



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

HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA

**ANÁLISIS CLÍNICO, CITOGENÉTICO Y MOLECULAR DE UN CASO DE TRANSLOCACIÓN
FAMILIAR $t(1;3)(q41;p26.3)$ RESULTANDO EN TRISOMÍA PARCIAL 1q Y MONOSOMÍA
PARCIAL 3p.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
ESPECIALISTA EN GENÉTICA MÉDICA

P R E S E N T A:

Dra. Carolina Isabel Galaz Montoya

TUTORA: DRA. VERÓNICA FABIOLA MORÁN BARROSO

ASESORES DE TESIS:

DRA. CONSTANZA GARCÍA DELGADO

M. EN C. ALICIA CERVANTES PEREDO

MÉXICO, D.F. FEBRERO 2014





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Directora de tesis:

Dra. Verónica Fabiola Morán Barroso
Jefa del Departamento de Genética
Hospital Infantil de México Federico Gómez

Asesores de tesis:

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

M. en C. Alicia Cervantes Peredo
Servicio de Genética, Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga
Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México

Dra. Rebeca Gómez Chico Velasco
Directora de Enseñanza
Hospital Infantil de México Federico Gómez

Dedicatoria

A Luis Alonso, Norma B., Mónica, Luis y Gerardo.

Por su apoyo incondicional, su amor y por creer en mí. No lo habría logrado sin ustedes. Gracias.

A la familia Montoya Gerardo.

Por acompañarme en este largo camino, por su cariño incondicional y por tantos momentos de dicha. Gracias.

A Pily, Pamela, Karla, Norma y Astrid.

Por ser mis aliadas en todos mis sueños y ayudarme siempre a lograr mis metas. Por su cariño, amistad y más. Gracias.

A la Dra. Verónica Fabiola Morán Barroso.

Por su orientación, enseñanzas, correcciones y todo el apoyo otorgado durante estos tres años para mi formación como especialista. Me llevo su impronta. Gracias.

A la Dra. Constanza García Delgado y al Dr. Francisco Flores Ramírez.

Por sus enseñanzas, orientación y sobre todo por su buen trato estos tres años, me hicieron sentir en casa. Gracias.

A la M. en C. Alicia Cervantes Peredo.

Por compartirme tantos conocimientos, y enseñarme que las cosas siempre se pueden hacer mejor. Gracias.

A mis compañeros: Maura, Rodrigo, Jimena, Paola, Diana, Alejandra, Christian y Paulina.

Por su apoyo, enseñanzas y sobre todo por su amistad. Gracias.

Al Hospital Infantil de México Federico Gómez y sus pacientes.

Por darme las herramientas y formación necesaria para cumplir esta etapa. Gracias.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	5
1.1 Estructura de los cromosomas humanos.....	5
1.2 Clasificación de los cromosomas humanos.....	10
1.3 Ciclo celular y división celular.....	12
1.3.1 Mitosis.....	16
1.3.2 Meiosis.....	17
1.4 Técnicas de citogenética	
1.4.1 Cariotipo.....	20
1.4.2 FISH.....	22
1.4.3 CGH.....	24
1.4.4 Microarreglos.....	25
1.5 Alteraciones cromosómicas.....	26
1.5.1 Alteraciones numéricas.....	27
1.5.2 Alteraciones estructurales.....	29
1.6 Trisomía parcial 1q.....	36
1.7 Monosomía parcial 3p.....	37
1.8 Translocación t(1;3).....	39
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	40
3. JUSTIFICACIÓN.....	41
4. OBJETIVOS.....	42
4.1 Objetivo principal	
4.2 Objetivos secundarios	
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	43
6. RESULTADOS DE ESTUDIOS CITOGENÉTICOS Y MOLECULARES.....	47
7. DISCUSIÓN.....	55
8. CONCLUSIONES.....	68
9. REFERENCIAS.....	69
10. ANEXOS.....	77

RESUMEN

Introducción: Las anomalías cromosómicas estructurales no balanceadas tienen una incidencia aproximada de 1 en 1,100 recién nacidos vivos y resultan de rupturas cromosómicas o entrecruzamiento desigual, éstas pueden ocasionar enfermedad debido a trisomía y/o monosomía de segmentos cromosómicos y pueden ser eventos *de novo* o ser heredadas de padres portadores de rearrreglos balanceados. A la fecha, existen 9 reportes de t(1;3) con distintos puntos de ruptura, resultando en su mayoría en casos con en trisomía parcial 1q y monosomía parcial 3p. Cada una de estas anomalías en forma individual da lugar a un síndrome. El síndrome por delección 3p (OMIM 613792) es un síndrome de genes contiguos caracterizado por retraso en el crecimiento y desarrollo psicomotor, dismorfias y cardiopatía. Existen aproximadamente 40 reportes en la literatura de trisomía parcial 1q, en la mayoría de los casos se encuentra asociada a una monosomía parcial de otro cromosoma, con unos cuantos pacientes de forma pura o aislada, lo que ha dificultado la correlación fenotipo-genotipo. **Objetivo principal:** Describir clínica, citogenética y molecularmente a un individuo con trisomía 1q y monosomía 3p de una familia con t(1;3). **Justificación:** En los casos en que las alteraciones se relacionan con aberraciones cromosómicas desbalanceadas es importante descartar que estén asociadas a alteraciones equilibradas en los padres. El estudio de esta familia con t(1;3) y su comparación con otros casos descritos en la literatura aportará información acerca de las características fenotípicas correspondientes a cada anomalía cromosómica. **Material y métodos:** Se realizó estudio clínico, citogenético (Cariotipo con técnica de bandas GTG y FISH utilizando la mezcla 3 de las sondas ToTelVysion de Vysis-Abbott®) y molecular (Mapeo genómico con Cytoscan HD de Affymetrix Inc®) al propósito, y cariotipo con técnica de bandas GTG a varios integrantes de la familia. **Resultados:** El complemento cromosómico del propósito fue: 46,XY,der(3)t(1;3)(q41;p26.3), y su madre es portadora balanceada de la misma translocación. El análisis con FISH corroboró las regiones cromosómicas implicadas. El estudio con Cytoscan en el propósito identificó: Una duplicación de 30.3 Mb del nucleótido 218,920,024 al 249,224,684 en 1q41-qter, y una delección de 1.7Mb en las posiciones 61,891 a 1,774,215 en 3pter-p26.3. **Discusión:** Se describe el caso de un paciente con trisomía parcial 1q41-qter y monosomía parcial 3p26.3-pter como resultado de una segregación adyacente I materna. Las características clínicas del paciente son compatibles con lo reportado en la literatura de manera individual para ambas alteraciones y comparte algunas características con los pocos casos derivados de t(1;3) reportados. Se identificaron 4 portadoras del rearrreglo balanceado en la familia por lo que existe riesgo de recurrencia, por lo que se otorgó asesoramiento genético a los integrantes de la familia implicados.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Estructura de los cromosomas humanos

La información genética en el ser humano se dispone en 23 pares de cromosomas o 46 moléculas de DNA de diferentes tamaños. Los cromosomas se caracterizan por presentar estructuras y morfologías definidas en cada uno de los pares de cromosomas homólogos¹. Es en la etapa de prometáfase-metafase del ciclo celular en que estas estructuras se encuentran en un estado altamente condensando^{1,2}.

El genoma eucarionte es compactado mediante múltiples niveles de plegamiento mediados por interacciones tipo DNA-proteína y proteína-proteína; dos clases principales de proteínas se han asociado a este proceso de empaquetamiento del DNA y son las proteínas histonas y no histonas. Las proteínas histonas intervienen en la formación del nucleosoma como primer nivel de empaquetamiento del DNA; en relación a las proteínas no histonas, éstas son esenciales para la organización y compactación de los cromosomas. En particular la familia, de proteínas no histonas SMC (del inglés *Structure and maintenance of chromosomes*) ha sido implicada de manera primaria en la organización y mantenimiento global de la estructura de los cromosomas en eucariontes.³ Las proteínas SMC son polipéptidos largos de 1,000 a 1,300 aminoácidos con un solo dominio⁴ de ATPasa, están altamente conservadas desde las bacterias hasta los humanos y constituyen el centro del complejo proteínico involucrado en diferentes aspectos de la compactación de los cromosomas.⁵

En eucariontes existen tres complejos de proteínas SMC: 1) el complejo cohesina formado por las proteínas Smc1-Smc3 encargado de la cohesión de las cromátides hermanas y de los procesos de reparación del DNA durante el ciclo celular, 2) el complejo condensina formado por Smc2-Smc4 encargado de la condensación cromosómica, y 3) el complejo Smc5-Smc6 involucrado también en procesos de reparación del DNA.^{3,4}

Los cromosomas tienen dos telómeros (extremos distales) y un solo centrómero, este se observa bajo el microscopio como una constricción primaria y divide al cromosoma en dos brazos, uno corto o "p" y un brazo largo o "q" ubicado en la parte inferior al centrómero (Figura 1).⁶

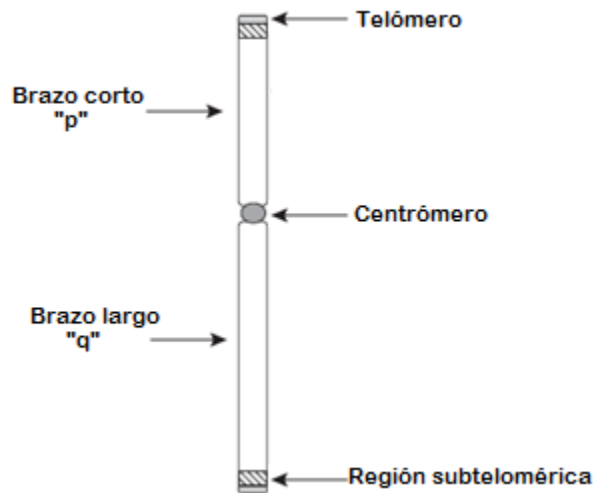


Figura 1. Estructura cromosómica general. Se indican el centrómero y dos telómeros. Imagen modificada de Martin *et al.* 2005.⁷

El centrómero es esencial para la segregación durante la división celular, ya que es la región cromosómica especializada en el ensamblaje de los cinetocoros (las estructuras de los cromosomas que se encargan de su unión con los microtúbulos del huso mitótico), dirigiendo la segregación equitativa de los cromosomas durante mitosis y meiosis.⁴⁸ Los centrómeros están compuestos de secuencias largas de repetidos en tándem de DNA α satélite, la unidad fundamental es de 169 a 172bp, la cual puede diferir en su secuencia hasta en un 30 a 40%.⁸

De manera adicional al componente de DNA, en el centrómero se encuentran varias proteínas de las cuales muchas han sido identificadas como constitutivas y colectivamente se conocen como proteínas asociadas al centrómero o CENP. La proteína CENP-A es una variante de la histona H3 encargada de formar un nucleosoma centrómero específico y es requerida para la localización de casi todas las proteínas centroméricas, por lo que es esencial para la formación y mantenimiento del centrómero así como del cinetocoro (Figura 2).⁹

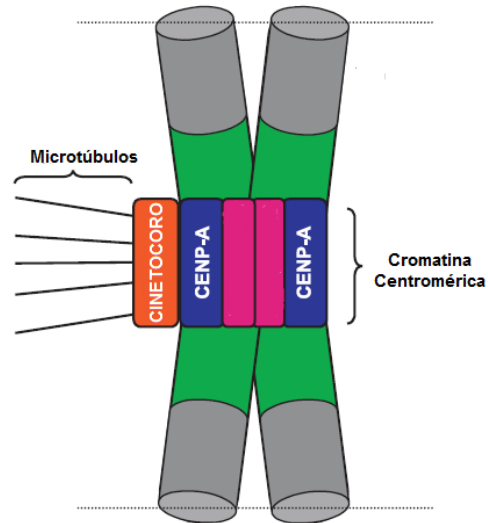


Figura 2. Se representa la constricción primaria que forma el centrómero en un cromosoma, así como la posición de la proteína CENP-A la cual especifica el ensamblaje del cinetocoro en la orientación apropiada para la unión de los microtúbulos. Imagen modificada de Vos *et al*, 2006.⁹

En relación a CENP-B, esta es una proteína de unión a una secuencia de 17pb del DNA α satélite llamada caja CENP-B. Su localización, presente tanto en centrómeros activos como inactivos, su ausencia en el centrómero del cromosoma Y y la viabilidad de ratones *knock out* en los que se ha eliminado el gen que codifica a esta proteína, sugieren que CENP-B no tiene una función esencial en el centrómero, pero se le ha asociado a la facilitación y estabilización de la formación del mismo así como a la determinación del sitio cromosómico en donde se formará la heterocromatina constitutiva.^{8,9}

La proteína CENP-C es requerida para la integridad de la estructura del cinetocoro, mediante la unión de la heterocromatina centromérica a la estructura trilaminar del cinetocoro, el cual es el encargado del ensamblaje de los microtúbulos durante el ciclo celular. Existen otras proteínas asociadas a centrómero como CENP-G la cual se une al DNA α satélite, por lo que esta proteína de unión y CENP-B pueden tener una función redundante. CENP-H y CENP-I son necesarias para la localización de CENP-C en el cinetocoro.¹⁰ Las proteínas INCENP, son proteínas que se asocian de manera transitoria al centrómero, y se localizan en esta región sólo durante la mitosis; teniendo una importante participación en la citocinesis.¹¹

Los telómeros son estructuras especializadas, formados también por DNA y proteínas que ocupan los extremos de los cromosomas⁶ y cuentan con características únicas que los tornan esenciales en la organización y función cromosómica.⁷ Dentro de las principales

funciones del telómero se encuentra el mantenimiento de la integridad estructural del cromosoma, el asegurar la replicación completa del DNA, así como su adecuada posición en el cromosoma.⁶

En los seres humanos, los telómeros consisten de miles de repetidos de un motivo de 6pb con la secuencia consenso 5'-TTAGGG-3' (Figura 3), terminando en un extremo 3' de cadena sencilla rico en G con una extensión de 30 a 300 nucleótidos llamada saliente o asa T. Esta estructura previene que el extremo terminal de los cromosomas sea reconocido y procesado por la maquinaria de reparación de rupturas de doble cadena del DNA.¹² El mecanismo de mantenimiento del tamaño de los telómeros es llevado al cabo por una enzima especial llamada telomerasa, involucrada en el proceso de *capping* o encapuchamiento del telómero y en la respuesta al daño del DNA.¹³

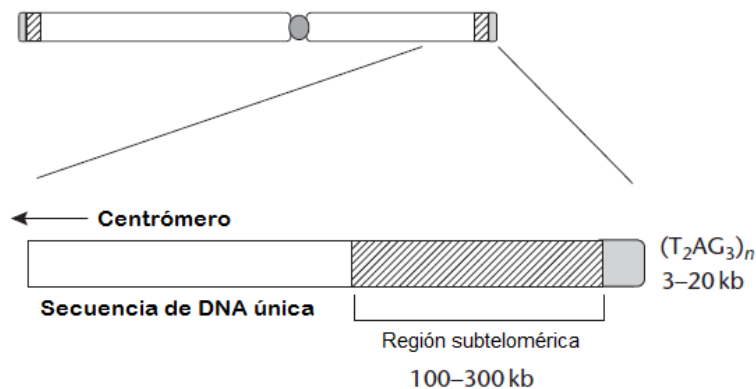


Figura 3. Diagrama de la región telomérica en humanos. En la parte superior de la figura se encuentra representada la región telomérica. La parte inferior representa en color gris la región telomérica de repetidos TTAGGG, el área sombreada representa la región subteloamérica y la parte blanca la secuencia de DNA única. Imagen modificada de Martin *et al.* 2005.⁷

Existe un complejo llamado complejo de shelterina el cual actúa en los telómeros para mantener la estructura particular de estas regiones mediante la inhibición de vías de respuesta a daño al DNA. El complejo shelterina se encuentra formado por seis proteínas, los factores 1 y 2 de unión al repetido TTAGGG (llamados respectivamente TRF1 y TRF2), la proteína de protección de telómeros 1 (POT1), la proteína represora/activadora 1 (RAP1), el factor de interacción-TRF1 nuclear 2 (TIN2) y por la proteína 1 de interacción-TIN1 (TPP1). Los repetidos teloméricos de doble cadena son unidos por TRF1 y TRF2, mientras que la saliente de cadena sencilla o asa T es unida mediante la proteína POT1, la cual

forma un heterodímero con TPP1. La proteína RAP1 interactúa con TRF2; TIN2 conecta TRF1 y TRF2 con el heterodímero TPP1/POT1.¹²

1.2 Clasificación de los cromosomas humanos

De acuerdo con la localización del centrómero los cromosomas se clasifican en tres tipos (Figura 4):

- a) Metacéntrico: El centrómero se localiza en la parte central del cromosoma, teniendo ambos brazos el mismo.
- b) Submetacéntrico: El centrómero se localiza proximal a uno de sus extremos, determinando un brazo corto (p) y un brazo largo (q).
- c) Acrocéntrico: El centrómero está situado muy próximo a uno de sus extremos, quedando el brazo corto muy reducido y se caracterizan por tener en su brazo corto estructuras denominadas satélites.¹⁴



Figura 4. Tipos de cromosomas de acuerdo a su localización centromérica. La flecha azul señala la posición del centrómero en cromosomas metacéntricos y la flecha roja señala los satélites en un cromosoma acrocéntrico. Imagen modificada de *The principles of clinical cytogenetics*.¹⁴

Los cromosomas acrocéntricos humanos son los cromosomas 13, 14, 15, 21 y 22 éstos tienen en sus brazos cortos estructuras llamadas satélites, las cuales se encuentran unidas al cromosoma por estrechos pedículos llamados tallos o constricciones secundarias. Dichas estructuras satelitales contienen cientos de copias de genes que codifican para RNA ribosomal y proteínas ribosomales, así como una variedad de secuencias repetidas también llamadas regiones organizadoras nucleolares o NOR.¹⁵

Al análisis cromosómico según el ordenamiento de los cromosomas por su tamaño, la localización del centrómero y sus propiedades tintoriales (bandas) se le llama cariotipo. De acuerdo a lo anterior, los cromosomas humanos se han ordenado en siete grupos que se designan por letras de la A a la G (Figura 5):¹⁶

- Grupo A: Incluye los pares 1, 2 y 3, que son los cromosomas más grandes. Los cromosomas 1 y 3 son metacéntricos mientras que el 2 es submetacéntrico.
- Grupo B: Pares 4 y 5 son submetacéntricos.
- Grupo C: Pares del 6 al 12 son submetacéntricos y debido a su tamaño se incluye en este grupo al cromosoma X.
- Grupo D: Pares 13, 14 y 15 son acrocéntricos.
- Grupo E: Pares 16, 17 y 18 son submetacéntricos, (el cromosoma 16 tiene su centrómero un poco más hacia el centro).
- Grupo F: Pares 19 y 20 son metacéntricos.
- Grupo G: Pares 21 y 22 son los más pequeños y son acrocéntricos. Se incluye por tamaño en este grupo al cromosoma Y, que no tiene satélites y es submetacéntrico.¹⁶

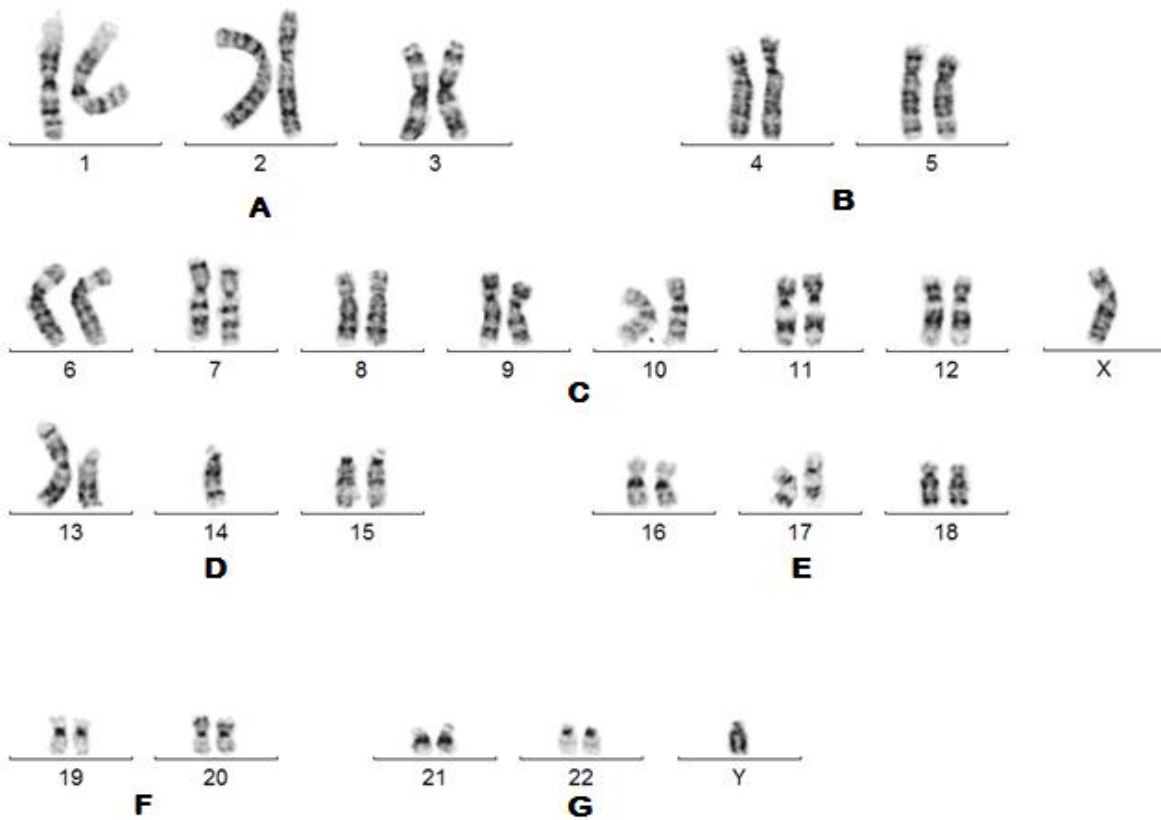


Figura 5. Ejemplo de cariotipo de un individuo masculino normal con tinción de bandas GTG (Análisis realizado por la Biol. Ariadna Berenice Morales Jiménez, Laboratorio de Citogenética, Departamento de Genética, HIMFG).

1.5 Ciclo celular y división celular

“Donde surge una célula, debe haber una célula previa, del mismo modo que animales sólo pueden surgir de animales y plantas de plantas”[*Rudolf Virchow, 1858*]¹⁷. Esta reflexión fue propuesta por el patólogo alemán Rudolf Virchow en 1858 y lleva con ella un mensaje profundo acerca de la continuidad de la vida. Las células en la naturaleza son generadas a partir de otras células y la única manera de obtener más células es mediante la división de aquellas que ya existen¹⁷, lo que ocurre durante el ciclo celular definido como la ocurrencia periódica de una serie de eventos que resultan en la duplicación de los cromosomas así como de su segregación.¹⁸

La proliferación y el progreso del ciclo celular están funcionalmente ligados a la expresión de genes implicados en el crecimiento. En términos generales (y en particular en referencia a la división mitótica) la célula se reproduce mediante una secuencia ordenada

de eventos en los cuales duplica su contenido y posteriormente se divide en dos células hijas.¹⁹

Las células eucariontes han desarrollado una red compleja de proteínas reguladoras conocida como el sistema de control del ciclo celular el que gobierna el progreso de la división celular a través de las distintas fases del ciclo celular. El punto clave de este sistema es una serie ordenada de interruptores bioquímicos que controlan los eventos principales del ciclo.

La función más básica del ciclo celular es la de duplicar adecuadamente la basta cantidad de DNA en los cromosomas y posteriormente distribuir las copias del material genético de manera precisa en dos células hijas genéticamente idénticas. Este proceso define las dos fases mayores del ciclo celular: la fase M (mitosis) y la interfase la cual se subdivide a su vez en 3 fases que son G1, S y G2 (del inglés *gap*, espacio o brecha y S de Synthesis). En una célula humana típica en proliferación, la interfase ocupa 23 horas de un ciclo de 24 horas, mientras que la fase M ocupa 1 hora (Figura 6).¹⁷

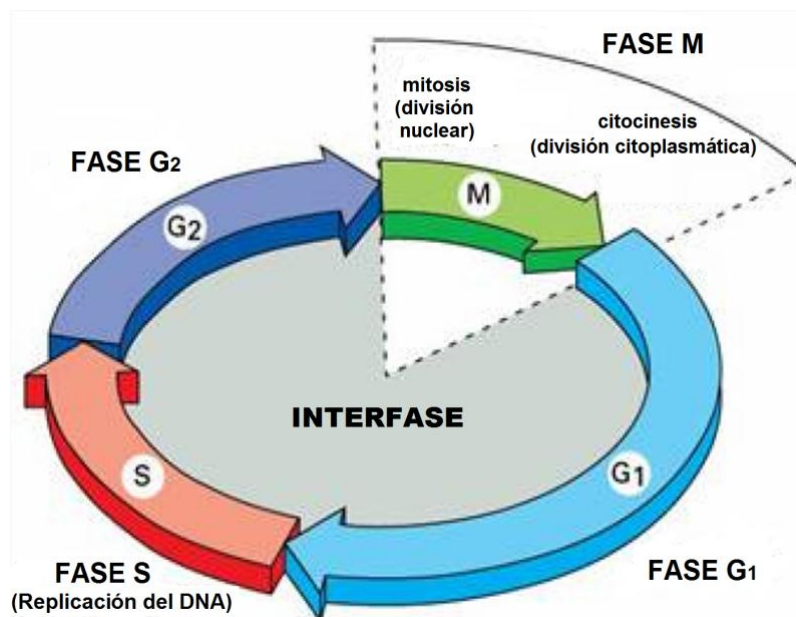


Figura 6. Las fases del ciclo celular. Imagen modificada de *Alberts et al.*¹⁷

Las fases G1 y G2 son fases de crecimiento que preparan a la célula para las subsecuentes fases del ciclo celular que son la fase de síntesis de DNA o fase S y la fase de división (fase M o mitosis). Es imperativo para la supervivencia de las dos células hijas que cada fase ocurra en la secuencia correcta y que además cada fase haya sido adecuada y correctamente completada antes de iniciar la siguiente.²⁰

La progresión y control del ciclo celular se encuentran regulados por proteínas llamadas ciclinas, mediante su unión y la activación de ciclinas dependientes de cinasas o Cdks. La fosforilación de blancos específicos de distintos complejos ciclina-Cdks, pone en marcha el inicio de diferentes procesos que conducen al ciclo celular en un tiempo determinado.²¹

La toma de decisión celular para dividirse ocurre en G1, posterior a esto y en ausencia de desarreglos, daño o estrés celular, el resto del ciclo es un proceso que ocurre de manera altamente coordinada y de forma automática.

Fisiológicamente una célula quiescente volverá a entrar al ciclo celular en presencia de condiciones adecuadas, siendo una de las más importantes la estimulación por factores de crecimiento. La fase G1 es regulada y orquestada de igual manera que el resto del ciclo celular por Cdks; las ciclinas reguladoras de G1 incluyen a las ciclinas D1, D2, D3 y E. Las principales Cdks de G1 son Cdk4 y Cdk6, las cuales se unen a ciclinas del tipo D y la Cdk2, la cual se asocia principalmente a las ciclinas E y A.

Una célula en reposo que es estimulada por un factor de crecimiento progresa a la fase S de manera sucesiva promovida por diversos complejos ciclina-Cdk; uno de los principales objetivos de dichos complejos es la fosforilación de las proteínas pRb, p107 y p130, liberando de esta manera a la célula del control negativo de estas proteínas en relación a los factores de transcripción de la familia E2F, siendo la principal actividad de estos factores la conducción de la expresión de numerosos efectores de síntesis de DNA.²¹

La estimulación por factores de crecimiento es censada y mediada por ciclinas del tipo D, particularmente por la ciclina D1. Los complejos formados por ciclina D-Cdk4/6 fosforilan a las proteínas de la familia pRb, comenzando con esto la liberación de factores de transcripción E2F. Al mismo tiempo, el aumento en el número de complejos ciclina D-Cdk4/6 sustraen moléculas inhibitorias de complejos ciclina E-Cdk2, contribuyendo de manera indirecta a su activación, estos complejos también son activados por la fosforilación inicial de las proteínas de los complejos ciclina D-Cdk4/6 que comienzan a liberar los factores E2F, creando una retroalimentación positiva.

Adicionalmente la ciclina E ejerce una función no-cinasa, mediante la activación de proteínas MCM (el cual es un complejo de helicasas) para su adecuada participación en la replicación del DNA. De manera conjunta la ciclina E y los factores E2F establecen las

condiciones necesarias para ingresar a la fase S, en este punto el progreso del ciclo celular se torna independiente de factores de crecimiento y procederá eventualmente a la división celular.^{17,22}

La actividad de las Cdks es regulada por dos clases de proteínas cinasas inhibidoras dependientes de ciclinas (CKIs): las familias INK4 y Cip/Kip. La familia INK4 comprende cuatro miembros llamados p15, p16, p18 y p19. Los inhibidores Cip/Kip incluyen a p21, p27 y p57. Los inhibidores INK4 se unen sólo a Cdk4 y Cdk6 previniendo su asociación con las ciclinas D. Las moléculas Cip/Kip son esencialmente capaces de unirse a toda clase de ciclinas y Cdks de manera independiente contribuyendo a la regulación de todas las fases del ciclo.²³

Existen mecanismos de supervivencia celular relacionados con puntos de control o “*checkpoints*” en inglés, los cuales tienen la función de detener el ciclo celular en puntos específicos de éste en caso de que ciertos requisitos cruciales para la progresión no se hayan cumplido. Los puntos de control son esenciales para mantener la integridad genómica y mantener balanceada la división y el crecimiento celular.²⁴ Estos *checkpoints* se encuentran en las transiciones de las fases G1 a S, G2 a M y durante la fase M antes de la anafase (Figura 7).

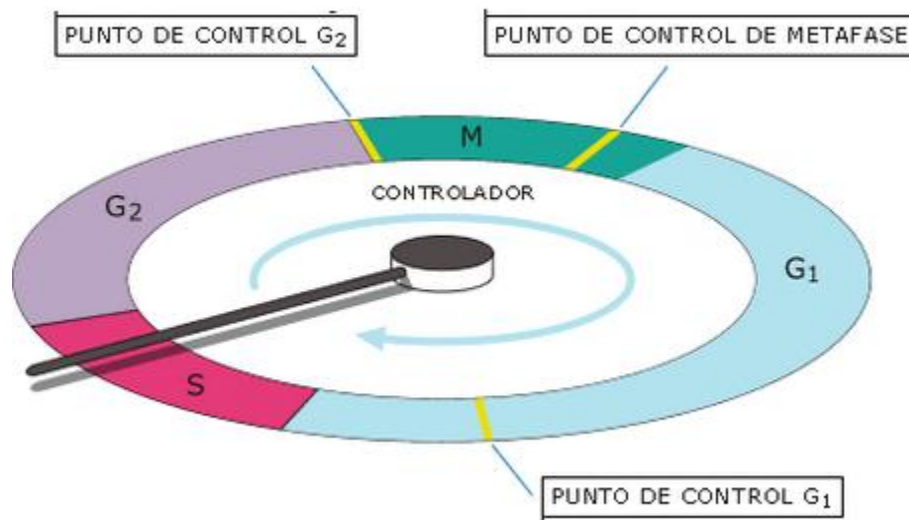


Figura 7. Puntos de control durante el ciclo celular. Imagen modificada de *Alberts et al.*¹⁷

Los puntos de control evalúan el daño que pueda tener el DNA, como pueden ser problemas en la replicación, entre otros, y en su caso proceden a realizar los cambios necesarios en la transcripción y replicación del mismo, pudiendo llegar a la interrupción del ciclo celular, facilitando con esto la reparación del material genético. Posterior a la reparación efectiva, la respuesta del punto de control es desactivada. Esto puede suceder por ejemplo en circunstancias en donde haya persistencia de daño celular; refiriéndose en este caso a un estado de adaptación celular.²⁵

El progreso del ciclo celular de la fase G1 a G2 puede retrasarse por activación del punto de control de G1, el cual revisa si el ambiente es favorable para iniciar la replicación del material genético, deteniendo el ciclo en casos de daño al DNA, otorgando a la célula tiempo para reparar el daño, posterior a lo cual el mecanismo de freno del punto de control es suspendido dando continuidad al ciclo celular.¹⁷

El punto de control de G2 es el que determina el avance a la fase M; antes de que comience la condensación del DNA y la división nuclear, el DNA debe haberse replicado y no tener daño, en caso de que no sea así, se activa este punto de control.⁶² El punto de control M o punto de control de anafase previene la segregación de los cromosomas en mitosis, permitiendo esta acción solo en caso de que todos los cromosomas estén correctamente unidos y alineados al huso polar. Existen además diversos puntos de control independientes durante la fase S, que se aseguran de que el DNA sea replicado sin errores y la cromatina compactada de manera adecuada.¹

La división celular en humanos ocurre de dos modos diferentes: mitosis y meiosis. La mitosis ocurre durante la división de las células somáticas dando lugar a dos células hijas idénticas. La meiosis es un proceso especializado de las líneas germinales, que involucra una ronda de replicación del DNA seguida de dos divisiones celulares para producir cuatro células sexuales o gametos haploides.²⁶

1.3.1 Mitosis

Durante el desarrollo de una persona desde un embrión, durante la etapa fetal e infancia hacia la adultez, divisiones celulares son necesarias para generar el gran número de células que es requerido. Adicionalmente, muchas células tienen un período de vida limitado, por lo que hay un requerimiento continuo de generar nuevas células en el adulto. Todas estas divisiones celulares ocurren mediante mitosis, desde la implantación del cigoto hasta la muerte de la persona ocurren alrededor de 10^{17} divisiones mitóticas.

La fase M del ciclo celular consiste de varios estadios de división nuclear (profase, prometafase, metafase, anafase y telofase de la mitosis) y de la división celular o del citoplasma (citocinesis).¹ Los cromosomas se tornan visibles en la profase temprana y continúan condensándose durante la profase tardía, donde la membrana nuclear se rompe. Los cromosomas replicados se alinean en el plano ecuatorial durante metafase, la disyunción de cromátidas hermanas ocurre en anafase durante la cual los centrómeros se dividen separando físicamente a las cromátidas hermanas, y el desplazamiento por medio de las fibras del huso polar asegura que éstas se dirijan a polos opuestos. La división celular es completada durante telofase, resultando en dos células hijas idénticas que regresan a interfase (Figura 8).^{1,26}

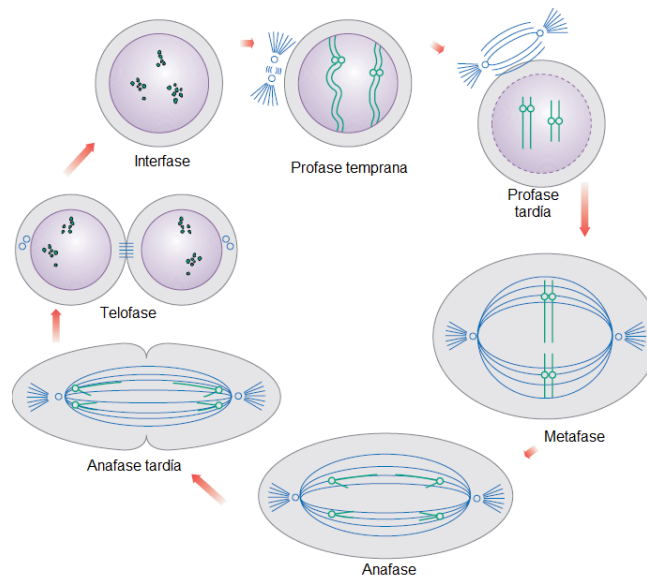


Figura 8. Estadios de la mitosis durante el ciclo celular. Modificado de Moore,2007.²⁶

1.3.2 Meiosis

Solamente las células de la línea germinal pasan por meiosis y forman gametos haploides en los órganos sexuales.²⁷ La meiosis se divide en meiosis I y meiosis II, ocurriendo en meiosis I la división reduccional del material genético mediante una serie de fases similares a las descritas en mitosis (profase I, metafase I, anafase I y telofase I); durante la meiosis II ocurre la división equitativa y cuenta también con varias fases (profase II, metafase II, anafase II y telofase II).¹⁷

El periodo de profase I es complejo y se subdivide en 5 estadios: leptoteo, cigoteno, paquiteno, diploteno y diacinesis. En la meiosis femenina, existe un estadio adicional seguido del diploteno, llamado dictioteno, en el cual permanece el ovocito desde etapas fetales tempranas de gestación, hasta la ovulación en la cual sucede la diacinesis.²⁷

Durante la meiosis posterior a la replicación del DNA, las células entran en profase I, los cromosomas homólogos comienzan a alinearse en cigoteno, formando puntos de recombinación. La condensación de los cromosomas continúa en paquiteno y es en esta fase donde culmina el proceso de recombinación meiótica. Durante diploteno ocurre una mayor condensación que permite la separación de las cromátides de manera individual, y aparecen los quiasmas, en la diacinesis ocurre el desplazamiento de los quiasmas hacia los extremos cromosómicos.¹

Durante la metafase I pares de los cromosomas homólogos, cada uno con dos cromátides se alinean en el plano ecuatorial y hay disyunción de homólogos hacia polos opuestos durante anafase I. La fase de telofase I es generalmente muy corta y puntualiza la culminación de la división celular. En la meiosis II hay 23 cromosomas, cada uno compuesto de dos cromátides que pasan por disyunción en anafase II para formar gametos haploides (Figura 9).²⁶

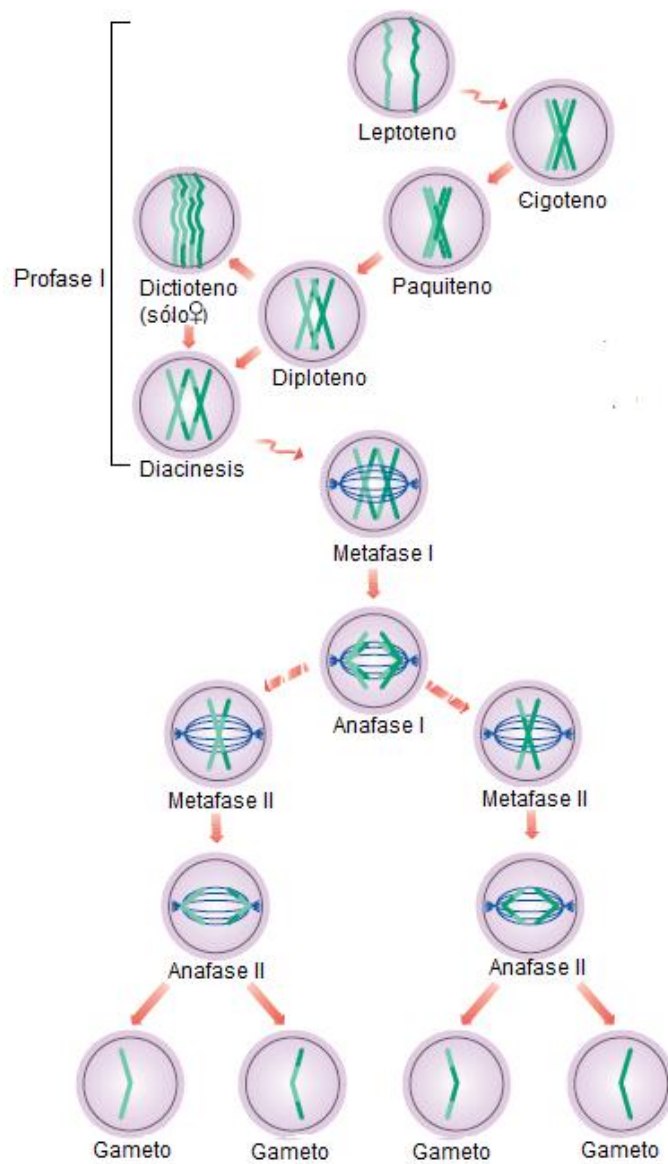


Figura 9. Estadios de la meiosis durante la gametogénesis. Modificado de Moore, 2007.²⁶

1.4 Técnicas de citogenética

Los cromosomas son observados de manera individual sólo durante mitosis, y por lo tanto se han desarrollado técnicas para estimular un gran número de células para que inicien división celular mediante el uso de mitógenos tales como fitohemaglutinina y el uso de inhibidores del huso polar tales como colchicina. Numerosos métodos para la identificación de cromosomas se encuentran disponibles.²⁸

1.4.1 Cariotipo

El cariotipo se define como la adecuada organización y ordenamiento del contenido cromosómico de cualquier tipo celular, numerándose consecutivamente dependiendo de su tamaño. También se le llama cariotipo a la nomenclatura utilizada de acuerdo al ISCN (del inglés *An International System for Human Cytogenetic Nomenclature*) para describir el resultado del análisis del complemento cromosómico de un individuo, tejido o célula, ya sea normal o anormal, constitucional o adquirido.²⁹

Las técnicas de citogenética convencionales, son utilizadas de manera rutinaria para la determinación de anomalías cromosómica mediante su visualización directa bajo el microscopio; para lo cual se han desarrollado diversos métodos de tinción cromosómica, de los cuales algunos producen patrones transversos de bandas teñidas diferencialmente, las cuales son tan constantes que se consideran específicas, permitiendo el diagnóstico de ciertas alteraciones cromosómicas al identificarse cambios en dicho patrón de bandas.²⁹

Entre los principales métodos de tinción se encuentran los siguientes:

*Bandas G: Los cromosomas teñidos por este procedimiento presentan bandas claras y oscuras. El número de bandas depende del grado de condensación de los cromosomas. En la citogenética clínica es la técnica más utilizada, ya que proporciona una secuencia nítida de bandas, tiene la ventaja de ser permanente y el análisis puede realizarse al microscopio de luz. Permiten corroborar alteraciones cromosómicas previstas por el cuadro clínico, identificar cromosomas o regiones cromosómicas implicadas en rearrreglos, detectar aberraciones estructurales que podrían pasar desapercibidas con técnicas de tinción homogénea, entre otras herramientas diagnósticas. Las regiones claras se asocian a una composición rica en genes y secuencias de tipo CpG mientras que las oscuras se asocian a mayor concentración de pares AT y menor densidad génica.

*Bandas Q: Fue la primera técnica en utilizarse para diferenciar a los cromosomas, presentan bandas oscuras y brillantes, se utiliza el colorante fluorescente mostaza de

quinacrina y se observa bajo el microscopio de fluorescencia. Estas bandas fluorescentes son regiones ricas en adenina-timina (AT). Las bandas no solo son útiles en la identificación cromosómica de rutina, sino que, debido a que la intensidad de las bandas se relacionan con su contenido de bases, existen diferentes magnitudes de brillo entre ellas; por esta razón es excelente para investigar la presencia de polimorfismos en regiones ricas en heterocromatina.

*Bandas C: Se utiliza el colorante Giemsa, el cual produce una tinción oscura selectiva sobre la heterocromatina constitutiva (de aquí el nombre de bandas C). Este tipo de bandas se localiza principalmente en las regiones centroméricas de todos los cromosomas humanos, en la parte distal de los brazos largos del cromosoma Y y en la región pericentromérica de los cromosomas 1, 9 y 16. El bandeo C implica un tratamiento secuencial ácido-álcali, su incubación en solución salina con citratos a altas temperaturas y tinción con Giemsa. Pueden variar significativamente entre individuos y aun entre cromosomas homólogos. Estas variaciones se conocen como polimorfismos o heteromorfismos de bandas C, los cuales pueden servir como marcadores genéticos poblacionales, para realizar pruebas de paternidad (en conjunto con otras metodologías citogenéticas y moleculares), para visualizar rupturas cercanas a la región centromérica o identificar translocaciones contiguas a esta región así como para determinar el origen de las trisomías de cromosomas polimórficos.

*Bandas NOR: Las regiones cromosómicas que forman y mantienen el nucléolo en núcleos en interfase se llaman organizadores nucleolares (NOR), y consisten en cientos de copias de genes del RNA ribosomal 18 y 28S. Estas regiones se localizan en los tallos o constricciones secundarias de los brazos cortos de los cromosomas acrocéntricos en el ser humano. Se utiliza nitrato de plata para teñirlos y son útiles para determinar con precisión puntos de ruptura en rearrreglos que implican cromosomas acrocéntricos. La identificación del origen de pequeños cromosomas marcadores se facilitó, en gran medida, con la aparición de esta técnica.¹⁶

1.4.2 FISH (*fluorescence in situ hybridization*)

Se utilizan sondas de DNA marcadas para secuencias específicas en el genoma humano que pueden ser hibridadas en cromosomas humanos, para localizar y numerar la secuencia de DNA de interés. El marcador utilizado es fluorescente y el FISH es el procedimiento estándar utilizado. Los fluorocromos con colores diferentes en el espectro visible e infrarrojo permiten la detección simultánea de múltiples sondas, cada una con un color único. Dos filtros son necesarios para que cada fluoróforo sea visualizado: un filtro de excitación que dirige los rayos UV hacia el espécimen en un rango de longitud de onda que ocasiona fluorescencia y un filtro barrera que dirige hacia afuera la luz ajena emitida por el espécimen para permitir que sólo el color de interés sea visualizado.

Las técnicas de citogenética molecular como lo es el FISH pueden detectar microdeleciones y duplicaciones que no son visibles con técnicas convencionales de citogenética. Estas técnicas han tenido un efecto dramático en la detección clínica de muchos síndromes diferentes.³⁰ Para el FISH existen sondas de diferentes tipos, entre ellas:

***Sondas centrómero específicas.** Gran parte de las secuencias centroméricas son DNA α -satélite, que son fragmentos que se encuentran en el cromosoma como repetidos en tándem y miden cerca de 171pb, también pueden ser familias de DNA satélite III compuestas de monómeros de 5pb. Estas sondas son muy específicas para cada cromosoma, puesto que existen diferencias en el monómero que se repite entre los diferentes cromosomas, aunque algunos como los centrómeros de los cromosomas 13 y 21, o 14 y 22, comparten secuencias que tornan difícil su especificidad (Figura 10).²⁸

***Sondas que reconocen un cromosoma completo.** Estas sondas son en realidad una mezcla de sondas que reconoce muchos elementos a lo largo de un cromosoma determinado. Al marcaje resultante de los insertos de cromosomas completos, los cuales se marcan para convertirlos en sondas, se le denomina pintado cromosómico.³⁰

***Sondas de secuencia única o *locus*-específicas.** Este tipo de sondas hibrida secuencias de ácidos nucleicos específicas. Resultando particularmente útiles en la identificación de síndromes por microdelección, pueden utilizarse también en el mapeo cromosómico de genes.³¹

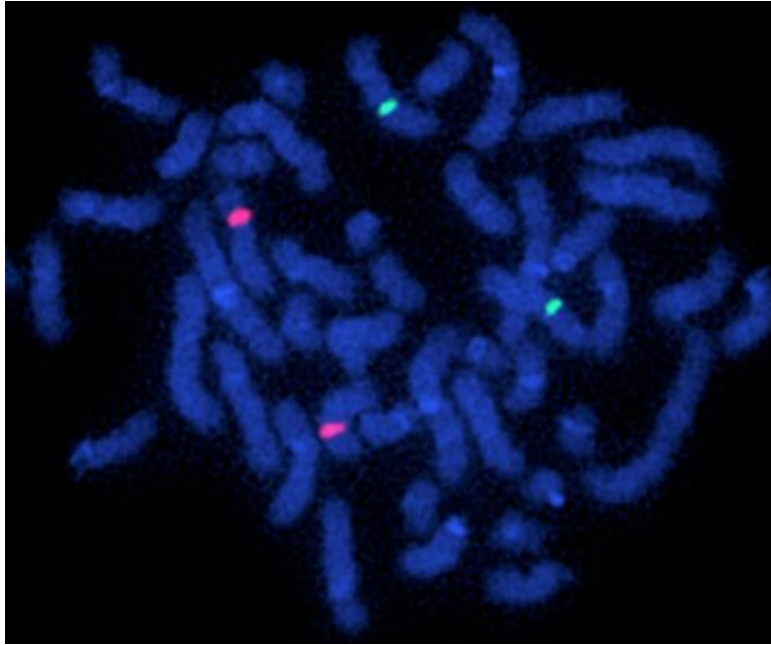


Figura 10. Metafase humana se ejemplifica un estudio de FISH con la hibridación de la región centromérica de los cromosomas 7 (señal verde) y 8 (señal roja), utilizando sondas α -satélite. Imagen tomada de Moore 2001.²⁸

En cuanto a las aplicaciones del FISH, los cromosomas metafásicos pueden identificarse con sondas específicas para cromosomas completos o para centrómeros específicos, con lo cual el análisis cromosómico puede practicarse con rapidez. La principal aplicación del FISH en cromosomas metafásicos, es la caracterización de las aberraciones cromosómicas, que facilita la identificación precisa de las regiones de uno, dos o más cromosomas implicados en el rearrreglo. Cuando se tienen cromosomas marcadores de origen desconocido el FISH puede ayudar a su identificación, mediante el uso de sondas específicas, si puede identificarse por ejemplo el centrómero.

Un impedimento importante para la citogenética convencional en cualquier tipo de células es la necesidad de que la célula se encuentre en división celular para obtener cromosomas metafásicos. El FISH permite el análisis en interfase, permitiendo a su vez la observación de cientos de células en un período de tiempo razonablemente corto.³⁰

1.4.3 CGH (Hibridación genómica comparativa)

El uso de un genoma completo como sonda, origina la hibridación genómica comparativa (CGH), que consiste en la hibridación simultánea del genoma de dos líneas celulares marcado con dos fluorocromos diferentes, uno para las células y otro para las células en estudio. Las alteraciones se detectarán como alteraciones en el color a lo largo del cromosoma de tal modo que las regiones superrepresentadas; las hipodiploides (deleciones) las sobrerrepresentadas o con ganancia y las regiones con número normal de copia, aparecerán con diferentes colores por la combinación no equitativa de sondas de dos colores. Este método elimina los cultivos celulares y permite la búsqueda de líneas hipodiploide e hiperdiploide en una sola hibridación a nivel de resolución cromosómica; sin embargo, los mosaicos no son detectables con un alto grado de confianza, además de que no se aprecian rearrreglos estructurales balanceados (Figura 11).¹⁶

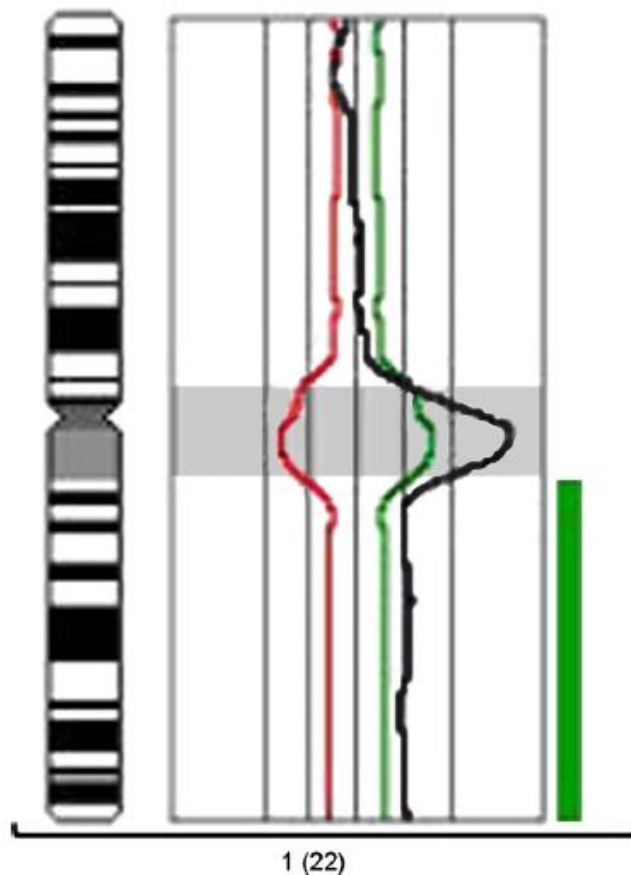


Figura 11. Ideograma de CGH representativo del cromosoma 1. El ideograma indica un exceso de todo el material cromosómico, evidenciado como una barra verde sobre todo el brazo largo, indicando ganancia de material en esta región (n 1/4 de 22 cromosomas analizados).²⁹

1.4.4 aCGH (Hibridación genómica comparativa por microarreglo)

La hibridación genómica comparativa por microarreglo permite medir cuantitativamente el número de copias presentes relacionadas con el DNA, también permite mapearlas directamente en la secuencia del genoma humano; lo anterior debido a que los arreglos están compuestos de largas inserciones en clonas genómicas como los cromosomas bacterianos artificiales (BACs) lo cual a su vez provee de mediciones confiables del número de copias en clonas individuales.³²

La aplicación de la hibridación genómica comparativa por microarreglo ha transformado el campo de la citogenética clínica; su metodología se basa en la comparación de dos genomas marcados diferencialmente, al cohibridarse el genoma del paciente (muestra problema) y un genoma de referencia (muestra control) sobre un soporte sólido que usualmente es una lamina de vidrio para microscopio, en la cual fragmentos de DNA clonado o sintetizado han sido inmovilizados.³³

Los microarreglos pueden construirse con una variedad de sustratos de DNA, los cuales pueden incluir oligonucleótidos, cDNAs, o como ya se mencionó, BACs. La resolución del microarreglo está limitada por el tamaño del DNA blanco clonado y la distancia natural entre estas secuencias localizadas en el cromosoma. La principal ventaja de la Hibridación genómica comparativa por microarreglo sobre la técnica de FISH, es su habilidad para detectar simultáneamente cambios en las copias de DNA en múltiples loci en un genoma. Estos cambios pueden incluir deleciones, duplicaciones, o amplificaciones en cualquier locus determinado siempre y cuando esa región esté representada en el microarreglo.

Existen varios métodos de abordaje para el diseño y desarrollo de aplicaciones de aCGH; algunos microarreglos han sido diseñados para analizar el genoma humano completo,³⁴ este tipo de arreglos son de alto valor en tamizaje del genoma, para valorar pérdidas y ganancias sin una resolución precedente. Otros tipos de microarreglos tienen cobertura contigua, dentro de los límites del genoma y algunos son diseñados para regiones específicas del genoma con el propósito de evaluar una región blanco.^{35, 36}

Uno de los métodos para la preparación de microarreglos de DNA incluye el uso de fotolitografía para la síntesis in situ de microarreglos de DNA de alta densidad, lo cual provee un abordaje paralelo masivo para el análisis de hibridación del DNA con contenido de cientos a miles de secuencias de sondas de oligonucleótidos en láminas de vidrio también conocidas como "chips", de un tamaño menor a 2cm².³⁶ Esta metodología puede emplearse en muestras de sangre, médula ósea, saliva, tejidos frescos y congelados y células directas o cultivadas.³⁷

Una variedad de sistemas de dispositivos de arreglos o chips de DNA han sido desarrollados y comercializados. Las aplicaciones de estos microarreglos están generalmente dirigidas al análisis de expresión génica o tamizaje de muestras para búsqueda de polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs).³⁶

1.5 Alteraciones cromosómicas

Con el descubrimiento del correcto número de cromosomas en los seres humanos en 1956 la citogenética clínica comenzó a crecer rápidamente. Durante los siguientes años, varios síndromes cromosómicos caracterizados por un número de cromosomas alterados fueron reportados, como por ejemplo los Síndromes de Down, Turner, Klinefelter, etc. Desde entonces se ha establecido que las alteraciones cromosómicas contribuyen de manera significativa a enfermedades genéticas que pueden resultar en infertilidad, anomalías congénitas, desarrollo sexual anormal, retraso mental y patogénesis del cáncer, entre otros. Anormalidades cromosómicas específicas han sido asociadas con más de 60 síndromes identificables. Se encuentran presentes en más de 50% de los abortos espontáneos, 6% de óbitos, 5% de las parejas con dos pérdidas gestacionales o más y aproximadamente en 0.5% de los recién nacidos vivos.³⁸

El cariotipo es la principal herramienta diagnóstica para detectar, diagnosticar o identificar estas alteraciones, las indicaciones por grupo de edad para la realización de este estudio se enlistan en la Tabla 1.³⁹

Tabla 1. INDICACIONES PARA CARIOTIPO³⁹

Período prenatal	Período neonatal	Período de lactancia	Período preescolar y escolar	Adolescencia	Adultos	En todas las edades
Edad materna >35 años	Malformaciones aisladas	Dificultad para el aprendizaje de causa desconocida	Trastornos del crecimiento	Ginecomastia	Padres de hijos con rearrreglos cromosómicos	Procesos malignos
Ansiedad materna	3 o más malformaciones menores	Retraso en el desarrollo psicomotor	Retraso en el desarrollo psicomotor	Falta de desarrollo puberal	Abortos de repetición	Control de trasplantes de médula ósea
Triple marcador alterado	Sospecha de cromosomopatía	Sospecha de cromosomopatía	Sospecha de cromosomopatía	Amenorrea	Infertilidad	
RCIU	Genitales ambiguos			Retraso mental		
Arteria umbilical única	Óbito de causa desconocida			Sospecha de cromosomopatía		
Sospecha por US de cromosomopatía	Muerte neonatal de causa desconocida					
Alteración cromosómica balanceada en un progenitor						

RCIU. Restricción del crecimiento intrauterino. US. Ultrasonido.

Las alteraciones cromosómicas pueden clasificarse en dos numéricas y estructurales. Las primeras comprenden a las aneuploidías y euploidías y las segundas a las translocaciones, inversiones, deleciones, duplicaciones, anillos, isocromosomas y cromosomas dicéntricos.

Si bien las aneuploidías de los autosomas se manifiestan siempre como una enfermedad, los rearrreglos estructurales pueden ocurrir de manera balanceada (casi siempre sin repercusión fenotípica) o desbalanceada (por lo general con manifestaciones patológicas). Aunque cada enfermedad debida a cierta anomalía autosómica se caracteriza por un cuadro clínico particular y distintivo, la mayoría tienen en común la presencia de malformaciones y deficiencia mental.¹⁶

1.5.1 Alteraciones numéricas

El complemento cromosómico humano normal de 46 cromosomas se define como diploide, el cual consta de dos pares de 23 cromosomas (complemento haploide), a la alteración numérica a manera de múltiplo del número haploide se le llama aneuploidía, y a la alteración numérica de un sólo cromosoma se le conoce como aneusomía; ya sea por la presencia de una copia extra de un cromosoma específico (trisomía) o por la ausencia de un solo cromosoma (monosomía).³⁸

La no disyunción cromosómica se refiere a la segregación no balanceada de los cromosomas, conllevando a aneuploidía, y puede ocurrir de manera constitutiva en meiosis I (cuando los cromosomas homólogos segregan hacia polos opuestos), o durante meiosis II (cuando las dos cromátidas hermanas se separan a nivel del centrómero y segregan hacia polos opuestos) (Figura 12).²⁶

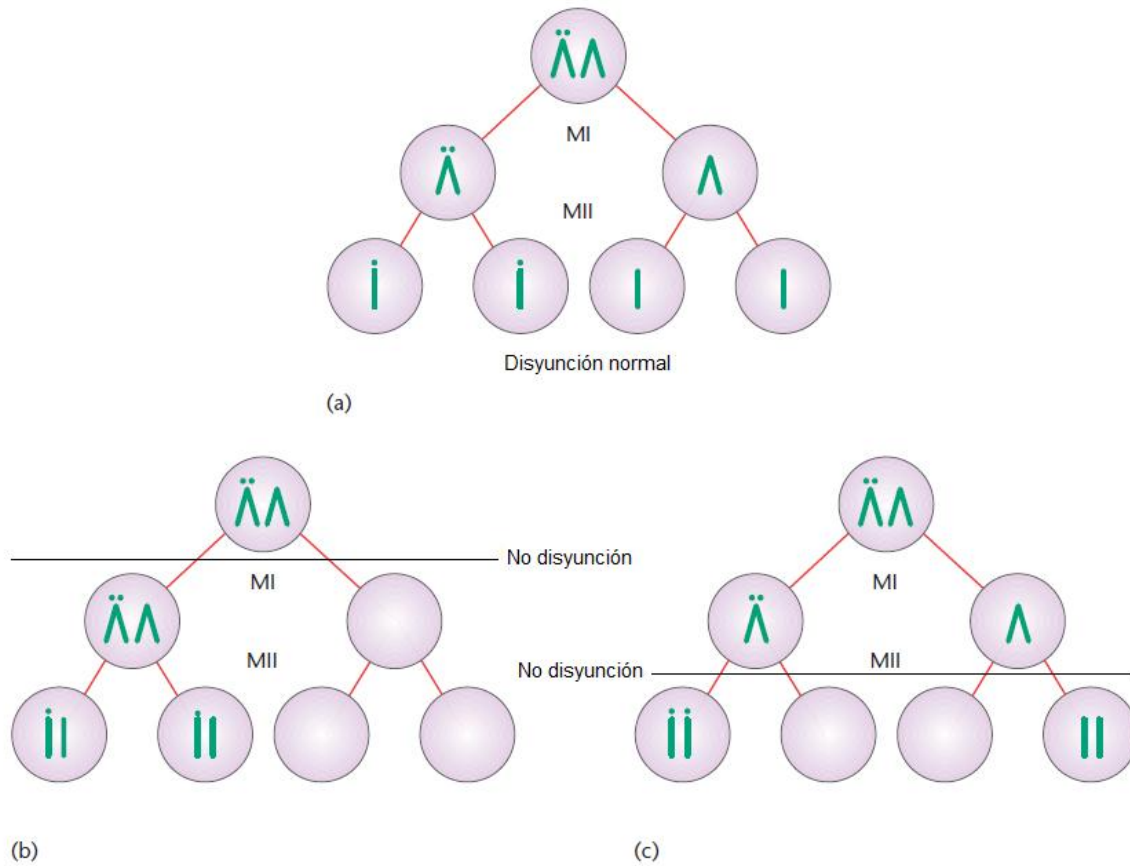


Figura 12. Esquema representativo de no disyunción meiótica que resulta en trisomía (47 cromosomas) o monosomía (45 cromosomas) posterior a la fertilización del gameto aneuploide con un gameto normal. (a) Segregación normal (disyunción) de un par de cromosomas acrocéntricos. Un cromosoma tiene satélites en su brazo corto para distinguir a los dos miembros del par. (b) No disyunción a meiosis I (MI). Nótese que los polimorfismos de los satélites son heterocigotos en los gametos. (c) No disyunción en meiosis II (MII). Nótese que los cromosomas en los gametos son homocigotos ya que tienen el mismo polimorfismo. Modificado de Moore, 2007.⁴⁰

La no disyunción en organismos experimentales se ha observado como resultado de varias causas, incluyendo el alineamiento inadecuado de los cromosomas en el huso mitótico, falla de proteínas del huso que intervienen en el desplazamiento de los cromosomas homólogos hacia polos opuestos, resolución prematura de los quiasmas, o separación prematura de las cromátidas hermanas. La vasta mayoría de aneuploidías en humanos son de origen materno, y su incidencia aumenta con la edad materna.⁴¹

Aun cuando la implantación puede ser exitosa, la mayoría de las concepciones con aneuploidías terminan en un aborto espontáneo, siendo la causa de aproximadamente el 35% de las pérdidas gestacionales, ocurriendo la gran mayoría en el 1er trimestre. Las anomalías más comúnmente encontradas en abortos espontáneos son trisomía 16,

triploidía (69 cromosomas en total, consistente de tres juegos haploides completos) y monosomía X.

Sólo algunos productos con unas cuantas anormalidades pueden sobrevivir a término en un estado aparentemente de no mosaicismo. Esto incluye trisomía 21, trisomía 13, trisomía 18, y aneuploidías de cromosomas sexuales, con una incidencia combinada de 1 en cada 300 recién nacidos vivos. Muchas anomalías pueden llegar a término en estado de mosaico, sin embargo es difícil calcular su incidencia ya que pueden estar subdiagnosticadas.⁴¹

1.5.2 Alteraciones estructurales

Las anomalías estructurales con repercusión en el fenotipo tienen una incidencia aproximada de 1 en 1,100 recién nacidos vivos y resultan de rupturas cromosómicas o entrecruzamiento desigual, éstas pueden ocasionar enfermedad debido a trisomía y/o monosomía de segmentos cromosómicos y pueden ser eventos *de novo* o ser heredadas de padres portadores de un rearrreglo generalmente balanceado.³⁸

Las aberraciones estructurales tienen una contribución importante a las enfermedades genéticas, ya que son formados por rupturas cromosómicas y reunión, lo que afecta el contenido y forma de uno o más cromosomas y altera la distribución de genes en el genoma; también tienen el potencial de alterar el ciclo celular y poder inducir cáncer.⁴²

Los rearrreglos cromosómicos son considerados balanceados si la disomía es mantenida para todos los autosomas y un complemento sexual normal está presente, aun cuando la posición de segmentos homólogos en los cromosomas haya cambiando. En contraste, cuando se pierde o gana material genético en el proceso, el rearrreglo se dice que no es balanceado. Rearreglos no balanceados constitutivos, están generalmente asociados con retraso en el desarrollo y/o compromiso intelectual, defectos congénitos y falla en el crecimiento, mientras que los rearrreglos balanceados generalmente no tienen efecto en el desarrollo intelectual o físico, a menos que interrumpen la secuencia de un gen particular o alteren sus elementos reguladores. Las anomalías estructurales que aparecen después del nacimiento, son referidas como adquiridas y pueden ocasionar tumores o leucemia, mediante la alteración de la regulación del ciclo celular.⁴³

Los principales tipos de alteraciones estructurales son las siguientes (Figura 13):

*Deleciones: Anormalidades en las que una porción de cromatina de un solo cromosoma es perdida, resultan en monosomías parciales y son por ende rearrreglos no balanceados.

*Deleciones terminales: Requieren una sola ruptura, y la adición del telómero al extremo roto.

*Deleciones intersticiales: Requieren dos puntos de ruptura con pérdida del material intersticial. Ocasionan monosomías parciales.

*Cromosomas en anillo: Resultan de dos deleciones terminales, con fusión de los extremos y pérdida de los dos segmentos terminales. Representan una forma de deleción terminal, con la característica adicional de ser mitóticamente inestables debido a problemas mecánicos durante la replicación.

*Duplicaciones: Las duplicaciones son rearrreglos no balanceados que resultan en trisomía parcial. Su principal mecanismo de formación es por recombinación homóloga no alélica (Figura 14), especialmente en regiones del genoma donde secuencias de DNA repetidas están presentes, en estos casos en ocasiones se puede generar una cromátida duplicada y otra con una deleción. La duplicación puede estar orientada de dos maneras, directa o invertida. Las duplicaciones directas mantienen el mismo orden de bandas y *loci* en relación al centrómero, mientras que duplicaciones invertidas exhiben una reversión completa de *loci* y bandas contenidas en la duplicación.⁴²

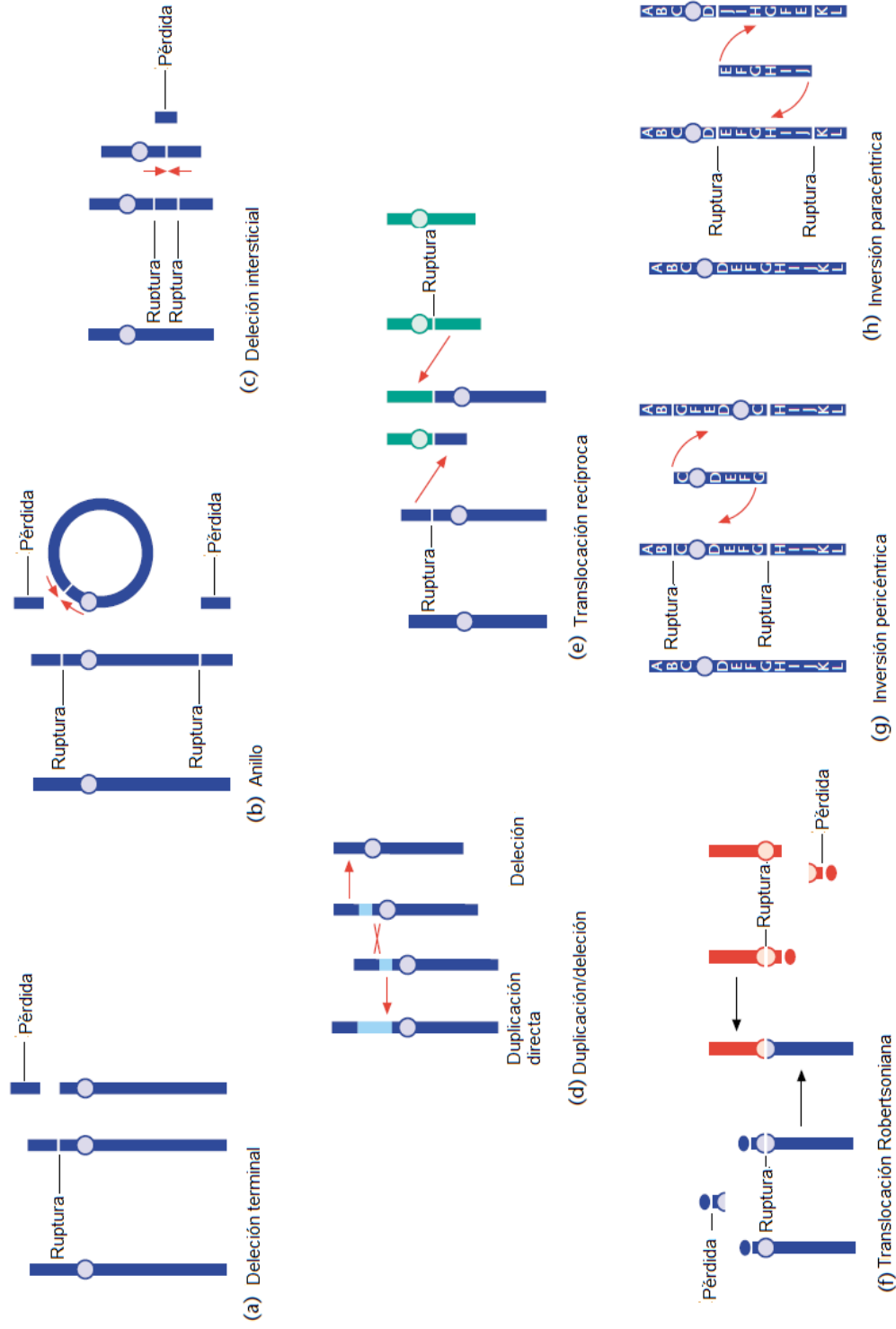


Figura 13. Formación de rearrregos estructurales. Modificado de Moore, 2001.⁹

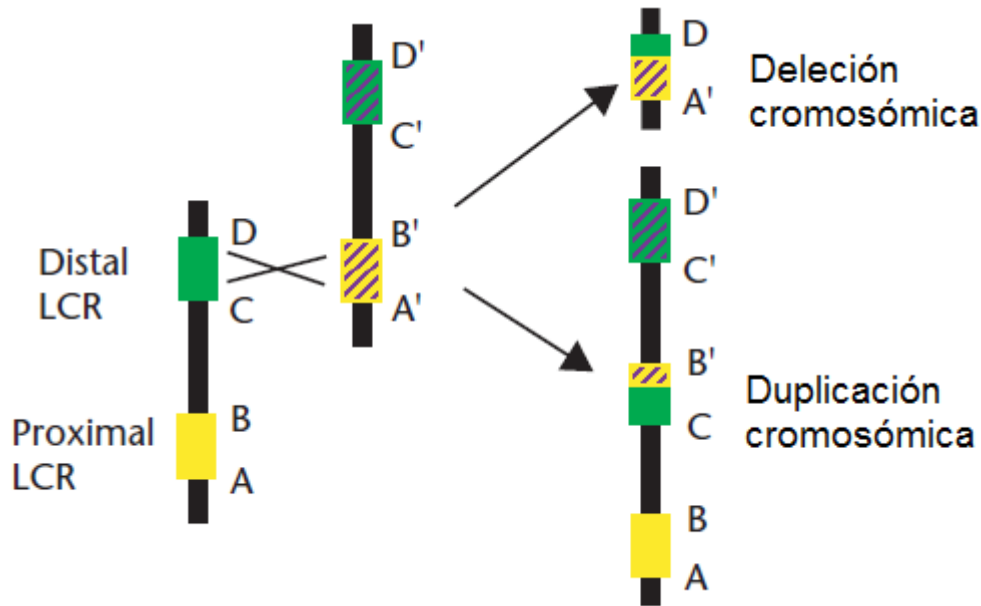


Figura 14. Recombinación homóloga no alélica por medio de secuencias de DNA repetidas en bajo número de copias (LCR por sus siglas en inglés *Low copy repeat*) que resulta en deleciones intersticiales y/o duplicaciones cromosómicas. Modificado de Shaffer,2006.⁴³

*Translocaciones: Las translocaciones involucran rupturas en dos cromosomas diferentes, con un intercambio de segmentos. En los humanos hay dos tipos principales de translocaciones: 1) Translocaciones recíprocas balanceadas en las cuales no hay pérdida visible de la cromatina y, se caracterizan por un intercambio de cromatina entre cromosomas diferentes. 2) Translocaciones robertsonianas en las cuales los brazos largos de dos cromosomas acrocéntricos se unen con pérdida de los brazos cortos.

En las translocaciones generalmente ocurre sólo una ruptura en cada cromosoma y los segmentos no céntricos son intercambiados sin la pérdida visible de cromatina. Los nuevos cromosomas derivados pueden tener morfología muy diferente dependiendo de los puntos de ruptura. El portador de una translocación recíproca generalmente no tiene efectos en el fenotipo debido al rearreglo, excepto por posibles anomalías reproductivas incluyendo infertilidad, abortos espontáneos y descendencia con enfermedad genética. Translocaciones que interrumpen genes pueden resultar en enfermedades monogénicas o la reposición de proto-oncogenes puede resultar en desregulación del ciclo celular y cáncer.

El entrecruzamiento de cromosomas homólogos durante meiosis está alterado en portadores de translocaciones. En lugar de la formación normal de bivalentes, los dos cromosomas derivados y sus dos homólogos normales se entrecruzan para formar un cuadrivalente en forma de cruz durante paquiteno con cada segmento homólogo alineado con su contraparte (Figura 15). Existen tres patrones de segregación básicos abreviados

como 2:2, 3:1 y 4:0, existiendo para cada uno respectivamente 3, 4 y 1 posibilidad. En la mayoría de los casos dos cromosomas se dirigen a una célula hija y dos cromosomas a la otra, en raras ocasiones tres cromosomas segregan juntos, dejando uno separado o incluso los cuatro cromosomas pueden dirigirse hacia un polo y ninguno al otro. Existen tres formas de segregación 2:2, que son las siguientes:

Segregación alterna: Ambos cromosomas normales se dirigen a un polo y ambos cromosomas translocados se dirigen al otro polo, en un diagrama de un cuadrivalente, los cromosomas encontrados en la diagonal se mueven a los mismos polos. Todos los gametos formados por esta segregación están balanceados.

Segregación adyacente I: Los centrómeros adyacentes no homólogos son desplazados hacia el mismo polo, esto resulta en un complemento cromosómico no balanceado, que resultará en un cigoto con trisomía parcial para uno de los cromosomas y monosomía parcial para el otro una vez fertilizado por un gameto normal haploide. Este patrón de segregación frecuentemente es compatible con viabilidad embrionaria.

Segregación adyacente II: Centrómeros adyacentes homólogos se desplazan hacia el mismo polo, esto resulta en grandes montos de cromatina no balanceada, que es usualmente incompatible con supervivencia embrionaria.

La segregación 3:1, hace referencia al desplazamiento de 3 cromosomas de 4 hacia un mismo polo y sólo uno al polo opuesto, este tipo de segregación a menudo ocurre cuando uno de los cromosomas derivados es relativamente pequeño o corresponde a un cromosoma sexual. Posterior a la fertilización por un gameto haploide, la concepción tendrá 47 cromosomas, a menos que el derivativo sea muy pequeño, la concepción no será viable. Otros productos de segregación resultan de recombinación en el segmento central y hay cuatro posibilidades (Figura 15).

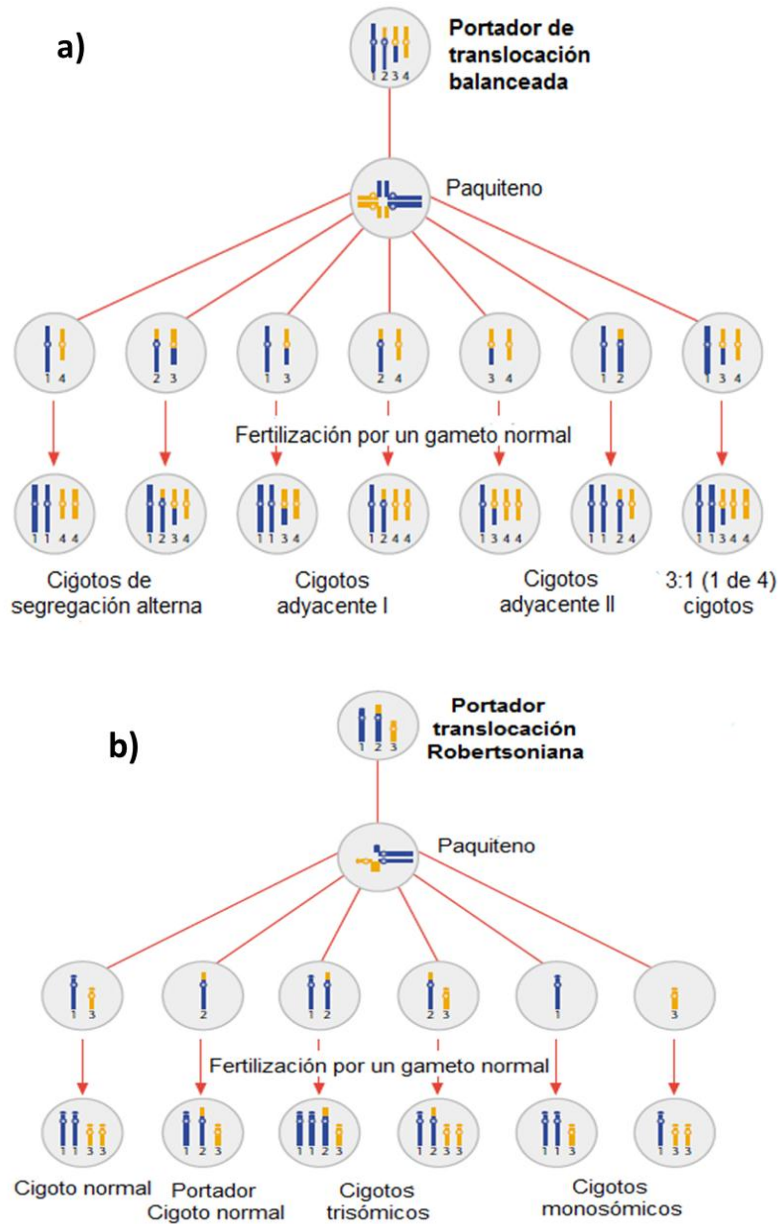


Figura 15. Patrones de segregación para translocaciones recíprocas y robertsonianas. (a) Translocación recíproca: Un cuadrivalente de paquiteno es mostrado con los resultados de segregación alterna, adyacente I, adyacente II y una de las opciones de segregación 3:1 y su fertilización por un gameto normal. Nótese que sólo una de las cuatro posibles combinaciones es representada por la segregación 3:1. (b) Translocación Robertsoniana: Un trivalente de paquiteno es mostrado con los resultados de los 3 patrones de segregación posibles y su fertilización por un gameto normal. Modificado de Moore, 2001.⁴²

*Translocaciones robertsonianas: Las translocaciones robertsonianas resultan de “fusión céntrica” de los brazos largos de dos cromosomas acrocéntricos, con pérdida de los brazos cortos, reduciendo el número de cromosomas en 1 (Figura 15).

*Inversiones: son formadas por dos rupturas en el mismo cromosoma, con intercambio de los dos extremos. Son formadas de la misma manera que las translocaciones, excepto por el hecho que las rupturas y el intercambio ocurre en el mismo cromosoma. Existen dos tipos: 1) Un cromosoma pericéntrico en el cual una ruptura ocurre en cada uno de los brazos del cromosoma y el centrómero se incluye en la región invertida. 2) un cromosoma paracéntrico es formado cuando las dos rupturas ocurren en el mismo brazo y el centrómero no está incluido en el segmento invertido, generándose aneusomía de recombinación (Figura 16).

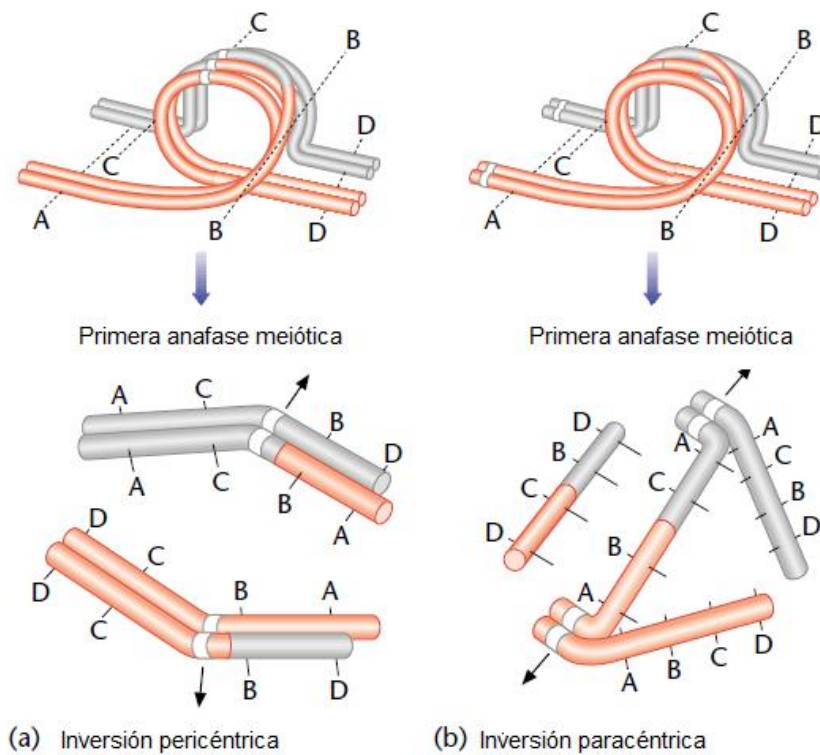


Figura 16. Entrecruzamiento en una horquilla invertida formada por (a) Inversión heterocigota pericéntrica e (b) Inversión heterocigota paracéntrica, resultando en cromátidas anormales con duplicaciones o deleciones. Nótese que sólo dos de cuatro cromátidas participan en un evento sencillo de entrecruzamiento. Modificada de Moore, 2001.⁹⁴²

1.6 Trisomía parcial 1q

El cromosoma 1 es el cromosoma humano más largo, y cuenta con aproximadamente 300Mb de DNA, que es aproximadamente 10% del genoma humano. La trisomía del cromosoma completo no es compatible con la vida y no se ha observado a la fecha de manera prenatal.⁴⁴

Las características clínicas más frecuentemente encontradas en pacientes con trisomía parcial 1q son retraso mental, macrocefalia, puente nasal ancho y aplanado, paladar alto y ojival, pabellones auriculares de baja implantación, micro y/o retrognatia, cuello corto, teletelia, cardiopatía congénita y anomalías urogenitales. La asociación clínica de macrocefalia, fisuras palpebrales descendentes y micrognatia, debe sugerir la duplicación parcial del brazo largo del cromosoma 1. Sin embargo las anomalías fenotípicas de las alteraciones de este cromosoma varían grandemente y la delineación de una entidad sindrómica específica es complicado por la presencia de segmentos de 1q de diferente tamaño y usualmente de anomalías cromosómicas adicionales, generalmente un segmento trisómico de otro cromosoma.⁴⁵

Duplicaciones completas del cromosoma 1 o 1q es un hallazgo frecuente en abortos espontáneos. Duplicaciones parciales de 1q resultan en una variedad de anomalías congénitas, la gravedad y la prognosis para la supervivencia correlaciona con la extensión de la región. Duplicaciones 1q24-25→qter resultan usualmente en anomalías graves y esperanza de vida corta. Duplicaciones 1q32→qter involucran malformaciones menos graves y supervivencia más larga pero con retraso mental notorio. En las duplicaciones 1q42→qter las malformaciones son usualmente moderadas y la capacidad cognitiva esta menos afectada.⁴⁵

La alta incidencia de rupturas en 1q25, 1q32 y 1q42 sugieren probables localizaciones cromosómicas pronas a la deleción. Alteraciones como hipertelorismo, pabellones auriculares dismórficos y anomalías de los dedos se han encontrado en 50 a 80% de los casos independientemente del tamaño del segmento duplicado, mientras más grande más malformaciones observadas.⁴⁶ La mayoría de las duplicaciones que se extienden de manera proximal a la banda 1q32 tienden a ser letales.⁴⁷

Se han identificado 353 genes en las distintas regiones duplicadas reportadas en la literatura, 30 de ellos con función conocida como *DISC1* localizado en 1q42.1 y *TRAX* localizado en 1q42.2, los cuales tienen una función crucial en el desarrollo neural y *TBCE* localizado en 1q42.3 y *RAB3GAP* localizado en 1q41 que se encuentran asociados con desórdenes del neurodesarrollo y retraso mental.⁴⁸

Considerando el hecho de que existen pocos reportes en la literatura de duplicación de 1q pura, y la mayoría de ellos no cuentan con estudio molecular que pueda evidenciar otros imbalances genéticos, no existe evidencia clara que soporte una delineación final de síndrome de duplicación parcial 1q.⁴⁸

1.7 Monosomía parcial 3p

El síndrome de delección 3p (OMIM:613792), fue descrito por primera vez por Verjaal y De Nef en 1978. Es un síndrome de genes contiguos caracterizado por múltiples alteraciones entre ellas retraso mental, retraso en el desarrollo, restricción de crecimiento intrauterino, micro y braquicefalia, facies triangular, hipertelorismo, epicanto, fisuras palpebrales ascendentes, ptosis palpebral, frontal prominente, nariz corta y ensanchada, micrognatía, implantación baja de pabellones auriculares, hipertriosis, sinofris, filtrum largo (Figura 17) y una variedad de anomalías asociadas, tales como *pectus excavatum*, escoliosis, hipogenitalia, polidactilia, sindactilia, clinodactilia, defectos del *septum* auriculoventricular, hernia hiatal, atrofia óptica, displasia renal poliquística y clavículas hipoplásicas.⁴⁹



Figura 17. Ejemplo de paciente con síndrome de delección 3p. Nótese el pliegue epicántico, puente nasal deprimido, narinas antevertidas, mentón pequeño y pabellones auriculares de baja implantación y en retroversión. Imagen tomada de Malmgren, 2007.⁴⁹

Un gran número de individuos afectados con regiones circunscritas superpuestas de varias regiones contiguas de haploinsuficiencia del cromosoma 3p han sido identificados, definiendo una región crítica de 1.5Mb en 3p26. Green et al mapearon el locus de susceptibilidad a cardiopatía congénita en 3p25 a 3.7 cM de distancia entre D3S1263 y D3S3594. Se han identificado los siguientes genes en la región crítica involucrados con el desarrollo neuronal: *CHL1*, *CNTC4*, *CRBN*, *LRRN1*, *ITPR1* y *SRGAP3* (Figura 21).⁵⁰

CHL1 codifica para la molécula de adhesión L1-like (CALL), la cual está altamente expresada en sistema nervioso central y en el sistema nervioso periférico, su interrupción o pérdida puede causar compromiso cognitivo. En un estudio de correlación fenotipo-genotipo Pohjola et al. [2010] concluyó que una pequeña deleción terminal en 3p comprendiendo sólo el gen *CHL1* puede causar únicamente retraso mental moderado, con dificultad para el aprendizaje, microcefalia y retraso en el crecimiento, y que podría no estar relacionada con retraso mental profundo y dismorfias.

CNTN4 codifica para la proteína contactina 4, una molécula de adhesión celular asociada al axón, que pertenece a la superfamilia de las inmunoglobulinas y tiene una participación importante en la formación, mantenimiento y plasticidad de las redes de neuronas funcionales. Dijkhuizen et al [2006] sugirieron que la pérdida de *CNTN4* y *CRBN* contribuyen al retraso mental en el síndrome de deleción 3p. Fernández et al [2004], propusieron que la disrupción de *CNTN4* ocasiona las características faciales, retraso en el desarrollo y en el crecimiento. En un paciente se identificó la disrupción de una sola copia del gen, que fue suficiente para conferir aspectos claves del fenotipo como retraso en el desarrollo psicomotor y también se le ha implicado en la etiología del espectro autista.⁵⁰

CRBN codifica para la proteína cereblon, proteína de unión para canales de potasio activados por calcio de larga conductancia en el cerebro. Se ha descrito que un tipo de retraso mental autosómico recesivo no sindrómico (MRT2) (OMIM:607417) puede ser ocasionado por mutaciones homocigotas en *CRBN*, que es necesario para la formación de las fronteras entre el cerebro medio y el metaencéfalo durante el desarrollo neuronal.⁵¹

ITPRN1 codifica el receptor tipo 1 del inositol 1,4,5-trifosfato, el cual libera iones calcio de reservas intracelulares y modula la señalización intracelular de calcio, contribuyendo su disrupción al retraso mental. El gen *SRGAP3* codifica la proteína con actividades de GTPasa Slit-Robo Rho involucrada en la vía Slit-Robo que regula la migración neuronal y la ramificación axonal. La haploinsuficiencia del gen *SRGAP3* puede que conlleve a una inadecuada traducción de señales neuronales y un desarrollo anormal de estructuras neuronales. Se ha sugerido que *SRGAP3* es un determinante mayor en el retraso mental de pacientes con el síndrome de deleción 3p.⁵¹

El síndrome de deleción 3p se presenta *de novo* en la mayoría de los casos, los pacientes afectados en general tienen deleciones terminales con puntos de ruptura indistinguibles en 3p25; algunos puntos de ruptura se han localizado centroméricos y otros teloméricos al gen supresor de crecimiento tumoral de Síndrome Von Hippel-Lindau, el cual se localiza la región cromosómica 3p25.3. Las deleciones pueden ser de origen materno o paterno, la deleción terminal más pequeña reportada fue en un paciente hemigigoto para las secuencias 3p26→pter como resultado de una translocación no balanceada. También se han reportado deleciones intersticiales.⁵²

Los puntos de ruptura varían entre los casos reportados, la mayoría de las deleciones son relativamente grandes (de 4.5 a 12 Mb) y deleciones terminales mayores a 5Mb son visibles por métodos citogenéticos convencionales. La mayoría de la evidencia apunta como determinantes mayores del retraso mental en este síndrome a los genes *SRGAP3*, *MEGAP*.⁵³

El gen *VHL*, von Hippel-Lindau, se localiza en 3p25.3, ha sido reportado como deletado en algunos pacientes con síndrome de deleción 3p. En pacientes hemigigotos para *VHL*, se esperaría el desarrollo de hemangioblastomas en retina y sistema nervioso central y carcinoma de células renales. Sin embargo, no hay reportes de pacientes con síndrome de deleción 3p que presenten enfermedad de Von Hippel-Lindau.⁵¹

1.8 Translocación t(1;3)

Existen pocos reportes previos que documenten las características clínicas y citogenéticas encontradas en translocaciones entre los cromosomas 1 y 3.⁵⁴

En la tabla 2, podemos observar los distintos casos reportados en la literatura de t(1;3). La mayoría de los casos en los que hay rearrreglos no balanceados que resultan en monosomías y trisomías parciales son resultado de segregaciones en padres portadores de una translocación balanceada. Los puntos de ruptura varían entre los diferentes casos reportados, los únicos idénticos en familias diferentes son los reportados por Yunis [1977] y Schinzel [1981].^{33,40}

Kozma *et al*, reportó la segregación de una t(1;3)(q42.3;p25) balanceada en una familia, identificando dos tipos viables de complementos no balanceados (trisomía parcial 1q/monosomía parcial 3p y trisomía parcial 3p/monosomía parcial 1q), con fenotipos distintos.⁴¹ En los individuos con ambos complementos se encontraron algunos hallazgos consistentes como retraso en el crecimiento y en el desarrollo psicomotor, anomalías

neurológicas, cardíacas y dismorfias faciales, en ocasiones acompañados de una pobre sobrevida.⁴¹

El fenotipo de pacientes con t(1;3) no balanceada, dependerá principalmente del tamaño de la región cromosómica que se haya duplicado y el tamaño de la delección presente; así como de los genes involucrados en dichas regiones.

La mayoría de los pacientes reportados corresponden a trisomía parcial 1q y monosomía parcial 3p, debe de ser más compatible con la vida que la situación inversa.

TABLA 2. Agrupamiento de las translocaciones t(1;3), con puntos de ruptura, origen de la translocación y aneusomías segmentarias resultantes.^{33,40,55,56,57,58,46,59,54}

Referencia	Puntos de ruptura	Tipo de herencia	Productos observados
Yunis [1977]	t(1;3)(q32;p25)	<i>De novo</i>	1q+/3p-
Schinzel [1981]	t(1;3)(q32;p25)	Materna	1q+/3p-
McCarthy[1986] Caso 1 Caso 2 Caso 3	t(1;3)(q25;p23) t(1;3)(q25;p23) t(1;3)(q25;p23)	Materna Materna Paterna	1q+/3p- 1q+/3p- 1q+/3p-
Reiss [1986] Caso 1 Caso 2 Caso 3	t(1;3)(q43;p21) t(1;3)(q43;p21) t(1;3)(q43;p21)	Paterna Paterna Materna	1q-/3p+ 1q-/3p+ 1q-/3p+
Sunaga [1993] Caso 1 Caso 2	t(1;3)(q42.3;p26.3) t(1;3)(q42.3;p26.3)	Materna Materna	1q+/3p- 1q+/3p-
Gfatter [1998]	t(1;3)(q25;q29)	<i>De novo</i>	1q+/3q-
Kozma [2004] Caso 1 Caso 2 Caso 3	t(1;3)(q43;p25) t(1;3)(q43;p25) t(1;3)(q43;p25)	Paterna Paterna Materna	1q+/3p- 1q-/3p+ 1q-/3p+
Li [2013]	t(1;3)(q42.13;p25.3)	Materna	1q+/3p-

1q- (monosomía parcial 1q), 1q+ (trisomía parcial 1q), 3p- (monosomía parcial 3p), 3p+ (trisomía parcial 3p), 3q- (monosomía parcial 3q).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las alteraciones cromosómicas y en particular las translocaciones son eventos poco frecuentes, tienen impacto clínico dependiendo de cuales cromosomas se encuentren involucrados, los puntos de ruptura y si se trata de rearrreglos balanceados o no balanceados, entre otros aspectos. Estas circunstancias son importantes para el asesoramiento genético debido a las alteraciones que pueden presentarse en la descendencia en relación a la segregación de los cromosomas translocados durante la meiosis. Existen pocos antecedentes en la literatura referentes a translocaciones entre los cromosomas 1 y 3; en estos casos durante la segregación en meiosis pueden dar origen a productos con alteraciones de tipo monosomía y trisomía parciales de estos cromosomas, los cuales variarán en su gravedad fenotípica dependiendo de los puntos de ruptura y la extensión de los fragmentos involucrados. Existen también pocos casos descritos de trisomía parcial 1q pura; lo anterior debido a que la mayoría de estos son resultado de translocaciones con involucro de otros cromosomas, por lo que ha resultado difícil la caracterización del fenotipo correspondiente a esta trisomía parcial. En esta tesis se describe el abordaje clínico, citogenético y molecular de una familia con t(1;3), detectada a partir del diagnóstico de un paciente con trisomía parcial 1q y monosomía parcial 3p. Y se compara con los casos reportados en la literatura.

3. JUSTIFICACIÓN

El análisis integral de pacientes con malformaciones congénitas y alteraciones del desarrollo incluye el descartar alteraciones cromosómicas. En los casos en que las alteraciones se relacionan con aberraciones cromosómicas debidas a desbalances del tipo monosomías o trisomías parciales es importante descartar que estén asociadas a alteraciones cromosómicas balanceadas en los padres. El caso que se describe, al tratarse de una t(1;3) con presentación familiar, requiere del estudio citogenético y molecular de los integrantes de la familia para el adecuado asesoramiento genético. La comparación de esta información con lo descrito en la literatura aportará información acerca de las características fenotípicas correspondientes a cada una de estas alteraciones cromosómicas; resultando de particular importancia para el caso de trisomía parcial 1q debido a los pocos reportes previos que existen en la literatura y por ende la escasa información que hay acerca del fenotipo específico ocasionado por esta alteración, lo que contribuirá tanto a poder brindar un asesoramiento genético integral a esta familia como a una mejor descripción de estos síndromes.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo principal

Describir clínica, citogenética y molecularmente a una familia con t(1;3).

4.2 Objetivos secundarios

- 1.- Describir las características clínicas en un paciente con trisomía parcial 1q y monosomía parcial 3p.
- 2.- Definir los puntos de ruptura cromosómica en el propositus y su madre mediante técnicas de citogenética convencional y molecular.
- 3.- Correlacionar clínicamente el fenotipo con los hallazgos de los análisis de citogenética y biología molecular.
- 4.- Contribuir con lo anterior a lo reportado en la literatura al respecto.
- 5.- Otorgar asesoramiento genético a la familia estudiada.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó historia clínica al propositus (individuo IV.1, Figura 18) y previo consentimiento informado (Anexo I), autorización Institucional y de acuerdo a los lineamientos internacionales, se llevo a cabo estudio familiar citogenético con técnica de bandas GTG con una resolución de 400-550 bandas, analizando 25 metafases (Anexo II).

De acuerdo a los resultados encontrados en esta primera fase de estudio, se indicó el estudio citogenético bajo los mismos lineamientos y previo consentimiento informado en ambos padres y posteriormente a otros miembros de la familia.

En una tercera fase se realizó estudio de citogenética molecular con técnica de FISH para las regiones subteloméricas de los cromosomas 1 y 3 utilizando las sondas ToTelVysion (Vysis-Abbott®). La mezcla para el cromosoma 1 (mezcla 1) consistió en los siguientes elementos: 1p color verde, 1q color naranja, Yp/Yp color amarillo CEP X en color aqua y la mezcla para el cromosoma 3 (mezcla 3): 3p color verde, 3q color naranja, 22q color amarillo y BCR en color aqua. Se analizaron 10 metafases para cada preparación en el propósito y en su mamá (individuo III.6, Figura 18).

Finalmente se realizó análisis de CNV con microarreglos de SNP de alta densidad en DNA genómico del propósito; obtenido a partir de una muestra de sangre periférica (3 ml) utilizando el *kit* Versagene DNA Purification (Gentra Systems Inc.®, Minneapolis, MN, USA). El mapeo genómico se llevó al cabo con un microarreglo Cytoscan HD (Affymetrix Inc®., Santa Clara, CA, USA).

En la sección de anexos se describen en detalle las técnicas de bandas GTG (Anexo II), FISH (Anexo III) y mapeo genómico (Anexo IV) utilizadas.

Descripción del caso clínico

El propósito es un paciente masculino de 2 años 8 meses de edad (individuo IV.1 en el árbol genealógico Figura 18), quien fue conocido a los 4 meses por el Departamento de Genética del HIMFG referido por presentar múltiples dismorfias y retraso en desarrollo psicomotor, iniciando su manejo y valoración integral. El paciente cuenta con los siguientes antecedentes:

Antecedentes heredofamiliares:

Padres jóvenes, aparentemente sanos, no consanguíneos. Abuela materna con antecedente de 3 pérdidas gestacionales espontáneas. Medio tío materno finado a los 4 años 5 meses con diagnóstico de cardiopatía y pie equinvaro; tío materno finado a los 7 años con historia de retraso en el desarrollo psicomotor, dismorfias y hepatopatía no especificada (Figura 18).

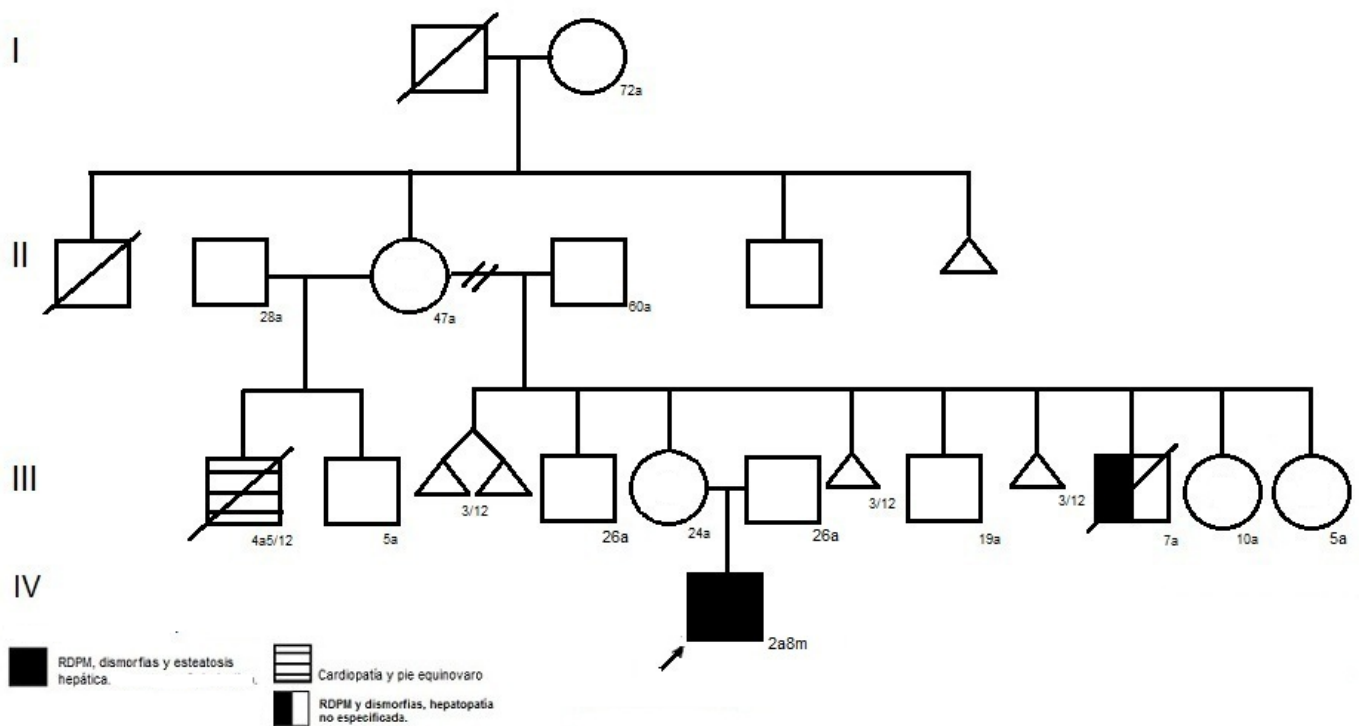


Figura 18. Árbol genealógico del propósito.

Antecedentes perinatales:

Producto de gesta I, adecuado control prenatal e ingesta de multivitamínicos, dos ultrasonidos reportados como normales, cursó con amenaza de aborto durante el primer trimestre manejada con reposo. Se obtuvo por parto eutócico a las 38SDG, pesó 2,880gr (P10), midió; 51cm (P50), Apgar 8/9.

Antecedentes personales no patológicos:

Fijación de la mirada a los 2 meses, sostén cefálico a los 6 meses, sedestación al año de edad, inicio de bisílabos al año de edad, actualmente no ha desarrollado lenguaje, no ha logrado control de esfínteres, ni deambulación.

Antecedentes personales patológicos:

Hospitalizado a los 8 meses por neumonía adquirida en la comunidad. Diagnóstico de reflujo gastroesofágico a los 5 meses de edad. Sondeo por dacriostenosis a los 12 meses de edad.

Exploración física: edad aparente igual a la cronológica, peso: 11Kg (<P5) y talla: 84cm (<P5), perímetro cefálico: 48cm (P25). Braquicefalia, facies triangular, fisuras palpebrales oblicuas ascendentes, nariz corta con narinas antevertidas, paladar alto, ojival, mentón pequeño y triangular, micrognatia, pabellones auriculares de impalantación baja y en retroversión. Tórax ancho con teletelia; cardiopulmonar, abdomen y columna sin alteraciones, genitales masculinos con ambos testículos en escroto, uretra central, extremidades hipotróficas, simétricas, hirsutismo en frente, espalda y brazos (Figura 19).

Estudios de gabinete:

Ecocardiograma, electrocardiograma y ultrasonido renal: sin alteraciones morfológicas. Ultrasonido hepático (a los 2 años 5 meses de edad): hígado con datos compatibles con esteatosis hepática.

Resonancia magnética de cráneo: ventriculomegalia y quiste subaracnoideo.



Figura 19. Fenotipo del paciente a los 2 años 8 meses. Nótese la facie triangular, fisuras palpebrales oblicuas ascendentes, nariz corta y micrognatia.

6. RESULTADOS ESTUDIOS CITOGENÉTICOS Y MOLECULARES

Se realizó estudio de cariotipo con técnica de bandas GTG al propósito (análisis realizado por la Biol. Ariadna Berenice Morales Jiménez, Laboratorio de Citogenética, Departamento de Genética del HIMFG). El cual identificó el siguiente complemento cromosómico:

46,XY,der(3)t(1;3)(1qter→1q41::3p26.3→3qter)

Con el resultado anterior, se determinó que el propósito es un individuo masculino trisómico para el segmento 1q41→qter y monosómico para 3p26.3→pter (Figuras 20 y 21).

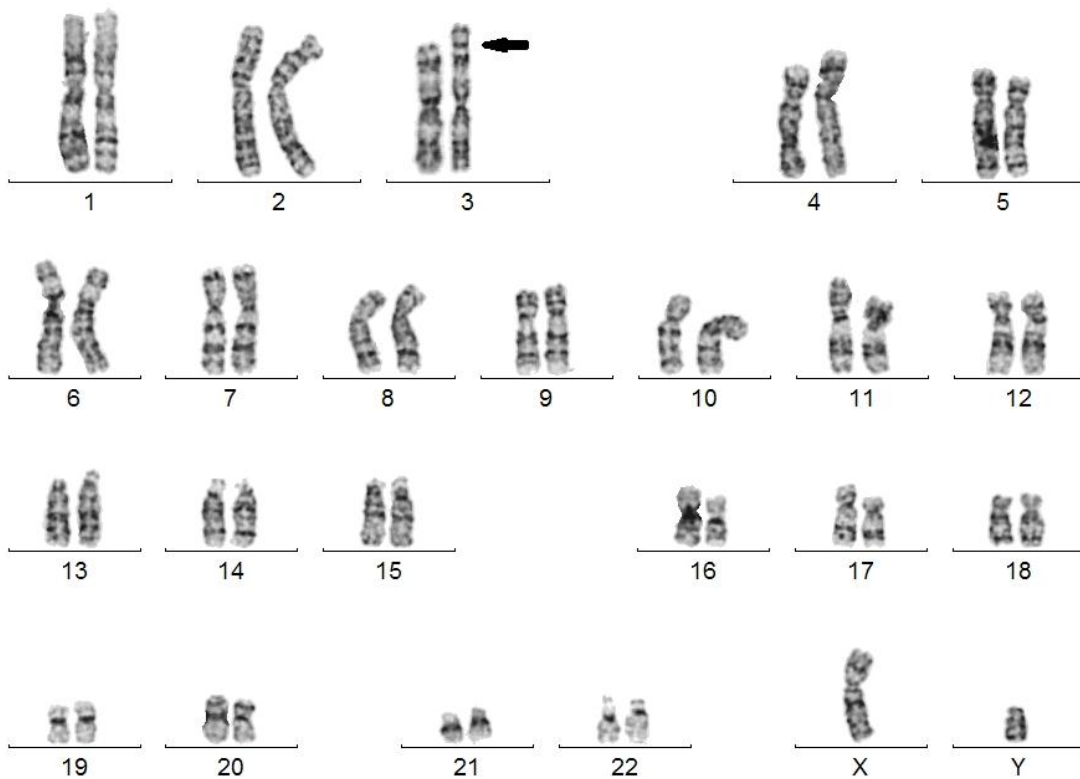


Figura 20. Cariotipo del propósito (IV.1) con técnica de bandas GTG. La flecha señala el derivado de el cromosoma 3.

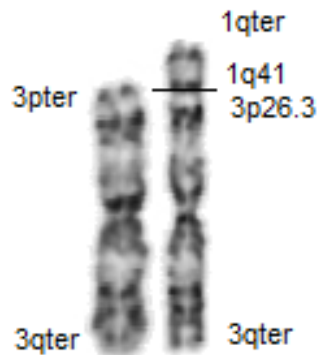


Figura 21. Cariotipo parcial con técnica de bandas GTG del propósito. Se evidencia a la izquierda el cromosoma 3 normal y a la derecha el cromosoma derivado: $\text{der}(3)\text{t}(1;3)(1\text{qter}\rightarrow 1\text{q41}::3\text{p26.3}\rightarrow 3\text{qter})$, se han indicado los puntos de ruptura.

Ante el resultado del estudio citogenético en el propósito, se realizó análisis cromosómico a los padres del paciente con técnica de bandas GTG. El análisis indicó que el padre (individuo III.7, Figura 18) tiene un cariotipo 46,XY. El estudio cromosómico de la madre (individuo III.6, Figura 19) tuvo el siguiente resultado:

$46,\text{XX},\text{t}(1;3)(1\text{pter}\rightarrow 1\text{q41}::3\text{p26.3}\rightarrow 3\text{pter};1\text{qter}\rightarrow 1\text{q41}::3\text{p26.3}\rightarrow 3\text{qter})$

La fórmula cromosómica descrita corresponde a un individuo femenino con una translocación balanceada entre los cromosomas 1 y 3 con puntos de ruptura en 1q41 y 3p26.3 (Figuras 22 y 23).

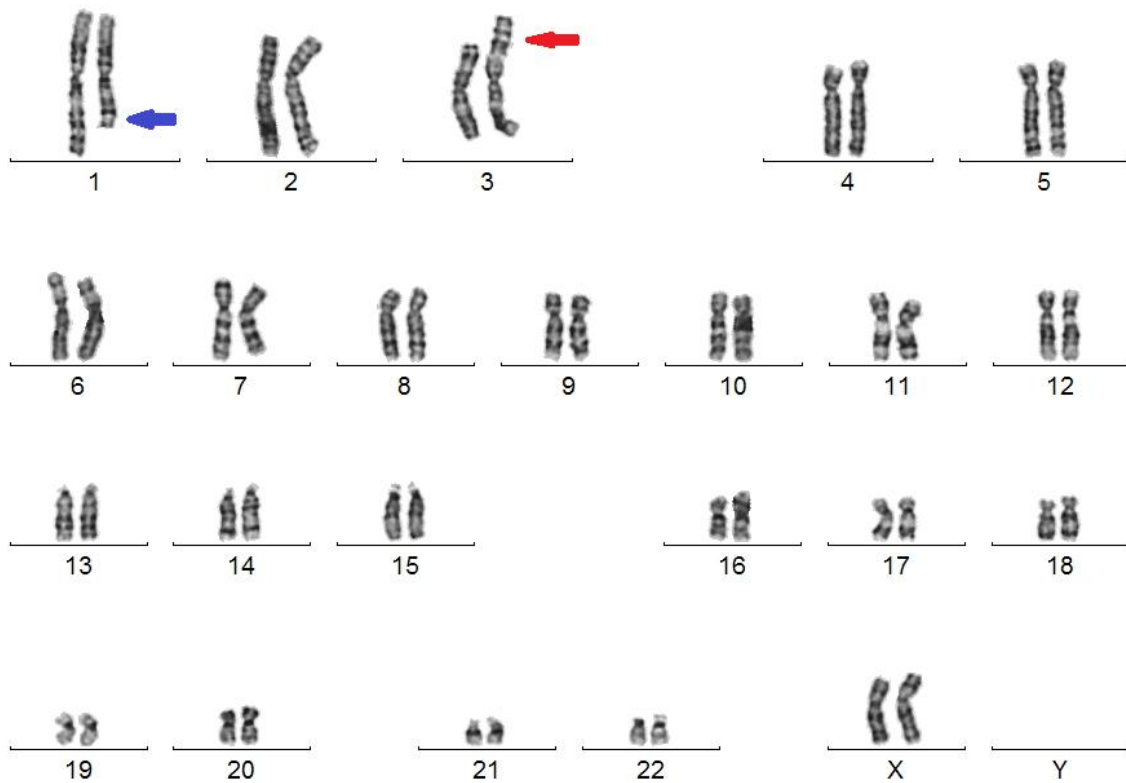


Figura 22. Cariotipo con técnica de bandas GTG de la madre del propósito (individuo III.6, Figura 19). La flecha de color azul indica el cromosoma derivado 1 y la flecha de color rojo indica el cromosoma derivado 3.

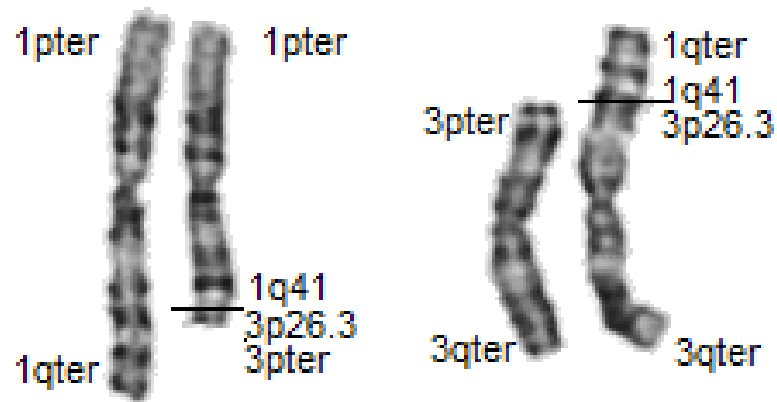


Figura 23. Cariotipo parcial con técnica de bandas GTG en la madre del propositus. Se muestran los cromosomas participantes en la translocación balanceada t(1;3) evidenciando los puntos de ruptura.

Con el resultado de translocación balanceada en la madre del propositus, se extendió el estudio cromosómico a otros miembros de la familia pudiéndose realizar en la abuela, un tío y dos tías maternas, el estudio demostró la misma translocación y la condición de portadores balanceados en los individuos II.3, III.12 y III.13 (Figura 24).

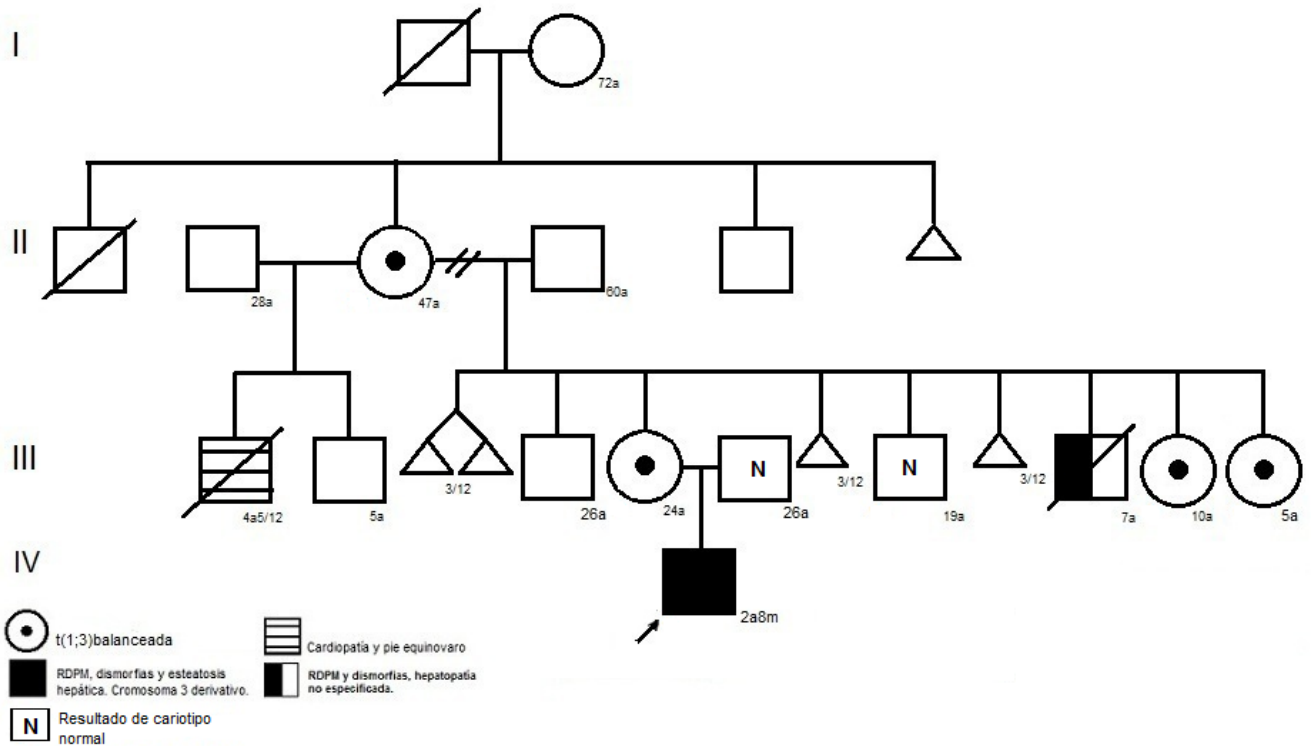


Figura 24. Árbol genealógico en donde se indican los resultados de los estudios citogenéticos, en particular se evidencia el estado de portadores balanceados de la t(1;3) en los individuos II.3, III.6, III.12 y III.13, así como los individuos a quienes se les realizó el estudio y tienen cariotipo normal.

Se realizó análisis con técnica de FISH con las mezclas 1 y 3 de las sondas ToTelvysion de Vysis, en el propósito y en su madre (análisis realizado en el Servicio de Genética, del Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga y la Facultad de Medicina, UNAM por la Biol. Karem Nieto Martínez y la M. en C. Laura Gómez Laguna)

El resultado en el propósito demostró un complemento cromosómico:

46,XY,der(3)t(1;3)(q41;p26.3).ish der(3)(CEB108/T7+, D3S4559-, D3S4560+).

El cual se muestra en la Figura 25.

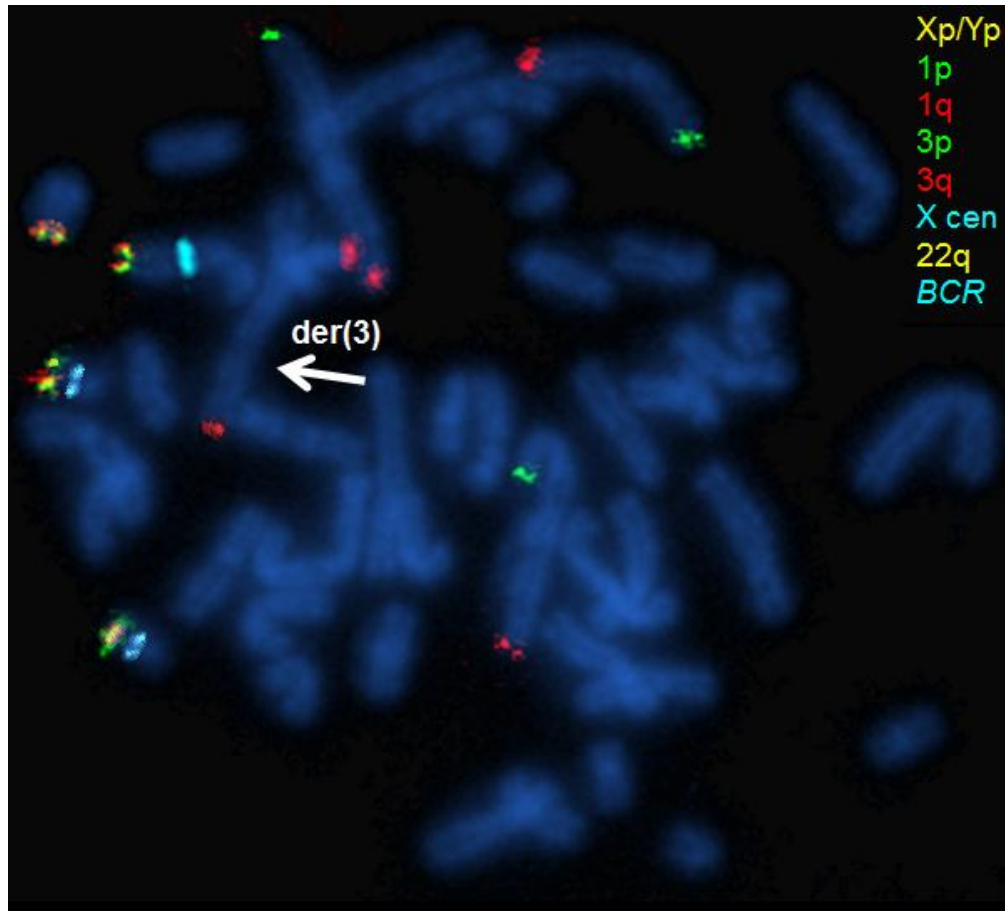


Figura 25. Metafase del propósito analizada con técnica de FISH. En el extremo superior derecho se muestran los colores que identifican a las sondas utilizadas de acuerdo a la región cromosómica. La flecha indica el cromosoma derivado 3 con dos señales rojas, correspondientes a telómero de 3q y de 1q, indicando trisomía parcial 1q y monosomía parcial 3p.

El análisis de FISH corroboró la translocación balanceada en la madre del propósito con una fórmula cromosómica (Figura 26):

46,XX,t(1;3)(q41;p26.3).isht(1;3)(q24;p21)(CEB108/T7-, D3S4559+, D1S3738+; CEB108/T7+, D3S4559-, D3S4560+).

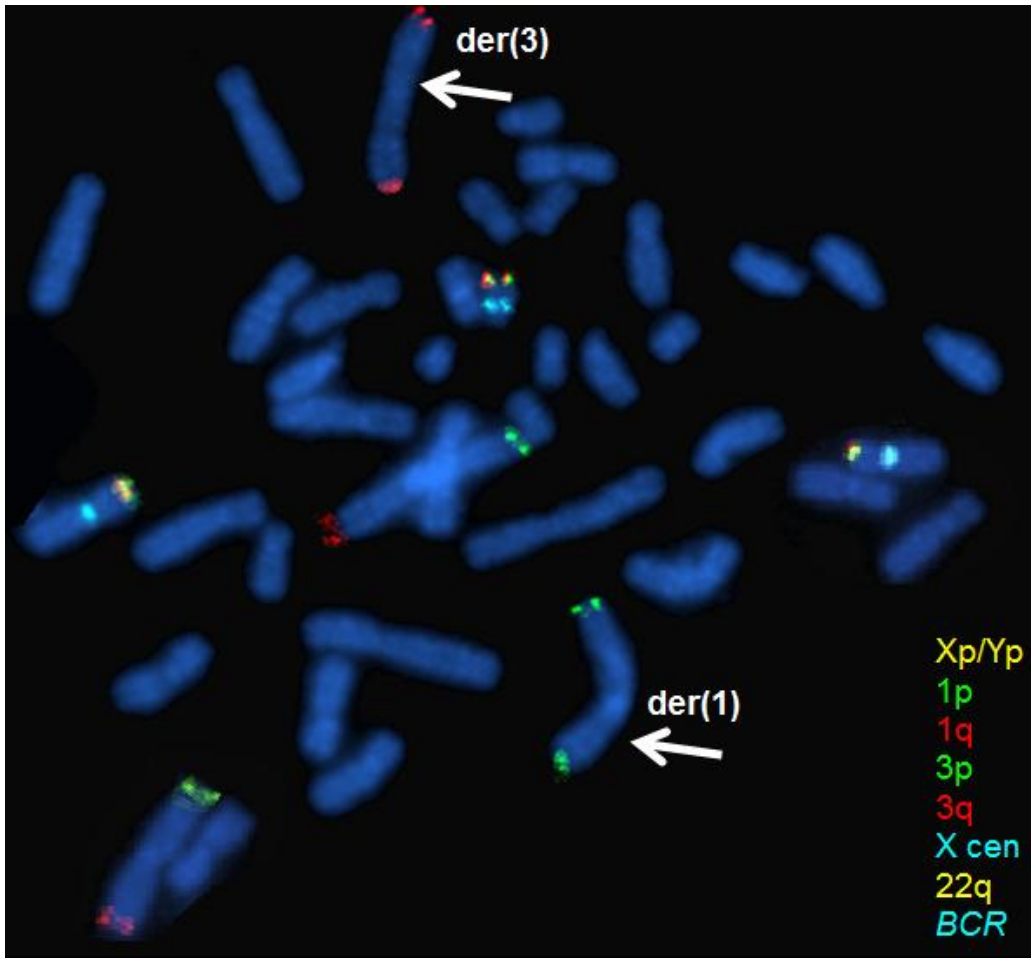
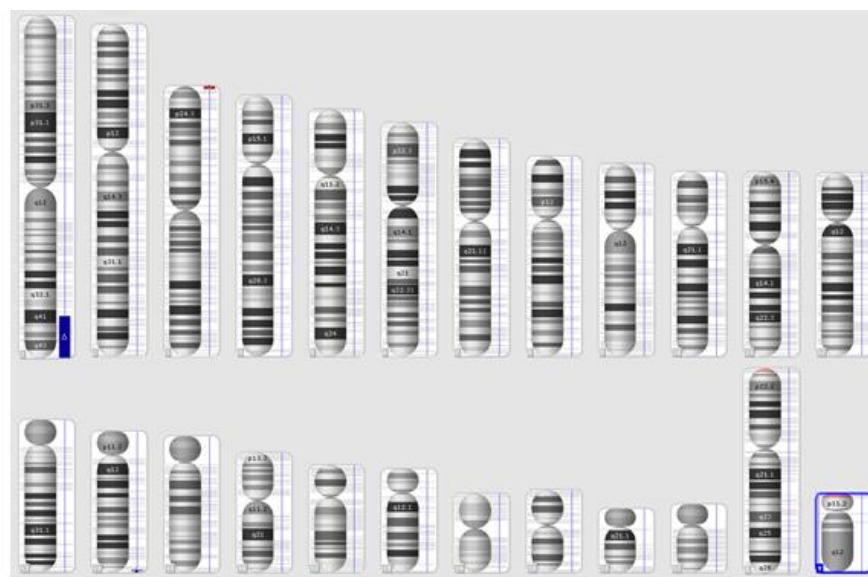


Figura 26. Metafase de la madre del propositus analizada con técnica de FISH. En el extremo inferior derecho se muestran los colores que identifican a las sondas utilizadas de acuerdo a los cromosomas analizados. Las flechas indican dos señales rojas del derivado del cromosoma 3 y dos señales verdes indicando el derivado del cromosoma 1.

Se extrajo DNA de sangre periférica al propósitos para análisis con microarreglos de SNP de alta densidad, el cual reveló como hallazgos que tienen significancia clínica: duplicación en el cromosoma 1q41-qter con una extensión de 30304.66 kpb y una deleción de 3pter-p26.3 con una extensión de 1712.324 kpb (Figura 27) (Análisis realizado por el Dr. Fernando Fernández Ramírez del Servicio de Genética, Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga). El análisis detallado de los genes localizados en esta región, se realizará posteriormente.



DETALLES DEL SEGMENTO

Cromosoma	Tipo	Estado de CN	Banda de inicio	Banda de terminación	Min	Max	Tamaño (kbp)	Marker Count	Confianza	Smoothed/Joined
1	Gain	3.0	q41	q44	218920024	249224684	30304.66	31792	0.90233546	true
3	Loss	1.0	p26.3	p26.3	61891	1774215	1712.324	1872	0.92465186	false

Figura 27. Resultado de análisis de microarreglos en el propósito indicando los detalles de las regiones del cromosoma 1 y 3 que tienen relevancia para el fenotipo.

7. DISCUSIÓN

Ante un paciente con síndrome dismórfico y retraso mental de origen desconocido, se debe realizar un abordaje integral para determinar una impresión diagnóstica, etiología y proporcionar asesoramiento genético. Entre las causas de estas alteraciones deben descartarse alteraciones cromosómicas desbalanceadas como base etiológica, así y de acuerdo a las indicaciones para la realización de cariotipo mostradas en la Tabla 1, y a las características clínicas del propósito descritas en la sección 5 se realizó abordaje citogenético al paciente y a la familia descrita en esta tesis.

El estudio citogenético reveló en el propósito una translocación no balanceada 46,XY,der(3),t(1;3)(q41;p26.3), mediante análisis de FISH y de microarreglos se confirmaron los puntos de ruptura y se determinó una trisomía parcial 1q de 1q41→qter de 30.3 Mb y una monosomía parcial 3p de 3p26→pter de 1.7Mb, alteraciones segmentarias consideradas como responsables del fenotipo del paciente con importantes implicaciones tanto en la definición del fenotipo asociado a alteraciones de estas regiones, como para el asesoramiento genético.

En relación a la frecuencia de esta alteración, existen sólo 7 reportes en la literatura de casos de t(1q;3p) con 14 pacientes (Tabla 2), por lo que podemos considerarlo como una alteración poco frecuente.

En relación a las características clínicas de los casos conocidos, se encuentra una gran variedad fenotípica debido a las diferencias en puntos de ruptura, tamaño, y contenido de genes de las regiones involucradas en cada caso (Tabla 3) y que se describen a continuación.

Tabla 3. Características clínicas y moleculares de pacientes con trisomía 1q y monosomía 3p derivadas de una t(1;3)

	Yunis ³¹	Cook ⁴⁰			Schinzl ⁴⁰	McCarthy ⁵⁶			Sunaga ⁵⁸		Kozma ⁵⁹			Li ⁵⁴	Probando
Estudios citogenéticos	Bandas Q, G y T				Bandas G	Bandas G			Bandas G alta resolución		Bandas G alta resolución FISH			Bandas G aCGH	Bandas G FISH Cytoscan
Segmentos trisómico	1q32→qter	1q25→qter			1q32→qter	1q25→qter			1q42→qter		1q42.3→qter			1q42.13→qter (21.6 Mb)	1q41→qter
Segmento monosómico	3p25→pter	3p23→pter			3p25→pter	3p23→pter			3p26→pter		3p25→pter			3p25.3→pter (10.79 Mb)	3p26.3→pter
Origen	De novo	P1 mat	P2 mat	P3 pat	Mat	P1 mat	P2 mat	P3 pat	P1 mat	P2 mat	P1 pat	P2 mat	P3 mat	mat	mat
Edad	1 a				17 a 8 m	20 a	19 a	RN	6 a	4 a	3 s	RN	RN	7 m	2 a 8 m
Género	F				M	F	M	F	M	M	F	F	M	M	M
Edad gestacional	NR				38.6 SDG	NR	NR	NR	38 SDG	37 SDG	NR	NR	37 SDG	38 SDG	38 SDG
Peso al nacer	2,500 g				2,910 g	2,730 g	3,010 g	2,840 g	3,320 g	2,578 g	2,440 g	NR	2,800 g	2,463 g	2,880 g
Talla nacer	48 cm				46 cm	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	42.5 cm	51 cm
Macrocefalia												+	+		
Bracquicefalia	+				-	NR	NR	NR	+	+	+	-	-	NR	+
Facies anormales	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cara triangular	-				-	NR	NR	NR	-	+	+	+	+	-	+
Fontanela amplia	+				-	NR	NR	NR	NR	NR	+	NR	+	+	+
Estrechamiento temporal	+				-	NR	NR	NR	+	+	-	NR	NR	+	+
Fisuras palpebrales ascendentes	-				-	NR	NR	NR	+	+	+			+	+
Plegue epicántico	+				+	NR	NR	NR	+	+	+	NR	NR	-	-
Hipertelorismo	+				+	NR	NR	NR	+	+	+	+	+	NR	+
Narinas antevertidas	-				+	NR	NR	NR	+	+	-	+	+	+	+
Pabellones auriculares de implantación baja	+				+	+	+	-	+	+	+			+	+
Micrognatia	-				-	NR	NR	NR	+	+	+	+	+	+	+
Paladar estrecho	-				-	-	-	-	+	+	+	NR	NR	-	+
Cardiopatía congénita	NR	+	+	+	¿?		NR	NR	-	-	AV PCA	+	-	EP, PCA Arteria subclavia aberrante	-
RDPM o retraso mental	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ECC anormal	NR				NR	NR	NR	NR	+	+	+	+	+	+	NR
Anomalías estructurales del SNC	NR				+	NR	NR	NR	+ Dilatación ventricular	+ Dilatación ventricular	+ Arinencia falia Asimetría del plexo coroides	Adelgazamiento de tejido cortical	-	+ Dilatación ventricular	+ Dilatación ventricular
Anomalías genitourinarias	NR				+	-	Criptorquidia	-	NR	NR	NR	NR	Criptorquidia	Criptorquidia Hidronefrosis derecha	-
Hirsutismo	-				+	-	-	-	NR	-	+	NR	-	+	+
Anomalías esqueléticas	Clinodactilia				Cúbito valgo	Cifoescoliosis	Cifoescoliosis	-	NR	NR	Desviación ulnar Clinodactilia	-	-	Clinodactilia	Clinodactilia
Muerte temprana	NR				NR	-	-	NR	-	-	+ 3 semanas	+ 16 meses	9 años	+ 9 meses	-

mat: Origen materno, pat: Origen paterno. SDG: Semanas de gestación, a: años, m: meses, s: semanas. RN: Recién nacido, NR: No reportado, M: Masculino, F: Femenino, EP: estenosis pulmonar, PCA: persistencia del conducto arterioso. +: Característica presente, -: Característica ausente.

Como se mencionó previamente, no existe un fenotipo específico relacionado con la $t(1;3)$, debido a la diversidad de las regiones cromosómicas involucradas. *Sunaga et al* [1993]⁵⁸ reportaron dos hermanos con trisomía parcial 1q y monosomía parcial 3p como resultado de segregación adyacente I, siendo la mamá de estos pacientes portadora de una $t(1;3)$ balanceada al igual que el caso de el propósito descrito en esta tesis. Los puntos de ruptura reportados en este par de hermanos son altamente similares a los de nuestro paciente como se puede observar en la tabla 3; así como la gran similitud en la presentación clínica de los 3 casos; los cuales tienen común un fenotipo caracterizado por braquicefalia, cara triangular, estrechamiento bitemporal, fisuras palpebrales descendentes, hipertelorismo, narinas antevertidas, pabellones auriculares de baja implantación, micrognatia, paladar estrecho, retraso en el desarrollo psicomotor, dilatación ventricular. Otra característica que comparten estos tres casos es la ausencia de cardiopatía congénita, la cual sí se encuentra presente en otros de los reportes de $t(1;3)$, por lo que se cree que en los pacientes reportados por *Sunaga et al* [1993]⁵⁸ y el reportado por nosotros, al tener una alta homología en el tamaño de las regiones involucradas es factible considerar que en ambos reportes no se encuentren genes asociados a cardiopatía en las regiones cromosómicas alteradas en dosis génica.⁵⁸

El caso de $t(1;3)$ que aquí reportamos sobrepone dos aneusomías segmentales (trisomía parcial 1q y monosomía parcial 3p). En la literatura se conocen reportes de ambas entidades afectando a casos de pacientes con presentaciones tanto de manera aislada o pura, es decir casos de trisomía 1q o monosomía 3p pura, así como también se han reportado casos con alteraciones que comprometen segmentos de otros cromosomas como resultado de translocaciones no balanceadas.

El diagnóstico de trisomía 1q se ha reportado en más de 80 casos⁵⁴ mostrando de igual manera una variedad clínica y citogenética por ello ha resultado difícil establecer un fenotipo característico, más aún por el hecho de que en una gran cantidad de los casos reportados son resultado de una translocación no balanceada y por ello se acompañan de monosomías parciales de otros cromosomas.

Se ha intentado identificar un fenotipo asociado a esta alteración y en varios reportes se han dividido las características clínicas asociadas a la trisomía parcial 1q en base a tres criterios: puntos de ruptura, tamaño y contenido genético del material cromosómico involucrado. De esta manera, la clasificación anterior propone que duplicaciones de $1q42 \rightarrow qter$ están asociadas a malformaciones menores con un compromiso intelectual mínimo y tendencia a la normalidad, mientras que las duplicaciones mayores que involucran a regiones de $1q32 \rightarrow qter$ están asociadas a un fenotipo más grave caracterizado por retraso mental, malformaciones menores y una adecuada sobrevivencia. En

el caso de duplicaciones que involucran casi la totalidad del brazo largo a partir de 1q24→qter se consideran letales, aparentemente aun en casos de mosaicos. En general las características asociadas a la trisomía parcial 1q son macrocefalia, frontal prominente, hipertelorismo, fisuras palpebrales descendentes, cara triangular con mentón pequeño, malformaciones cardiacas congénitas y bajo peso al nacer.^{45,61,62}

El síndrome de monosomía 3p [OMIM 613792], es un síndrome de genes contiguos, identificándose una región crítica en 3p26⁵⁰, por lo que los puntos de ruptura en esta alteración si bien varían en mayor o menor medida en los diferentes casos, son consistentes en relación a la región crítica involucrada, lo cual permite establecer una relación con el fenotipo, el cual se caracteriza por retraso mental, microcefalia y dismorfias faciales entre éstas ptosis, fisuras palpebrales descendentes y micrognatia. La expresividad variable del síndrome incluye crisis convulsivas, cardiopatías congénitas, polidactilia postaxial, paladar hendido, y anomalías renales e intestinales.⁶³ En la tabla 4 se resumen las características clínicas y citogenéticas reportadas en varios casos de trisomía parcial 1q terminal y en la tabla 5 de casos de monosomía parcial 3p, se incluyeron aquellos casos con segmentos cromosómicos similares a los encontrados en nuestro propósito.

Tabla 4. Características clínicas y moleculares de pacientes con trisomía parcial 1q terminal

Características clínicas	Chia et al 1988 ⁶⁹ Dup q42qter	dup(1)(q42.1 qter) Concolino 1998. ⁷⁰	dup(1)(q41qter) Rasmussen 1990. ⁶²	dup(1)(q42qter) Rasmussen 1990.62	dup(1)(q41qter) Rasmussen 1990. ⁶²	dup(1)(q42qter) Rasmussen 1990. ⁶²	Dup(1)(q42qter) Kennerknecht 1993. ⁷¹	Dup(1)(q42qter) Veerschuuren-Bemelmans 1995. ⁷²	Dup(1)(q44qter) Villa 2000. ⁷³	dup(1)(q41q44) Polityco 2005. ⁷⁴	dup(1)(q42q43)Cocécé 2007. ⁷⁵	dup(1)(q44qter) Percesep e, 2007. ⁶⁷	dup(1)(q41qter) Kulkowski, 2008. ⁴⁸	Dup(1)(q41qter) Shin 2008. ⁷⁶	dup(1)(q41-qter) Propósito
Cariotipo	46,XY,der(22)t(1;22)(q42;p12)mat	46,XX,der(8)t(1;8)(q42.2;p23.3) dn [∞]	46,XX,der(10)t(1;10)(q41;q26)pat	46,XX,der(13)t(1;13)(q42;q34)mat	46,XY,der(4)t(1;4)(q41;q34)pat	46,XY,der(4)t(1;4)(q42;q35)mat	46,XY,der(15)t(1;15)(q42;q42)pat	46,XX,der(15)t(1;15)(q44;p11.1)pat	46,XX,der(1)t(1;15)(q44;p12)mat	46,XX,inv dup(1)(q41q44) dn	46,XX,dup(1)(q42q43)dn	46,XY, dup(1)(q44-qter)dn	46,XY, dup(1)(q41-qter)dn	46,XY,der(1)t(1;11)(q41;p15.5)mat	46,XY,der(3)t(1;3)(q41;p26.3)
FISH	-	+	-	-	-	-	-	+	*	+	-	+	+	+	+
CGH/aCGH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
Microarreglos SNP	-	-	-	-	-	-	-	-	Análisis microsat	-	-	-	-	-	+€
Sexo	M	F	F	F	M	M	M	F	F	F	F	M	M	M	M
Edad	RN	6m	1m	10m	2a	7a5m	5a1m	22a	10a	1a8m	4a9m	1 a	2 a 8 m	6m	2a8m
Retraso mental	NR	NR	NR	NR	NR	+	+	+	+	NR	+	-	NR	NR	+
Dilatación ventricular	-	NR	+	+	+	NR	+	+	+	NR	NR	+	+	-	+
Retraso en el desarrollo psicomotor	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Retraso en el crecimiento postnatal	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
Dificultad para el desarrollo del lenguaje	-	NR	+	NR	+	+	NR	NR	*	+	NR	-	+	NR	+
Macrocefalia	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-
Microcefalia	-	-	-	+	-	-	+	+	+	NR	-	-	-	-	-
Asimetría facial	+	NR	NR	NR	NR	-	-	-	-	NR	-	-	-	-	+
Facies triangular	-	+	-	NR	+	NR	+	+	-	NR	+	+	+	-	+
Frontal prominente	+	+	+	+	+	NR	+	+	-	NR	+	+	+	+	+
Fontanelas amplias	+	+	+	NR	+	+	+	+	NR	NR	-	+	NR	-	NR
Cejas gruesas	-	NR	-	-	NR	NR	-	+	+	NR	NR	+	-	-	+
Hipertelorismo	+	-	-	+	NR	+	+	-	+	+	+	-	+	NR	+
Ptosis	-	-	-	+	-	+	-	-	-	NR	NR	-	+	NR	-
Puente nasal deprimido	-	-	-	NR	+	-	-	-	+	NR	+	+	+	+	+
Filtrum largo	+	+	-	-	+	NR	-	-	NR	+	+	+	+	NR	+
Retromicrognatia	-	+	-	+	+	NR	-	-	NR	NR	+	+	+	+	+
Narinas hipoplásicas	-	-	-	NR	+	+	+	-	NR	NR	NR	-	+	NR	+
Paladar alto	NR	NR	+	+	+	+	NR	-	-	+	NR	+	-	NR	+
Alteraciones oftalmológicas	NR	NR	+	NR	NR	+	NR	-	-	+	NR	+	-	NR	+
			Coloboma del nervio óptico			Manchas de Brushfield				Estrabismo		Hipoplasi a de nervio óptico			Dacriostenosis
Pabellones auriculares de implantación baja	+	NR	+	+	+	+	NR	-	-	+	+	-	-	+	+
Hirsutismo	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	+	NR	NR	+	NR	NR	NR	+
Alteraciones genitourinarias	-	-	NR	NR	+	NR	-	-	Hipertrofia clitorica	NR	-	Criptorquidía derecha	-	-	-
Malformaciones cardíacas	+ defecto septal atrial	-	NR	NR	+	NR	-	±	-	+	-	+	-	-	-
					Estenosis aórtica Comunicación interventricular					CIA					

NR: No reportado, SDG: Semanas de gestación, a: años, m: meses, ∞: Estudio realizado mediante amniocentesis, €: Cytoscan®, F: Femenino, M: Masculino, EEG: Electroencefalograma, CIA: Comunicación interauricular, PCA: Persistencia de conducto arterioso.

Tabla 5. Características clínicas y moleculares de pacientes con monosomía parcial 3p.

Región deletada del cromosoma 3 Origen	Disruption at p26 ^a dn Gen <i>CNTN4</i>	p26.2-pter ^b dn	p25.3-p26.1 dn	p25.2-pter dn 12.65Mb 12.25Mb 12.05Mb Shuib <i>et al.</i> 2009. ⁷⁸	p25.3-pter dn 9.55Mb to 11.50Mb Shuib <i>et al.</i> 2009. ⁷⁸	p25.3-p26.1 dn 6.3 Mb Shuib <i>et al.</i> 2009. ⁷⁸	p26.1-pter dn 8.60 Mb Shuib <i>et al.</i> 2009. ⁷⁸	p25.3-pter mat ^c 8.99 Mb Pohjola, <i>et al.</i> 2010. ⁶⁴ Fam A	p26.3-pter mat ^d 1.10 Mb Pohjola, <i>et al.</i> 2010. ⁶⁴ Fam B	p26.3-pter pat ^e 0.90 MB Cuoco, <i>et al.</i> 2011. ⁶⁵	p25.3-pter dn pat 9.35 Mb Chen, <i>et al.</i> 2012. ⁵¹	p25.3-p25.3 ND 0.643 Mb Peltekova <i>et al.</i> 2012. ⁶³	p26.3-pter mat 1.70 Mb Proband
Análisis citogenético	C, FISH, SNPa	C, FISH, aCGH	C, SNPa, MLPA	C, MLPA, SNPa 3/3	C, MLPA, SNPa 9/9	C, MLPA, SNPa	C, MLPA, SNPa	C, FISH, SNPa, MLPA, SEQ	C, FISH, SNPa, MLPA, SEQ	C, SNPa, FISH, MLPA 2/2	C, aCGH, QF-PCR ^f	C, FISH, aCGH, Q-PCR	C, FISH, SNPa
Sexo	M	M	F	NR	NR	NR	NR	M	M	M/M	F	F	M
Edad	7 a 11 m	5 a 6 m	4 a	NR	NR	NR	NR	10 a	12 a	9 a/7 a	24 SDG ^g	22 a †	2 a 8 m
Retraso mental	Limítrofe	+	NR	3/3	9/9	+	-	+	+	Limitrofe/-	NR	+	+
Defectos neurológicos	-	-	+ ^g	NR	NR	NR	NR	NR	-	1 ^h /2	-	+ ⁱ	+ ^j
RDPM	-	+	+	3/3	9/9	+	-	+	+	0/2	NA	+	+
Retraso crecimiento postnatal	+	+	-	NR	NR	NR	NR	-	+	0/2	NA	+	+
Hipotonía	+	-	+	NR	NR	NR	NR	+	-	0/2	NA	NR	+
Retraso desarrollo lenguaje	+	+	+	NR	NR	NR	NR	-	-	2/2	NA	+	+
Microcefalia	-	+	+	NR	2/9	+	NR	+	+	0/2	NR	+	-
Asimetría facial	-	NR	NR	NR	NR	NR	NR	+	-	0/2	NR	-	+
Cara triangular	-	+	+	NR	NR	NR	NR	+	-	0/2	NR	+	+
Cinofris	+	-	-	NR	NR	NR	NR	-	-	0/2	NR	+	-
Hipertelorismo	+	+	+	NR	NR	NR	NR	-	- ^k	0/2	+	-	+
Ptosis	+	-	+	NR	2/9	+	NR	-	-	0/2	NR	+	+
Filtrum largo	-	-	+	NR	NR	+	NR	-	-	0/2	NR	-	+
Micrognatia	-	+	-	NR	2/9	NR	NR	-	-	0/2	+	-	+
Narinas hipoplásicas	+	+	+	NR	NR	NR	NR	+	-	0/2	NR	-	+
Paladar alto o hendido	NR	+	NR	NR	NR	NR	NR	+	-	0/2	NR	+	+
Anomalías oftalmológicas	+ ^l	NR	+ ^m	NR	NR	NR	NR	-	-	0/2	NR	+ ⁿ	+ ^o
Pabellones auriculares dismórficos	+	+	+	NR	NR	NR	NR	+	-	0/2	+	+	+
Hirsutismo	+	NR	NR	NR	NR	NR	NR	-	-	0/2	NR	NR	+
Anomalías en extremidades	+ ^p	+ ^q	+ ^r	NR	NR	NR	NR	-	-	0/2	NR	+ ^s	+
Alteraciones genitourinarias	-	+ ^t	NR	NR	NR	NR	NR	+	-	0/2	NR	-	+
Cardiopatía	-	-	+ ^u	3/3	2/9	-	-	-	-	0/2	-	+ ^v	-

NR: No reportado; a: años, m: meses, SDG: Semanas de gestación, F: femenino, M: masculino, Mb: Mega bases, C: cariotipo, FISH: Hibridación por fluorescencia in situ, aCGH: Hibridación genómica comparativa por microarreglo, SNPa: Microarreglo de polimorfismo de un solo nucleótido, QF-PCR: PCR fluorescente cuantitativa, SEC: Secuenciación de genes candidatos. a:46,XY,t(3;10)(p26;q26), b:45,XY,der(3)t(3;13)(p26.2;q12.13),-13; c: madre con la misma delección sin las características clínicas, d: madre y hermana con la misma delección y con fenotipo moderado, e: padre con la misma delección, sin características clínicas. f: diagnóstico prenatal por amniocentesis e interrupción del embarazo, g: asimetría del talámo, crisis convulsivas y anomalías en el EEG, h: ectopia cerebelar, crisis convulsivas, i: crisis convulsivas, anomalías en el EEG, atrofia del parénquima cerebral, j: dilatación ventricular, quiste subaracnoideo, k: hipertelorismo, l: miopía, astigmatismo, m: estrabismo, n: microftalmía y esotropía intermitente, o: dacriostenosis, p: clinodactilia del 5to dedo, q: braquidactilia, sindactilia cutánea, clinodactilia del 5to orjejo, r: sobreposición de orjejos, s: polidactilia postaxial, sindactilia de orjejos, t: alteración renal en la diferenciación corticomedular bilateral, tamaño renal izquierdo disminuido, u: CIA, CIV, seno coronario amplio, v: CIA defecto septal del atrio. CIA: comunicación interauricular, CIV: Comunicación interventricular, EEG: Electroencefalograma.

En los casos de trisomía 1q terminal presentados en la Tabla 4, podemos observar que la característica más constante, reportado casi la totalidad de los pacientes, excepto en el caso reportado por *Chia et al* [1988]⁶⁹ es la de retraso en el desarrollo psicomotor presente en 14 de 15 casos, incluyendo el descrito en esta tesis; a su vez el retraso en el crecimiento postnatal se observó con una alta frecuencia, reportado en 11 casos.

Las características faciales observadas más frecuentemente y que apoyan reportes previos que las proponen como patognomónicas del síndrome de trisomía parcial 1q terminal⁷⁹ son frontal prominente, cara triangular, hipertelorismo, narinas hipoplásicas, retromicrognatia y paladar alto. Las alteraciones en el sistema nervioso central se describen en 9 pacientes de los reportados en la Tabla 4, siendo lo más frecuente dilatación ventricular, situación también descrita en nuestro propósito. Esta característica ha sido también asociada a casos de trisomía 1q no terminal como el caso de duplicación de la región 1q32→qter reportado por *Duba et al*[1997]⁶⁶ así, como duplicaciones pequeñas como la reportada por *Percesepe et al*[2007] de 1q44→qter, por lo que se podría delimitar dentro de la región 1q44→qter a los genes que en triple dosis podrían condicionar alteraciones en sistema nervioso central tales como ventriculomegalia; sin embargo, llama la atención que los estudios de imagen de sistema nervioso central realizados en el caso reportado por *Kulikowski et al*[2008]⁴⁸ con duplicación 1q41→qter no identificaron alteraciones estructurales a este nivel por lo que igualmente no puede descartarse la participación de otros factores genéticos y/o ambientales asociados.

En el caso reportado por *Duba et al*[1997]⁶⁶ el paciente presenta múltiples malformaciones entre éstas: atrofia de nervio óptico, estrabismo, labio paladar hendido bilateral, polidactilia preaxial bilateral, atresia duodenal, hipospadias, criptorquidia y riñón multiquístico izquierdo. Podría asumirse que el fenotipo más grave observado en este paciente pueda deberse a que el tamaño de la región duplicada es mayor que la de los demás casos comparados, siendo ésta una duplicación de 1q32→qter, sin embargo alteraciones genitourinarias y oftalmológicas similares fueron reportadas por *Percesepe et al* [2007] siendo de los 3 reportes el que involucra un menor tamaño duplicado siendo de 1q44→qter, incluso menor a la duplicación reportada en nuestro paciente.⁶⁷

Por último, las características observadas en el propósito de esta tesis y en sólo uno de los casos mencionados fue asimetría facial descrita en el caso reportado por *Chia et al* [1988]⁶⁹.

Al realizar el análisis de los casos conocidos de monosomía 3p representados en la Tabla 5 y compararlos con el paciente descrito en esta tesis, podemos observar que las características clínicas de nuestro paciente son compatibles con otros casos de delección terminal 3p pequeña (no mayor a 3p25.3→pter), compartiendo características como

dificultad para el aprendizaje, retraso en el desarrollo psicomotor, narinas antevertidas, paladar alto y retromicrognatia.

Es de llamar la atención que en los casos reportados por *Pohjola et al*[2010]⁶⁴, los cuales involucran casi el mismo segmento monosómico que está presente en nuestro paciente, en los cuales se corroboró el tamaño de la deleción mediante estudios de microarreglos siendo estos de 8.9Mb en el caso 1 y de 1.1Mb en el caso 2⁶⁴, ambos pacientes presentan manifestaciones clínicas menores como discreto compromiso cognitivo y dismorfias menores. Aunado a lo anterior, en los casos reportados por *Cuoco et al*[2011]⁵⁴ un par de hermanos con deleción 3p26.3→pter sólo se identificó ligero compromiso cognitivo, dificultad para el desarrollo del lenguaje, y en el caso 1 se reportaron crisis convulsivas (característica no observada en nuestro propósito); además en este caso se corroboró mediante estudios de citogenética y molecular la misma deleción en el padre, el cual no presentaba alteraciones fenotípicas ni cognitivas.

Si bien en el caso reportado por *Chen et al*[2012]⁵¹, no es posible hacer una adecuada correlación debido a que en este se realizó interrupción del embarazo a las 24SDG y porque el punto de ruptura es diferente (en p25.3) si bien cercano a la región consenso, sí es posible definir que se identificaron dismorfias como hipertelorismo, retromicrognatia y pabellones auriculares de baja implantación, lo que apoya su participación en el fenotipo.⁵¹

Shuib et al [2009]⁷⁸ reportó 14 pacientes con microdeleciones identificadas mediante microarreglos de SNP con deleciones desde 6.3Mb hasta 12.65Mb en los que independientemente del tamaño deletado las características fenotípicas encontradas de manera casi constante fueron retraso mental y retraso en el desarrollo psicomotor; así como 5 casos con cardiopatía congénita; de éstos últimos llama la atención que el punto de ruptura de la deleción se encuentra de manera más proximal a 3p25.3 que aquellos casos que no presentan alteraciones cardiacas, por lo que podría suponerse que los genes asociados a cardiopatía en este síndrome se encuentran más proximal a esta región, lo que podría explicar la ausencia de ésta característica en nuestro propósito.

Si comparamos conjuntamente los hallazgos descritos anteriormente con las características clínicas y el tamaño y localización de la deleción encontrada en nuestro paciente (que es de 1.7Mb), podemos considerar que la monosomía parcial 3p26.3→pter no confiere características clínicas mayores por lo que se puede asumir que la haploinsuficiencia de esta región no es suficiente para generar alteraciones clínicas graves y que es posible que en los fenotipos descritos como muy afectados intervengan otros factores modificadores genéticos y ambientales.

El caso de disrupción del gen *CNTN4* (Contactina 4) descrito por *Fernández et al* [2004]⁵⁰, apoya lo mencionado en el párrafo previo, ya que este gen se localiza en 3p26, región no deletada en el propósito y se demostró que la disrupción de este sólo gen contribuye de manera importante al fenotipo clásico asociado al Síndrome de monosomía 3p.

Considerando la experiencia con que se cuenta en la actualidad, se puede sugerir que el fenotipo y las dismorfias del paciente son ocasionadas en su mayoría por un efecto sinérgico de genes presente en el segmento (trisómico) del brazo largo del cromosoma 1, y no tanto por haploinsuficiencia del brazo corto del cromosoma 3. En esta región, se ha identificado los *loci* de diferentes genes que pueden influir en el fenotipo como sucede por ejemplo en los síndromes de genes contiguos, de esta manera sabemos que en las regiones involucradas están por ejemplo en 3p los genes *CHL1*, *CNTC4*, *CRBN*, *LRRN1*, *ITPR1* y *SRGAP3* además del gen de la contactina 6 (que no ha sido considerado relevante en el fenotipo de los pacientes con alteración de esta región). Se tiene considerado hacer una correlación minuciosa de los genes involucrados en el rearrreglo cromosómico descrito en este trabajo, que nos permita establecer una adecuada correlación fenotipo-genotipo, y de ser posible el aportar información nueva que contribuya para la delimitación de la región crítica o de los genes determinantes del fenotipo tanto en el síndrome de delección 3p (OMIM:613792), como en casos de trisomía parcial 1q.

Un aspecto de gran importancia es el asesoramiento genético, en particular porque en el caso reportado en esta tesis resultó en un cromosoma der(3) con material extra del cromosoma 1 como resultado de una segregación adyacente I materna. La madre del propósito es portadora balanceada para dicha translocación, por lo que dentro del abordaje que se hizo a esta familia se consideró el establecer el riesgo de recurrencia para los individuos identificados como portadores.

En la Figura 28 se muestra un diagrama de la cruz de paquiteno formada entre ambos cromosomas derivados durante el proceso de recombinación meiótica.

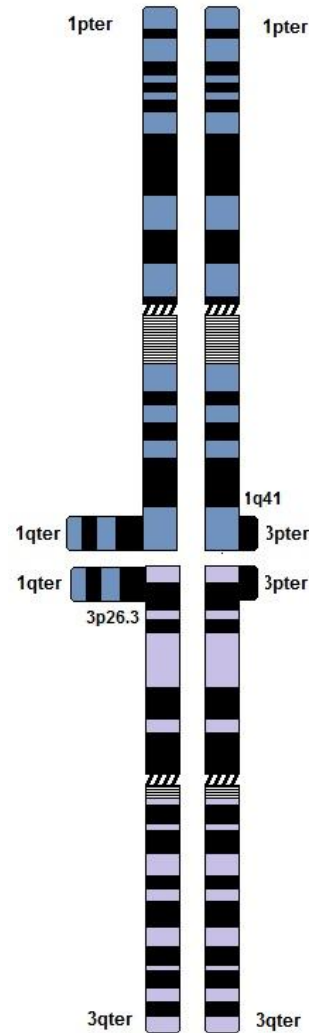


Figura 28. Cruz de paquitenos formada entre los cromosomas derivados 1 y 3, en una $t(1;3)(q41;p26.3)$.

Existen 6 posibles gametos de la segregaciones 2:2 en los individuos portadores de $t(1;3)$ balanceada (Figura 29):

- 1) Segregación alterna: Cromosoma 1 y 3 normales.
- 2) Segregación alterna: Derivado del cromosoma 1 y derivado del cromosoma 3, resultando en un individuo portador de $t(1;3)$ de manera balanceada.
- 3) Segregación adyacente I: Cromosoma 1 normal y cromosoma derivado 3, resultando en trisomía parcial $1q41 \rightarrow qter$ y monosomía parcial $3p26.3 \rightarrow pter$.
- 4) Segregación adyacente I: Cromosoma 3 normal y cromosoma derivado 1, resultando en trisomía parcial $3p26.3 \rightarrow pter$ y monosomía parcial $1q41 \rightarrow qter$.

5) Segregación adyacente II: Cromosoma 1 normal y cromosoma derivado 1, resultando en trisomía casi completa del cromosoma 1 de 1pter→1q41 y monosomía casi completa del cromosoma 3 de 3qter→3p26.3.

6) Segregación adyacente II: Cromosoma 3 normal y cromosoma derivado 3, resultando en trisomía casi completa del cromosoma 3 de 3qter→3p26.3 y monosomía casi completa del cromosoma 1 de 1pter→1q41.

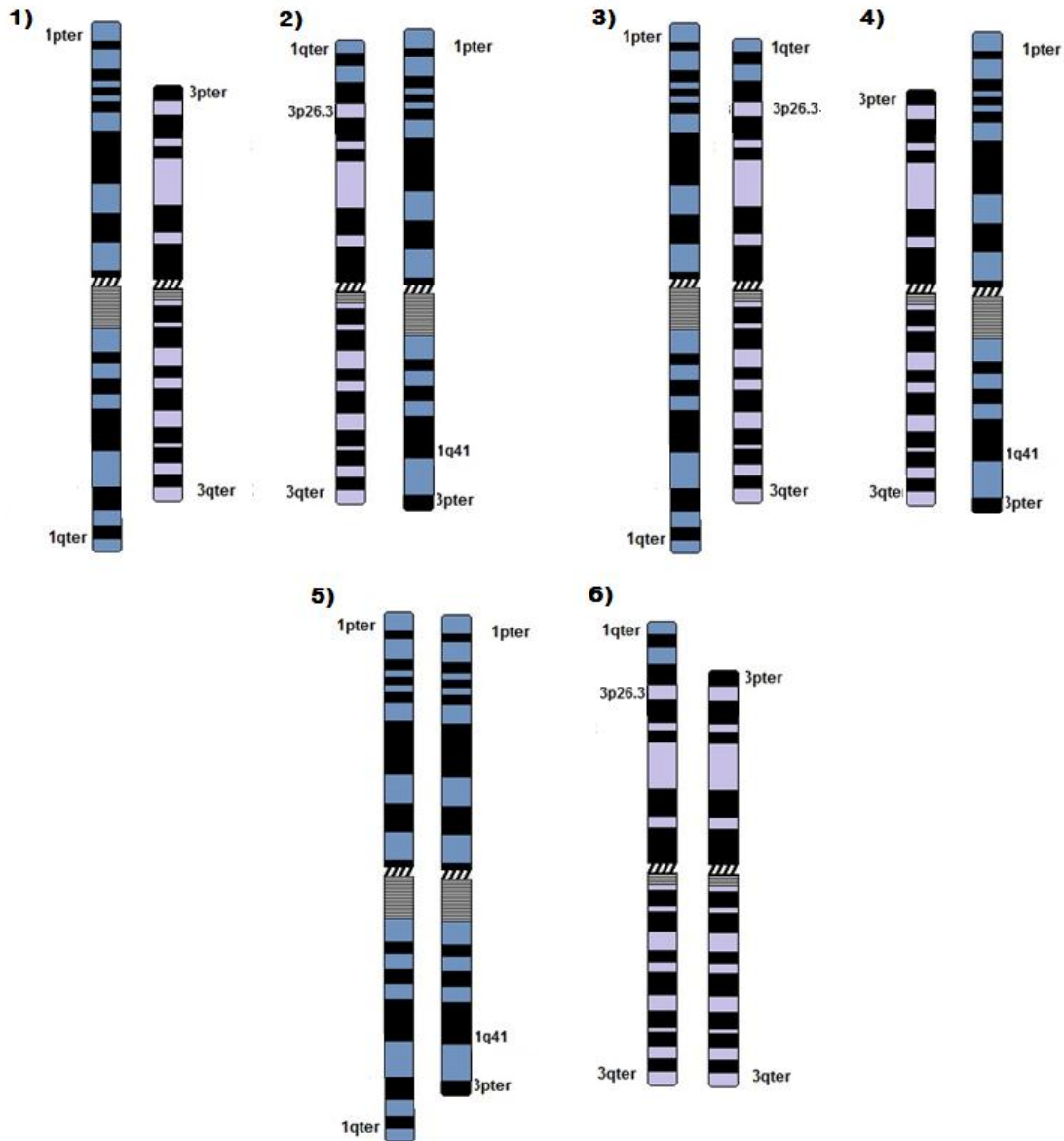


Figura 29. Gametos resultantes de cada una de las 3 segregaciones 2:2. 1 y 2) Segregación altera, 3 y 4) Segregación adyacente I, 5 y 6) Segregación adyacente II.

Ambos resultados de la segregación alterna serán individuos sanos fenotípicamente, sólo en la segunda posibilidad se tratará de individuos portadores de $t(1;3)$ de manera balanceada que tendrán los mismos riesgos de segregación para futuras concepciones.

En la posibilidad de gameto 3, referente a una segregación adyacente 1, se esperaría un fenotipo similar al observado en el propósito.

En la posibilidad de gameto 4, de segregación adyacente 1, se considera compatible con la vida ya que existen reportes previos tanto de deleciones intersticiales $1q41 \rightarrow q42$ así como de deleciones terminales de hasta 4.5Mb con adecuada sobrevivencia, el fenotipo asociado a la deleción $1q41 \rightarrow qter$ se caracteriza por dismorfias (epicanto, fisuras palpebrales oblicuas y ascendentes, puente nasal deprimido, comisuras labiales descendentes, vermillion delgado y micrognatia), además de retraso mental, autismo, hipotonía, cardiopatía congénita, llanto agudo, hipospadias, criptorquidia e hipoplasia ungueal. A su vez la trisomía parcial 3p también se encuentra en la literatura en aproximadamente 50 reportes, correlacionándose el tamaño de la región trisómica con el fenotipo, en este caso la región involucrada es pequeña. El fenotipo general asociado a $dup(3p)$ se caracteriza por braquicefalia, frontal prominente, hipertelorismo, pliegue epicántico, facies cuadradas con plenitud en mejillas, boca larga, microretrognatia y cuello corto.⁶⁸

Ambas posibilidades representadas en los puntos 5 y 6 de segregación adyacente II se consideran incompatibles con la vida, debido a que se tratan de trisomías y monosomías casi completas de los cromosomas 1 y 3.

El riesgo teórico por embarazo, independientemente del sexo del producto de presentarse una de estas 6 posibilidades de formación de gametos es de 16.66% para cada uno de ellos.

En base a los datos anteriores, considerando en conjunto los 6 gametos posibles, sólo en cuatro circunstancias se considera un producto compatible con la vida. De estas cuatro posibilidades, dos de ellas contribuirían a un fenotipo normal (ambas correspondiendo al resultado de segregación alterna); por lo que el riesgo teórico de un producto normal para un embarazo viable es del 50%, si bien debe considerarse que ello existen dos posibilidades: tratarse de un producto portador de una $t(1;3)$ balanceada o que se trate de un producto con un complemento cromosómico normal.

El riesgo de recurrencia ante un embarazo viable de tratarse de un producto portador de un cromosoma $der(3)t(1;3)(q41;p26.3)$ es del 25% y existe otro 25% de riesgo ante un embarazo viable de tratarse de un producto portador de un cromosoma $der(1)t(1;3)(q41;p26.3)$.

8. CONCLUSIONES

En esta tesis se analiza la segregación de una translocación familiar t(1;3) que involucra dos cromosomas autosómicos y se realiza la descripción clínica, citogenética y molecular del propósito y su familia. El propósito presenta una trisomía parcial 1q41 a qter y monosomía parcial 3p26.3 a pter. El estudio familiar permitió la identificación de individuos portadores de la translocación y se pudo ofrecer asesoramiento genético.

De acuerdo a lo presentado en este caso y en base tanto a los estudios de microarreglos como a la comparación con lo reportado en la literatura puede asumirse que la mayoría de las características clínicas del propósito tienen como base etiológica la trisomía parcial 1q41→qter y que la monosomía 3p26.3→pter tiene repercusiones clínicas mínimas y

Esta familia nos ejemplifica la importancia de realizar estudio citogenético a todos aquellos pacientes que cumplan con los criterios necesarios para la realización de cariotipo, así como la de realizar el estudio de manera integral a otros miembros de la misma familia para poder realizar un adecuado asesoramiento genético.

En este caso resulta importante como plan futuro el análisis de los genes involucrados en esta translocación los cuales fueron corroborados mediante estudios de mapeo basados en microarreglos, lo que contribuirá a la delineación de la participación de éstos genes, en el fenotipo y en dado caso a aportar información nueva que contribuya para la definición del síndrome por trisomía parcial de 1q41-42-qter y la delimitación de la región crítica en el síndrome de delección 3p (OMIM:613792).

9. REFERENCIAS

1. Strachan T, Read A. En: *Genética Humana*. 3ª ed. México; Mc. Graw, Hill-Interamericana; 2006.
2. Nye A, Ranjendran R, Belmont A. Chromosomes and chromatin. En: *Encyclopedia of Life Science*. John Wiley & sons, Ltd 2005; doi: 10.1038/npg.els.0005766.
3. Holland KA. Chromosomes: Nonhistone proteins. En: *Encyclopedia of Life Science*. Macmillan Publishers Ltd, Nature Publishing Group 2002; doi: 10.1038/npg.els.0001158.
4. Hirano T. At the heart of the chromosome: SMC proteins in action. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2006. 7;311-322.
5. Cortés-Ledezma F, Piccoli G, Haber J, Aragón L, Aguilera A. SMC proteins, new players in the maintenance of genomics stability. *Cell Cycle* 2007. 6;914-918.
6. Kass DH, Batzer MA. Genome Organization: Human. En: *Nature Encyclopedia of Life Science*. John Wiley & sons, Ltd 2004; doi: 10.1038/npg.els.0003855.
7. Martin CL, Ledbetter DH. Telomere. *Encyclopedia of life Science*. John Wiley & Sons, Ltd 2005; doi: 10.1038/npg.els.0005787.
8. Haaf T. Centromeres. *Encyclopedia of life Science*. John Wiley & Sons, Ltd 2006; doi:10.1002/9780470015902.a0005785.
9. Vos LJ, Famulski JK, Chan GKT. How to build a centromere: from centromeric and pericentromeric chromatinto kinetochore assembly. *Biochem Cell Biol* 2006; 84:619-639.
10. Morris CA, Moazed D. Centromere assembly and propagation. *Cell* 2007; 128(4):647-50.
11. Kitagawa K. Kinotochore: Structure, function and evolution. En: *Encyclopedia of Life Science*. John Wiley & sons, Ltd 2006; doi:10.1002/9780470015902 .a 0006237.
12. Galati A, Michela E, Chromatin structure in telomere dynamics. *Front Oncol* 2013; 3:46.

13. Cian A, Lacroix L, Douarre C, Temime-Smaali N, Trentesaux C, Riou JF, *et al.* Targeting telomeres and telomerase. *Biochimie* 2008; 90:131-155.
14. Gersen SL, Keagle MB. En: The Principles of Clinical Cytogenetics. 2005, the principles of clinical cytogenetics. 3ª ed. Estados Unidos, Totowa, N.J. : Humana Press, 2005.
15. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Thompson and Thompson Genética en Medicina. 7ª ed. Elsevier-Masson; 2010.
16. Del Castilla RV, Hernández U, Dulijh R, Zafra RG. *Genética Clínica* 1ª ed. México; Manual Moderno; 2012.
17. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Molecular Biology of the Cell. 4ª ed. Garland Science Taylor & Francis Group; Estados Unidos; 2002.
18. Kitazono A, Gerald JNF, Kron SJ. En: Cell Cycle: Regulation by Cyclins. *Encyclopedia of Life Science*. John Wiley & sons, Ltd 2005; doi: 10.1038/npg.els.0004024.
19. Stein GS, Wijnen AJ, Stein JL, Lian JB, Owen TA. Cell Cycle. En: *Encyclopedia of Life Science*. John Wiley & sons, Ltd Group 2002.
20. Tate S, Ferrigno P. Cell Cycle: Synchronization at various stages. *Encyclopedia of Life Science*. John Wiley & sons, Ltd, 2005; doi: 10.1038/npg.els.0002570.
21. Bloom J, Cross F. Multiple levels of cyclins specificity in cell-cycle control. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8:149-160.
22. Pajalunga D, Mazzola A, Franchitto A, Puggioni E, Crescenzi M. The logic and regulation of cell cycle exit and reentry. *Cell Mol Life Sci* 2008; 65:8-15.
23. Besson A, Dowdy SF, Roberts JM. CDK Inhibitors: Cell cycle regulators and beyond. *Cell* 2008; 14;149-169.
24. Novák B, Sible J, Tyson J. Checkpoints in the cell cycle. En. *Encyclopedia of Life Science*. John Wiley & sons, Ltd Group 2002; doi: 10.1038/npg.els.0001355.

25. Heideker J, Lis E, Romserberg F. Phosphatases, DNA damage checkpoint and checkpoint deactivation. *Cell Cycle* 2007; 6:3058-3064.
26. Moore CM, Best RG. Chromosome mechanics. *Encyclopedia of Life Science*. John Wiley & sons 2007; doi: 10.1002/9780470015902.a0001441.pub2.
27. Kohli J, Hartusuiker E. En: Meiosis. *Encyclopedia of Life Science*. John Wiley & sons 2008; doi: 10.1002/9780470015902.a0001359.pub2.
28. Moore CM, Best RG. En: Chromosome preparation and banding. *Encyclopedia of Life Science*. John Wiley & sons 2001.
29. Catalina P, Cobo F, Cortés J, Nieto A, Cabrera C, Montes R, *et al*. Conventional and molecular cytogenetic diagnostic methods in stem cell research: A concise review. *Cell Biology International* 2007; 31:861-869.
30. Trask BJ. Human Cytogenetics: 46 chromosomes, 46 years and counting. *Nat Rev Gen* 2002; 3:769-778.
31. McNeil N, Ried T. Novel molecular cytogenetic techniques for identifying complex chromosomal rearrangements: technology and applications in molecular medicine. *Expert Rev Mol Med* 2000; 14:1-14.
32. Snijders AM, Nowak N, Segraves R, Blackwood S, Brown N, Conroy J, *et al*. Assembly of microarrays for genome-wide measurement of DNA copy number. *Nature Genetics* 2001; 29:263-264.
33. Yunis E, Egel H, Zúñiga R, Ramírez E, De Cabellero OMT, Leibovici M. "de novo" trisomy $1q32 \rightarrow 1qter$ and monosomy $3p25 \rightarrow 3pter$. *Hum Genet* 1997; 36:113-116.
34. Ishkanian AS, Malloff CA, Watson SK, deLeeuw RJ, Chi B, Coe BP. A tiling resolution DNA microarray with complete coverage of the human genome. *Nature Genetics* 2004; 36:299-303.
35. Bejjani BA, Shaffer LG. Application of array-based comparative genomic hybridization to clinical diagnostics. *J Mol Diagn* 2006; 5:528-533.

36. Heller MJ. DNA microarray technology: Devices, systems, and applications. *Annu Rev Biomed Eng* 2002; 4:129-153.
37. CytoScan® HD Array Kit and Reagent Kit Bundle . Affymetrix biology for a better world. Disponible en: <http://www.affymetrix.com/esearch/search.jsp?pd=prod520004&N=4294967292>.
38. Luthardt F, Keitges E. En: Chromosomal syndromes and genetic disease. En: *Nature Encyclopedia of Life Science*. John Wiley & sons, Ltd 2001; doi:10.1038/npg.els.0001446.
39. Delgado AR, Galán EG. En: Asesoramiento genético en la práctica médica. Anomalías cromosómicas. Síndromes de microdelección; Ed. Médica Panamericana; 2005; 20:212-173.
40. Schinzel A. Duplication-deletion with partial trisomy 1q and partial monosomy 3p resulting from a maternal reciprocal translocation rcp (1;3) (q32;p25). *J Med Genet* 1981; 18: 64-68.
41. Robinson W, McFadden D. Chromosomal genetic disease: Numerical aberrations. En: *Encyclopedia of Life Science*. John Wiley & sons, Ltd 2002; doi: 10.1038/npg.els.0001451.
42. Moore CM, Best RG. En: Chromosome mechanics. *Encyclopedia of Life Science*. John Wiley & sons 2001; doi: 10.1002/9780470015902.a0001441.pub2.
43. Shaffer LG. Karyotype interpretation. *Encyclopedia of Life Science*. John Wiley & sons 2006; doi: 10.1038/npg.els.0005778.
44. Sillén A, Wadelius C, Annerén G. Boy With an Interstitial 1q (q31q41) Duplication Cconfirmed by Fluorescent In Situ Hybridisation. *Am J Med Gen* 1998; 80:163–168.
45. Rosenthal J, Abeliovich D, Carmi R. Clinical variability of partial duplication 1q: A clinical report and literature review. *Am J Med Gen* 1987; 27:787-792.
46. Gfatter R, Braun F, Schnedl W. The common features of patients with partial trisomy of the long arm of chromosome 1. *Clin Genet* 1998; 54:161-163.

47. Michels BB, Berseth CL, O'Brien JF, Dewald G. Duplication of part of chromosome 1 q: clinical report and review of literature. *Am J Med Gen* 1984; 18:125-134.
48. Kulikowski LD, Bellucco FTS, Nogueira SI, Christofolini DM, Smith MAC, Mello CB, *et al.* Clinical report pure duplication 1q41-qter: Further delineation of trisomy 1q syndromes. *Am J Med Gen A* 2008; 146A:2663–266.
49. Malmgren H, Shalén S, Wide K, Lundvall M, Blennow E. Distal 3p deletion syndrome. *Am J Med Genet A* 2007; 143A:2143–2149.
50. Fernández T, Morgan T, Davis N, Klin A, Morris A, Farhi A, *et al.* Disruption of *Contactin 4 (CNTN4)* results in development delay and other features of 3p deletion Syndrome. *Am J Med Gen* 2004; 74:1286-1293.
51. Chen CP, Su Yn, Chen CY, Su JW, Chern SR, Town DD *et al.* Pure partial monosomy 3p (3p25.3 / pter): Prenatal diagnosis and array comparative genomic hybridization characterization. *Taiwan J Obstet Gynecol* 2012; 51: 435-439.
52. Cargile CB, Goh DLM, Goodman BK, Chen XN, Korenberg JR, Semenza GL, *et al.* Molecular cytogenetic characterization of a subtle interstitial del(3)(p25.3p26.2) in a patient with deletion 3p Syndrome. *Am J Med Gen* 2002; 109:133–138.
53. Gunnarsson C, Bruun CF. Molecular characterization and clinical features of a patient with an interstitial deletion of 3p25.3-p26.1. *Am J Med Gen A* 2010; 152A:3110–3114.
54. Li C, Mahajan V, Wang J, Paes B. Monosomy 3pter-p25.3 and trisomy 1q42.13-qter in a boy with profound growth and developmental restriction, multiple congenital anomalies, and early death. *Pediatr Neonatol* 2013. doi: 10.1016/j.pedneo.2013.01.009.
55. Mičići MD, Mičići SR. Meiotic findings in human reciprocal 1;3 translocation. *Hum Genet* 1981; 57:442-443.
56. McCarthy GT, Fear CN, Berry AC. Three children with partial trisomy 1q and partial monosomy 3p. *Journal of Medical Genetics* 1986; 23:466-467.

57. Reiss JA, Sheffield LJ, Sutherland GR. Partial trisomy 3p syndrome. *Clinical Genetics* 1986; 30:50-58.
58. Sunaga Y, Ohtsuka T, Nagashima K, Kuroume T. Two siblings with partial trisomy 1(q42.3-ter). *Brain Dev* 1993; 15:119-124.
59. Kozma C, Slavotinek AM, Meck JM. Segregation of a t(1;3) translocation in multiple affected family members with both types of adjacent-1 segregants. *Am J Med Gen* 2004; 124A:118-128.
60. Cook PJL, Fear CN, Povey S. A 1q translocation family segregating for peptidase C. *Cytogenet. Cell Genet* 1978; 22:375-377.
61. Machlitt A, Kuepferling P, Bommer C, Koerner H, Chaoui R. Prenatal diagnosis of trisomy 1q21-qter. *Am J Med Gen A* 2005; 134A: 207-2011.
62. Rasmussen AS, Frias JL, Lafer CZ, Eunpu DL, Zackai EH. Partial duplication 1q: report of four patients and review of the literature. *Am J Med Gen* 1990; 36:137-143.
63. Peltekova IT, Macdonald A, Armour CM. Microdeletion on 3p25 in a patient with features of 3p deletion syndrome. *Am J Med Gen A* 2012; 158A:2583-2586.
64. Pohjola P, Leeuw N, Penttinen M, Kääriäinen H. Terminal 3p deletions in two families—correlation between molecular karyotype and phenotype. *Am J Med Gen A* 2010; 152A:441-446.
65. Cuoco C, Ronchetto P, Gimelli S, Béna F, Divizia MT, Lerone M, *et al.* Microarray based analysis of an inherited terminal 3p26.3 deletion, containing only the CHL1 gene, from a normal father to his two affected children. *Orphanet J Rare Dis* 2011; 6:1-6.
66. Duba HC, Erdel M, Loffler J, Bereuther L, Fischer H, Utermann B, *et al.* Detection of a de novo duplication of 1q32-qter by fluorescence in situ hybridisation in a boy with multiple malformations: further delineation of the trisomy 1 q syndrome. *J Med Genet* 1997; 34:309-313.

67. Percesepe A, Lugli L, Pierluigi M, Cavani S, Malacarne M, Roversi MF, *et al.* Research letter. pure segmental trisomy 1q42-qter in a boy with a severe phenotype. *Am J Med Gen A* 2007; 143A:2339–2342.
68. Hennekam RCM, Krantz ID, Allanson JE. En: Gorlin's Syndromes of the Head and Neck. 5ta ed. Estados Unidos; Oxford University Press; 2010; 94-102.
69. Chia NL, Bousfield LR, Poon CCS, Trudinger BJ. Trisomy (1q)(q42→qter): Confirmation of a syndrome. *Clinical Genetics* 1988; 34:224-229.
70. Concolino D, Cinti R, Ferraro L, Moricca MT, Strisciuglio P. Partial trisomy 1 (q42→qter): a new case with a mild phenotype. *J Med Genet* 1998; 35:75-77.
71. Kennerknecht I, Barbi G, Rodens K. Dup(1q)(q42+qter) Syndrome: case report and review of literature. *Am J Med Gen* 1993; 47:1157-1160.
72. Verschuuren-Bemelmans CC, Leegte B, Hodenius TMJ, Cobben JM. Trisomy 1q42→qter in a sister and brother: further delineation of the "trisomy 1q42→qter syndrome". *Am J Med Gen* 1995; 58:83-86.
73. Villa N, Sala E, Colombo D, Dell'Orto M, Grioni D, Dalprá L. Monosomy and trisomy 1q44-qter in two sisters originating from a half cryptic 1q;15p translocation. *J Med Genet* 2000; 37:612-615.
74. Polityco A, Starke H, Rumyantseva N, Claussen U, Liehr T, Raskin S. Three cases with rare interstitial rearrangements of chromosome 1 characterized by multicolor banding. *Cytogenet Genome Res* 2005; 111:171-174.
75. Coccé MC, Villa O, Obregon MG, Salido M, Barreiro C, Solé F, *et al.* Duplication dup(1)(q41q44) defined by fluorescence in situ hybridization: delineation of the 'trisomy 1q42→qter syndrome'. *Cytogenet Genome Res* 2007; 118:84-86.
76. Shin YB, Nam OB, Seo EJ, Kim HH, Chang CL, Lee EY, *et al.* Partial trisomy 1q41 syndrome delineated by whole genomic array comparative genome hybridization. *J Korean Med Sci* 2008; 23:1097-101.

77. Fernández TV, García IJG, Mason CE, Hernández ZG, Ledezma RVC, Anguiano AVM, *et al.* Molecular characterization of a patient with 3p deletion syndrome and a review of the literature. *Am J Med Gen* 2008; 146A:2746–2752.
78. Shuib S, McMullan D, Rattenberry E, Barber RM, Rahman F, Zatyka M, *et al.* Microarray based analysis of 3p25-p26 deletions (3p- Syndrome). *Am J Med Genet A* 2009; 149A:2099-2105.
79. Leisti J, Aula P. Partial trisomy 1 (q42→qter). *Clinical Genetics* 1980; 18:371-378.

10. ANEXOS

Anexo Iel: Cartas de consentimiento informado

 Ministerio de Salud Secretaría de Salud	FORMATO DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACION
CUBICULO No. <input type="text"/>	FECHA <input type="text"/>
NOTA DEL PACIENTE _____	<input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/> OTRO _____ AÑOS
PROCEDIMIENTO PROPUESTO Y EXPLICACION DEL MISMO:	
Toma de muestra <input type="checkbox"/> SANGUINEA <input type="checkbox"/> ORINA <input type="text"/>	OTRO (explique) <u>CARIOTIPO</u>
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.	
<input type="checkbox"/> _____ años de edad. Reconozco que se me explicó y entendí el procedimiento para realizar los exámenes, estoy enterado de los beneficios, sé de los riesgos y las probables complicaciones que se me pueden presentar. Consciente de que se busca un beneficio, doy mi consentimiento sin obligación y por decisión propia para que los exámenes se efectúen así mismo para realizar la atención de contingencias y urgencias derivadas del acto autorizado, con base al principio de libertad prescripta.	
FIRMA DEL PACIENTE O SU REPRESENTANTE LEGAL _____	
TESTIGO FAMILIAR (Nombre y Firma) _____	
TESTIGO SUPERVISOR (Nombre y Firma) _____	
NOMBRE Y FIRMA DEL FLEBOTOMISTA _____	
Este consentimiento deberá firmarse para todo procedimiento de Toma de Muestras en el Laboratorio a realizarse en todo paciente sin excepción alguna. El responsable de recibido es quien vaya a realizar el 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 cto. IV, Art. 80,81,82, y 83, NOM-165-SSA1-1995.	



HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO
 FEDERICO GÓMEZ
 INSTITUCIÓN DE SERVICIO MÉDICO, ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN, AFILIADA A LA UNAM

HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA TOMA DE MUESTRA DE
 ADN PARA EVALUACIÓN DIAGNÓSTICA

México D.F., a _____ de _____ de 2012.

Por medio de la presente autorizamos al Dr. (a) _____ para realizar el siguiente procedimiento:

1.- Extracción de 5ml de sangre venosa del brazo de nuestro (a) hijo (a)

Nombre: _____

El propósito de la toma de la muestra es la obtención de ADN para realizar el estudio de _____

Nuestro consentimiento se condiciona a que se mantenga en forma confidencial los datos de nuestro hijo (a) y nuestra familia. Entendemos que el procedimiento de obtención de sangre puede causar molestias.

Nuestra firma en este documento manifiesta nuestra participación voluntaria, la responsabilidad de los investigadores respecto a nuestras personas y nuestros derechos y que podemos terminar en cualquier momento la participación en este estudio sin que se perjudique la futura atención de nuestro hijo (a). Se nos entrega una copia de documento.

La información anterior fue explicada por _____

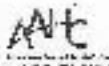
Para cualquier duda contactar a la Dra. Verónica Fabiola Manda Barroso en el Departamento de Genética del Hospital Infantil de México Federico Gómez Tel: 52 28 95 17 Ext. 2037 o a la Dra. Rebeca Gómez-Claos Volaseu, Subdirectora de Pediatría Ambulatoria.

Nombre y Firma de la Madre o Tutor _____

Testigo _____

Nombre y Firma del Paciente (Hijo) _____

Testigo _____



INSTITUCIÓN DE SERVICIO MÉDICO, ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN, AFILIADA A LA UNAM
 Dr. Márquez 182, Col. Doctores C.P. 06702 México, D. F.
 Teléfono: 52 28 99 17 www.himig.unam.mx



ANEXO II: Cariotipo con técnica de bandas GTG

Procedimiento para el cultivo de linfocitos de sangre periférica para la realización de cariotipo:

- 1) Se obtienen 1.5ml de sangre periférica por punción directa, en jeringa previamente heparinizada con 0.1ml de heparina sódica de 1,000 UI.
- 2) Se agregan 700µl de muestra en 2 tubos de ensayo Falcon desechables de polipropileno esterilizados.
- 3) Se agregan 5ml de medio de cultivo PB-MAX (contiene RPMI 1640, fitohemaglutinina, suero bovino fetal, antibióticos estreptomycin y penicilina, L-glutamina).
- 4) Se incuba por 72 horas a 37-37.5°C.
- 5) A las 72 hrs se agregan 20µl de colchicina a cada tubo, se agita y se incuban 30min más a 37-37.5°C.
- 6) Se centrifuga por 10 minutos a 2,500rpm.
- 7) Se decanta el sobrenadante y se resuspende agitando en vortex y se agrega solución hipotónica para completar un volumen de 12ml.
- 8) Se incuba 30 minutos a 37-37.5°C.
- 9) Centrifugar 10 minutos a 2,500rpm.
- 10) Con pipeta se retira el sobrenadante y en agitación se agrega fijar frío o solución de Carnoy, gota a gota para completar un volumen de 80ml.
- 11) Se refrigera por 20 minutos.
- 12) Se centrifuga y se retira el sobrenadante, se lleva a un volumen de 8ml para el primer lavado.
- 13) Se centrifuga nuevamente, se retira el sobrenadante y se lleva a un volumen de 6ml para el segundo lavado.
- 14) Se gotea el cultivo en laminillas de vidrio y se revisa el material determinando la calidad y cantidad de metafases presentes.
- 15) Las laminillas obtenidas se incuban en una estufa a 60°C por espacio de 24 horas.
- 16) Sumergir de 10-30 segundos una laminilla en el primer coplin, (digestión)
- 17) Sacar la laminilla al termino del tiempo y enjuagarla en el segundo coplin (parar actividad)
- 18) Sumergir la laminilla en el siguiente coplin 2 minutos (tinción con Wrigth)
- 19) Sumergir la laminilla en el siguiente coplin 2 minutos (tinción con Giemsa)
- 20) Sumergir y enjuagar la laminilla en el vaso de precipitados
- 21) Secar
- 22) Montar inmediatamente con 3 gotas de entellán y cubreobjetos
- 23) Revisar la calidad de las bandas
- 24) Dejar secar a temperatura ambiente

Referencias:

Moore CM, Best RG. En: Chromosome Mechanics. *Encyclopedia of Life Science*. John Wiley & sons 2001; doi: 10.1002/9780470015902.a0001441.pub2.

Shaffer LG. Karyotype Interpretation. *Encyclopedia of Life Science*. John Wiley & sons 2006; doi: 10.1038/npg.els.0005778.

ANEXO III: Técnica de FISH (Hibridación *in situ* con fluorescencia)

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

Referencia:

Sillén A, Wadelius C, Annerén G. Boy With an Interstitial 1q (q31q41) Duplication Confirmed by Fluorescent In Situ Hybridisation. *Am J Med Gen* 1998; 80:163–168.

ANEXO IV: Técnica de mapeo genómico con microarreglo Cytoscan HD (Affymetrix Inc., Santa Clara, CA, USA):

- 1) Procesamiento de la muestra: Se extrae DNA genómico a partir de una muestra de sangre periférica (3 mL) utilizando el *kit* Versagene DNA Purification (Gentra Systems Inc., Minneapolis, MN, USA), el cual se basa en la lisis celular con detergentes y purificación del DNA mediante columnas de afinidad (silica).
- 2) Se lleva a cabo el mapeo genómico con un microarreglo Cytoscan HD (Affymetrix Inc., Santa Clara, CA, USA), el cual contiene aproximadamente 2.7 millones de sondas con una distribución promedio de 1.1 kb en el genoma
- 3) Desarrollo experimental: Se digieren 250 ng de DNA genómico con la enzima de restricción Nsp I; a los fragmentos resultantes (150-2000 pb) se les ligan adaptadores de doble cadena provistos en el kit, utilizando T4 DNA ligasa.
- 4) Se realiza PCR para enriquecer la muestra, utilizando oligonucleótidos iniciadores dirigidos a las secuencias adaptadoras.
- 5) Los productos de PCR se purifican utilizando perlas de afinidad magnéticas, y se resuspenden en agua ultrapura obteniéndose una concentración adecuada para continuar con su procesamiento ($>3 \mu\text{g}/\mu\text{l}$). Dichos productos son digeridos con DNasa I para generar fragmentos de 25-125 pb, y posteriormente ser marcados con biotina en el extremo 3'-OH.
- 6) Hibridación y cuantificación: Se prepara una mezcla de hibridación conteniendo el DNA marcado, reactivo de Denhardt, DNA de arenque y DNA Cot-1, entre otros, se desnaturaliza la muestra a 95° C por 10 minutos, se estabiliza a 49°C por un minuto y se inyecta la muestra al microarreglo.
- 7) La hibridación se lleva a cabo durante 18 horas a 50°C en un horno de hibridación rotatorio (60 rpm) y una vez transcurrido el tiempo, el microarreglo es lavado y teñido en la Estación de Fluidos 450 (Affymetrix Inc.), de acuerdo con el protocolo programado por la compañía proveedora.
- 8) El microarreglo se mantiene en oscuridad hasta el momento de su cuantificación, mediante el escáner GeneChip 3000 7G (Affymetrix Inc.).
- 9) Análisis de número de copias:
- 10) Los datos se analizan con el programa Chromosome Analysis Suite 1.2.2 (Affymetrix Inc.), utilizando como referencia el conjunto de controles provistos en el mismo (n=270). Los parámetros de análisis son: resolución de 50 kb y un mínimo de 390 marcadores.
- 11) Se utiliza la función Joining para fusionar interrupciones menores a 200 kb.
- 12) El mapeo se realiza con base en el ensamble Feb 2009 (GRCh 37/hg19) del genoma humano.