lavado.
- n) Se gotea el cultivo en laminillas de vidrio y se revisa el material determinando la calidad y cantidad de metafases presentes.
- o) Las laminillas obtenidas se incuban en estufa a 60°C por espacio de 24hr.
- p) Se realiza técnica de bandeo GTG
- q) Se monta tren de bandeo
- r) Se utilizan 5 vasos Koplick, en el primero se colocan 98ml de amortiguador de fosfato pH7+2ml de tripsina, en el segundo 100ml de amortiguador de fosfato pH7, en el tercero 96ml de amortiguador de fosfato pH 6.8 + 4ml de tinción de Wright, en el cuarto 96ml de amortiguador de fosfato pH 6.8 + 4ml de colorante Giemsa y en el último agua destilada.
- s) Se estandarizó la técnica para tiempos en tripsina y colorantes.
- t) Se fijan las laminillas y se observan al microscopio.
- u) Se analizan 20 metafases.

Referencia

Barch MJ, Knutsen T, Spurbeck JL. En: The AGT Cytogenetics Laboratory Manual. Third Edition. Lippincott-Raven. Philadelphia. 1997.

Citogenética Molecular:

El procedimiento para la FISH se divide en 6 pasos:

1. Preparación de la laminilla
2. Preparación de la sonda
3. Hibridación
4. Lavado
5. Contra-tinción
6. Visualización

MATERIAL

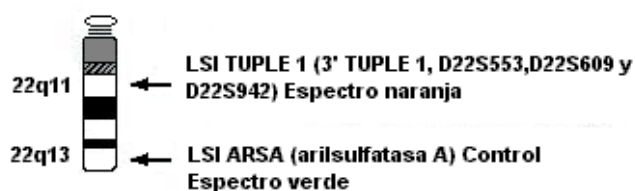
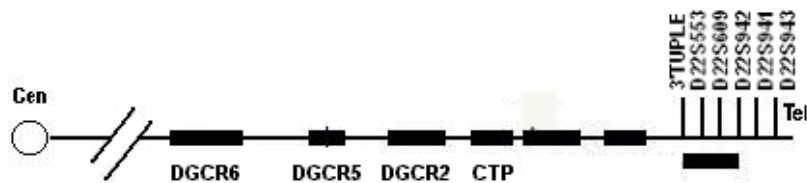
- SSC 20X
- Sonda de *locus* específico: DiGeorge/VCFS espectro naranja*. SONDA TUPLE1 Y N25
- Amortiguador para la sonda
- Etanol
- NP-40 1000 µL
- DAPI II 125 ng/mL
- Pegamento iris ®

La sonda de doble espectro incluye dos secuencias únicas TUPLE1 (HIRA) espectro naranja, y del gen arilsulfatasa A (ARSA) como control (espectro verde) Vysis ®.

La sonda LSI TUPLE 1 contiene los siguientes *loci*: región no codificadora 3' de TUPLE1, D22S553, D22S609 y D22S942. Las 110kb de la sonda TUPLE1 no contienen los *loci* más teloméricos D22S41 y D22S943⁸².

La sonda de LSI ARSA sirve como control interno y se encuentra muy cerca del telómero 22 en 22q13. La sonda control define la orientación del cromosoma y provee un *locus* de diferente información

en células de interfase y metafase. Provee información sobre los dos loci, el locus en estudio y de control.



Ideograma del cromosoma 22, mostrando las regiones de hibridación de las sondas LSI DiGeorge/SVCF ^{Vysis®} (Figuras 6 y 7).

Preparación de la laminilla: Las células se trataron para facilitar la ruptura de la membrana celular. Para la obtención de cromosomas en metafase o profase para la FISH se siguieron los protocolos citogenéticos de cultivo, cosecha y preparación de laminillas estándar. Ya obtenido el botón de células, en una laminilla previamente limpia y desengrasada se colocaron 3 gotas de agua, y se dejaron caer 10 gotas del botón a 15cm aprox. de altura a la laminilla para ayudar a romper mecánicamente la membrana celular.

Se revisó la laminilla sin teñir, en microscopio de contraste de fases para seleccionar un campo apropiado, (abundantes metafases, abundantes núcleos, etc.), para después señalar con un lápiz diamante el área que será la de hibridación en la laminilla. Las laminillas goteadas se deshidrataron en Etanol al 70%, 80% y 100% por un minuto en cada concentración.

Desnaturalización: La sonda y el DNA blanco (el de la laminilla preparada) fueron al mismo tiempo desnaturalizados térmicamente. Antes de la colocación de la laminilla en el HIBRITE (Vysis ®) para la desnaturalización e hibridación, se procedió a la preparación de la mezcla de la sonda:

Se adicionaron 5µl para cada área blanco a temperatura ambiente de la mezcla:

- 3.5 µl amortiguador de hibridación para sonda LSI Vysis ®
- 0.5 µl de sonda.
- 1 µl H₂O purificada estéril

Se centrifugó el tubo de 1 a 3 segundos y enseguida se mezcló en el vórtex. Cuando se evaporó el etanol de la laminilla, (antes de la desnaturalización) en un cuarto oscuro se prosiguió a agregar la sonda TUPLE1 vysis ® en la zona marcada de la laminilla; inmediatamente se colocó el cubre objetos y se selló la preparación con pegamento iris®. La preparación se colocó en el aparato hibridador (Hybrite) Vysis ® previa colocación de gasas húmedas para mantener el ambiente húmedo dentro de la cámara. El equipo se programó a 74°C por 3min para llevarse a cabo la desnaturalización de la sonda y el DNA y a 37°C por 24hrs o 48hrs para la hibridación.

Hibridación: la reacción es usualmente llevada a 37°C hasta por 48 hrs. Tiempos de hibridación cortos (minutos a horas) son suficientes para que las sondas detecten secuencias blanco. Sin embargo, se prefiere dejarlo por 24 a 48 hrs para asegurar la hibridación de la sonda con el DNA blanco, dependiendo de la presencia de citoplasma en la preparación.

Lavados: Se realizaron para eliminar el exceso de sonda que no hibridó con la muestra. Para remover el ruido de fondo asociado de híbridos no específicos se somete a lavados con una solución con baja concentración de sal. La baja concentración de sal y la alta temperatura inducen una alta selectividad en el lavado, ya que esto desestabiliza el dúplex. Las fuerzas repulsivas de los enlaces fosfodiéster cargados negativamente están expuestos, por lo que si no hay suficiente concentración de sales, no tendrá la capacidad de neutralizar las cargas y por tanto habrá una alta selectividad. Únicamente las bases correctamente apareadas podrán contender con las fuerzas repulsivas.

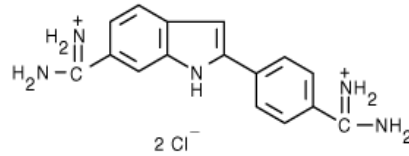
Los lavados de las muestras hibridadas se llevan a cabo para remover sondas no específicas. Los requerimientos críticos son: usar las condiciones apropiadas de selectividad para remover únicamente las sondas inespecíficas. La astringencia (moderada a alta se lleva a cabo en los lavados post-hibridación (subiendo la temperatura por debajo de la T_m).

Las soluciones que se prepararon fueron:

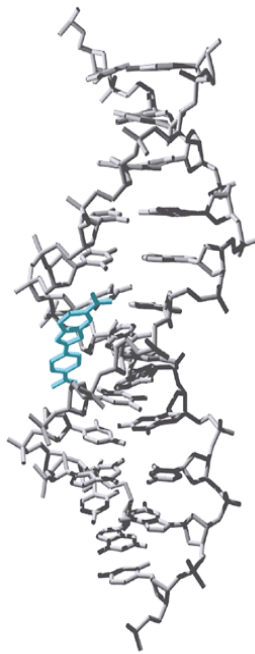
- 70 ml de 0.4XSSC/0.3% NP-40 en un vaso de Coplin.
- 70 ml de 2XSSC/0.1% NP-40 en un vaso de Coplin.

Terminado el tiempo de hibridación, se retiró el pegamento de la laminilla y ésta se sumergió en agua a temperatura ambiente para remover el cubreobjetos sin levantar la preparación. Se sumergió la laminilla en una solución de 0.4XSSC/0.3% NP-40 en un vaso Coplin a una temperatura de $73 \pm 1^\circ\text{C}$ en baño María por 3 minutos, agitándola de 1-3 segundos. Después se sumergieron en 2XSSC/0.1% NP-40 a temperatura ambiente por 2 minutos. Terminado el tiempo se dejó secar a temperatura ambiente.

Contratinción: Permite visualizar y detectar las células interfase y metafases en el microscopio. Después del secado de las laminillas, se aplicó 10 μL de DAPI II para luego colocar un cubreobjetos. Hibrida de forma homogénea todos los demás cromosomas.



Colorante DAPI (4',6-Diamidino-2-fenilindol diclorato) para la contratinción de la técnica de FISH.¹



Unión covalente del colorante DAPI con el surco menor de la molécula de DNA. www.invitrogen.com / Manual del fabricante Vysis ® para sondas LSI.

Visualización: Las señales fueron detectadas al observar la preparación en un microscopio de epifluorescencia marca Zeiss® modelo AXIO imager.A 2.1 con lámpara de mercurio de 100 Watts, utilizando tres filtros para la observación de las señales: DAPI (azul), FITC (verde) y SpO(rojo). Se revisaron de 25 a 50 metafases y 50 núcleos de interfase de cada paciente. El análisis de las imágenes se hizo usando el software ISIS v.3.1.marca metasystems-Zeiss® utilizando los filtros DAPI, verde y rojo, las imágenes son integradas y guardadas (por lo menos tres imágenes del resultado) tanto para pacientes positivos como negativos para la del22q11.2.



HOSPITAL INFANTIL de MÉXICO
FEDERICO GÓMEZ
Instituto Nacional de Salud

ANEXO 2.

Hospital Infantil de México Federico Gómez

Departamento de Genética

Clínica de Atención Multidisciplinaria del Síndrome del22q11

NOMBRE: _____ REGISTRO: _____ FECHA: _____

CRANEOFACIALES	
	Microcefalia
	Asimetría facial al llanto
	Asimetría facial estructural
	Fascias hipotónica
	Perfil facial plano
	Oligodontia
	Hipoplasia de esmalte y/o caries
	Comisuras labiales descendentes
	Labio hendido
	Retrognatia

OFTALMOLÓGICOS	
	Estrabismo
	Fisuras palpebrales estrechas
	Catarata
	Coloboma de iris
	Microftalmia
	Hipertelorismo
	Párpados gruesos
	Vasos retineales tortuosos
	Embriotoxón posterior
	A VALORAR FONDO DE OJO

HALLAZGOS FARÍNGEOS, LARÍNGEOS Y DE VÍA AÉREA	
	PH,PHS PHS oculto
	Uvula hipoplasica
	Uvula bífida
	Adenoides ausentes o pequeñas
	Faringe amplia
	Faringe estrecha
	Latido carotídeo
	Insuficiencia velofaríngea
	Movimiento faríngeo asimétrico

NARIZ	
	Puente nasal prominente, ancho
	Punta nasal bulbosa
	Separación leve de la punta (aparición bífida)
	Narinas estrechas

PABELLONES AURICULARES	
	Hélix plegado
	Lóbulos pegados
	Pabellones acopados
	Pabellones pequeños
	Asimetría leve de pabellones
	Otitis media recurrente
	Hipoacusia conductiva
	Hipoacusia neurosensorial
	Pits o apéndices preauriculares
	CAE estrecho

CARDIOVASCULARES	
	CIV
	CIA
	Atresia o estenosis pulmonar
	Tetralogía de Fallot
	Aorta hacia la derecha
	Tronco arterioso
	PCA
	Aorta interrumpida (tipo B)
	Coartación aortica
	Alteración de valvas aórticas
	Arterias subclavias aberrantes
	Anillo vascular
	Alteración de arteria carótida
	Transposición de grandes vasos
	Atresia tricuspídea

ENDOCRINOLÓGICOS	
	Hipocalcemia
	Hipoparatiroidismo
	Pseudohipoparatiroidismo
	Hipotiroidismo
	Retraso leve del desarrollo/ Talla baja
	Timo ausente o hipoplásico
	Hipoplasia de hipófisis

ABDOMINALES	
	Alteraciones renales
	Enfermedad de hirschsprung
	Hernia inguinal
	Hernia umbilical
	Malrotación intestinal
	Hernia diafragmática
	Malformación ano-rectal

GENITOURINARIOS	
	Hipospadias
	Criptorquidia
	Reflujo genitourinario

EXTREMIDADES	
	Manos y pies pequeños
	Dedos estrechos
	Piel áspera en manos y pies
	Contracturas
	Pulgares trifalángicos
	Pulgares de implantación alta
	Polidactilia (preaxial/postaxial)
	Sindactilia cutánea

PROBLEMAS EN LA INFANCIA	
	Dificultad para la alimentación
	Falla en el crecimiento
	Reflujo gastroesofágico
	Regurgitación nasal Vómito nasal
	Irritabilidad
	Constipación crónica


MUSCULOESQUELÉTICOS	
	Escoliosis
	Hemivértebras
	Espina bífida oculta
	Vértebra en mariposa
	Fusión vertebral
	Compromiso de médula espinal
	Osteopenia
	Anomalía de Sprengel
	Pie equinovaro
	Hipotrofia muscular
	Luxaciones
	Dolor crónico en ext. Inferiores
	Pie plano
	Hipermovilidad articular
	Costillas supernumerarias
	Fusión costal

NEUROLÓGICOS	
	Disgenesia/hipoplasia cerebelar
	Hipotonía generalizada
	Retraso del desarrollo
	Convulsiones
	Infartos
	Ataxia cerebelar
	Espina bífida/mielomeningocele
	Ventriculomegalia

LENGUAJE, HABLA, VOZ	
	Retraso de lenguaje
	Dislalias (fallas articulatorias)
	Hipernasalidad
	Disfonías

ALTERACIONES COGNITIVAS Y PSICOLÓGICAS	
	Alteraciones del aprendizaje
	Pensamiento concreto/ dificultad con abstracción
	IQ bajo en edad escolar
	Borderline
	Retraso mental
	Deficit de atención / Hiperactividad
	Trastornos de la conducta
	Psicopatología
	Trastornos de aprendizaje

ANEXO 3.

		FORMATO DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACION	
CUBICULO No.	<input type="text"/>	FECHA	<input type="text"/> / <input type="text"/> / <input type="text"/>
NOMBRE DEL PACIENTE _____		Sexo	<input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/> Edad _____ AÑOS
PROCEDIMIENTO PROPUESTO Y EXPLICACION DEL MISMO:			
Toma de muestra	<input type="checkbox"/> SANGUINEA	<input type="checkbox"/> ORINA	<input type="checkbox"/> OTRO (explique) _____
Beneficios : DIAGNOSTICO OPORTUNO DE PADECIMIENTO Y/O SEGUIMIENTO AL TRATAMIENTO			
Riesgos y complicaciones: MINIMOS, SI SE PRESENTA ALGUNA CONTAMOS CON PERSONAL CAPACITADO EN ATENDER LA URGENCIA. EL MATERIAL ES NUEVO, ESTERIL Y DESECHABLE.			
Yo _____ de _____ años de edad. Reconozco que se me explico y entendí el procedimiento para realizar los exámenes, estoy enterado de los beneficios, sé de los riesgos y las probables complicaciones que se me pueden presentar. Consciente de que se busca un beneficio, doy mi consentimiento sin obligación y por decisión propia para que los exámenes se efectúen así mismo para realizar la atención de contingencias y urgencias derivadas del acto autorizado, con base al principio de libertad prescripta.			
FIRMA DEL PACIENTE O SU REPRESENTANTE LEGAL _____			
TESTIGO FAMILIAR (Nombre y Firma) _____			
TESTIGO SUPERVISOR (Nombre y Firma) _____			
NOMBRE Y FIRMA DEL FLEBOTOMISTA _____			
Este consentimiento deberá llenarse para todo procedimiento de Toma de Muestras en el Laboratorio a realizarse en todo paciente sin excepción alguna. El responsable de recabarlo es quien vaya a realizar el mismo. Esta carta es renovable mientras no se concluya el procedimiento y no obligará al Químico, Técnico o Médico a realizar u omitir un procedimiento cuando ello entrañe un riesgo hacia el paciente.			
REFERENCIA: LEY GENERAL DE SALUD cap. IV. Art. 80.81.82. v 83. NOM-168-SSA1-1998.			