



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

**PERFIL DE LAS ALTERACIONES NUMÉRICAS Y ESTRUCTURALES  
 DE LOS CROMOSOMAS AUTOSÓMICOS DE PACIENTES ATENDIDOS  
 EN EL HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ  
 DE 2001 A 2012. ANÁLISIS DE DOS CASOS.**

**T E S I S**

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

PRESENTA:

**DRA. PAULINA MARÍA NÚÑEZ MARTÍNEZ**



**DIRECTOR DE TESIS : DRA. VERÓNICA FABIOLA MORÁN BARROSO**

**ASESOR DE TESIS: DRA. CONSTANZA GARCÍA DELGADO  
 M. EN C. ALICIA BEATRIZ CERVANTES PEREDO**

MÉXICO, D.F. FEBRERO 2015



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.

**DRA. REBECA GÓMEZ CHICO VELASCO  
DIRECTORA DE ENSEÑANZA Y DESARROLLO ACADÉMICO  
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ**

*Verónica Fabiola Morán Barroso*  
**TUTORA: DRA. VERÓNICA FABIOLA MORÁN BARROSO  
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE GENÉTICA  
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ**

*Constanza García Delgado*  
**ASESOR DE TESIS: DRA. CONSTANZA GARCÍA DELGADO  
MÉDICO ADSCRITO AL DEPARTAMENTO DE GENÉTICA  
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ**

*Alicia Beatriz Cervantes Peredo*  
**ASESOR DE TESIS: M. EN C. ALICIA BEATRIZ CERVANTES  
PEREDO  
SERVICIO DE GENÉTICA  
HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO DR. EDUARDO LICEAGA,  
FACULTAD DE MEDICINA, UNAM**

## DEDICATORIA

*Mamá, papá y Federico, porque todo lo que soy es gracias a ustedes. Gracias por estar conmigo siempre.*

*A David, por todo el apoyo durante estos años y no dejarme dar por vencida.*

*A mis abuelos por su amor y apoyo incondicional.*

*A la Dra. Verónica Fabiola Morán Barroso y M. en C. Alicia Cervantes Peredo por todo el apoyo y enseñanzas.*

*Dra. Constanza García Delgado y Dr. Francisco Flores Ramírez por su empeño en fomentar mi educación.*

*A mis compañeros, que más que eso son mis amigos, por todas las experiencias vividas y su apoyo.*

## Resumen

**Introducción.** Las alteraciones cromosómicas se encuentran en el 1% de los recién nacidos vivos y constituyen una de las alteraciones más frecuentemente abordadas en la consulta de Genética. En este trabajo se realizó el análisis estadístico de las alteraciones cromosómicas reportadas en el Laboratorio de Citogenética del Departamento de Genética el Hospital Infantil de México Federico Gómez en el período enero de 2001 a diciembre 2012, en particular en relación a anillos autosómicos y se analizaron dos casos con técnicas moleculares.

**Material y métodos.** La metodología se dividió en dos secciones: estadística y clínica. Para la sección estadística se revisaron las libretas de los estudios de cariotipo con bandas GTG reportados desde enero de 2001 hasta diciembre de 2012. Para la sección clínica se identificaron pacientes que tenían reporte de anillo cromosómico en autosomas. Se analizaron los casos de dos pacientes con anillo del cromosoma 9 y 14 respectivamente. Se realizó estudio citogenético y de citogenética-molecular por hibridación *in situ* con fluorescencia y microarreglos Cytoscan de alta densidad.

**Resultados.** Durante el periodo analizado se realizaron 8,060 cariotipos de los cuales 1,915 (30.47%) presentaron alguna alteración cromosómica. En los autosomas se identificaron 1,566 alteraciones y de ellas 302 (19.28%) correspondieron a alteraciones estructurales encontrándose un cromosoma en anillo en 11 pacientes (0.7%). En dos casos se caracterizaron los anillos empleando hibridación *in situ* con sondas subteloméricas y un cariotipo molecular con microarreglos de SNP de alta densidad.

El caso clínico 1 es un masculino de 5 años con diagnóstico de retraso en el desarrollo psicomotor, microcefalia y dismorfias. El estudio citogenético reportó un anillo en el cromosoma 9. El estudio de FISH identificó pérdida de las regiones subteloméricas y con el análisis de los datos obtenidos de un microarreglo de alta densidad se identificaron los puntos de ruptura en 9p24.3 con pérdida de sólo 0.15 Mb y en 9q34.3 con delección de 0.6 Mb, lo cual llevó a la pérdida de solo 6 genes codificantes.

El segundo caso es un femenino de 11 años 10 meses con diagnóstico de discapacidad intelectual, microcefalia, dismorfias y crisis convulsivas de difícil control. El estudio citogenético reportó un anillo del cromosoma 14. Posteriormente se realizó FISH confirmando pérdida de la región subtelomérica 14q y con el análisis con microarreglo de SNP de alta densidad se identificaron pérdidas de material genético en 14q11.2 (0.53Mb) y en la región 14q32.33 pérdida de 1.9Mb, ganancia de 0.4Mb y pérdida de 0.61Mb.

También se encontró la presencia de 3 copias de la region 13q12.11 (0.43Mb). Asimismo se reportaron pérdidas de mayor tamaño en 14q11.2 (2.5Mb) y 14q32.2-q34.33 (6.6Mb) en forma de mosaico. Se identificaron 38 genes deletados en la región 14q32.33.

**Discusión.** En relación al tipo y frecuencia de las alteraciones cromosómicas con los resultados obtenidos en el presente trabajo se demuestra que el 30.47% de los cariotipos solicitados tienen alguna alteración cromosómica, porcentaje similar a lo reportado en la literatura, siendo las alteraciones numéricas las más frecuentes (74%) y en segundo lugar las estructurales (18%). El fenotipo de los pacientes con anillo cromosómico comparte muchas de las manifestaciones clínicas reportadas en los síndromes por deleción de las regiones subteloméricas del cromosoma implicado, sin embargo, el anillo se asocia además, a inestabilidad mitótica y mosaicismo dinámico por lo que el fenotipo del paciente es mucho mas complejo que en un síndrome puro por deleción. Ambos casos reportados en este trabajo correspondieron a alteraciones cromosómicas estructurales *de novo*.

**Conclusiones.** Este es un registro y análisis de trascendencia ya que hasta donde sabemos no hay registros sistematizados de alteraciones cromosómicas en nuestro país y este registro refleja lo que ocurre en una población particular de pacientes de un centro de atención de tercer nivel que es además un centro de concentración nacional para estas alteraciones. El anillo del cromosoma 9 se derivó de ruptura en ambos brazos cromosómicos con la posterior fusión de estos extremos causando pérdida de material genético en regiones subteloméricas. Entre otras alteraciones, el paciente presentó datos clínicos compatibles con el síndrome de Kleefstra producido por haploinsuficiencia del gen *EHMT1*. En el anillo del cromosoma 14 el mecanismo de formación probablemente se debe a una inversión, duplicación y deleción. Podemos considerar que el fenotipo de la paciente es el resultado de la pérdida de material genético en la región 14q32.2-qter así como por la inestabilidad del anillo.

## ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	9
1.1 Historia de la citogenética.....	9
1.2 Cromosomas.....	11
1.2.1 Estructura.....	11
1.3 Ciclo celular.....	13
1.3.1 Interfase.....	14
1.3.2 Mitosis.....	14
1.3.3 Meiosis.....	16
1.3.4 Mecanismos de regulación del ciclo celular.....	18
1.4 Cariotipo humano.....	20
1.5 Alteraciones cromosómicas.....	22
1.5.1 Alteraciones numéricas.....	22
1.5.2 Alteraciones estructurales.....	22
1.6 Técnicas de citogenética y citogenética-molecular.....	27
1.6.1 Cariotipo con técnicas convencionales.....	27
1.6.2 1 <i>in situ</i> con fluorescencia (FISH).....	29
1.6.3 Hibridación genómica comparativa (CGH).....	31
1.6.4 Cariotipo molecular.....	31
1.7 Abordaje del paciente con probable cromosomopatía.....	32
1.7.1 Indicaciones de cariotipo.....	33
1.8 Síndrome del anillo cromosómico.....	34
1.9 Cromosoma 9.....	35
1.9.1 Síndrome del anillo del cromosoma 9.....	37
1.9.2 Síndrome por deleción 9p.....	38
1.9.3 Síndrome por deleción 9p24.3.....	39
1.9.4 Síndrome por deleción 9q34.3.....	40
1.10 Cromosoma 14.....	41
1.10.1 Síndrome del anillo del cromosoma 14.....	43
1.10.2 Síndrome por deleción 14q32-qter.....	44
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	46
3. JUSTIFICACIÓN.....	47
4. OBJETIVOS .....	48
4.1 Objetivo principal.....	48

4.2 Objetivos secundarios.....	48
5. MATERIAL Y MÉTODOS.....	49
5.1 Metodología del análisis estadístico.....	49
5.2 Metodología clínica.....	49
5.3 Diseño del estudio.....	51
5.3.1 Variables.....	51
5.3.2 Criterios de selección.....	51
5.3.3 Criterios de selección de pacientes.....	51
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	52
6.1 Resultados del análisis estadístico.....	52
6.2 Discusión de los resultados estadísticos.....	55
7. PRESENTACIÓN DE CASOS.....	58
7.1 Caso clínico 1.....	58
7.1.1 Estudios de citogenética.....	61
7.1.2 Estudio de citogenética-molecular.....	63
7.1.3 Discusión caso clínico 1.....	66
7.2 Caso clínico 2.....	70
7.2.1 Estudio de citogenética.....	72
7.2.2 Estudio de citogenética-molecular.....	74
7.2.3 Discusión caso clínico 2.....	79
8. CONCLUSIONES GENERALES.....	84
9. REFERENCIAS.....	86
ANEXOS .....	95



# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Historia de la citogenética

Las primeras ilustraciones de los cromosomas humanos fueron publicadas por el austriaco Walther Flemming en 1882, quien también fue el primero en usar el término mitosis.<sup>1</sup> Heinrich Wilhelm Gottfried Waldeyer fue quien designó el término cromosoma, palabra que viene del griego *khroma* que significa color y *soma* que significa cuerpo, refiriéndose a las estructuras que se encuentran dentro del núcleo de nuestras células en donde se encuentra el material genético.<sup>2</sup> Sin embargo, fue hasta 1956 cuando Joe Hin Tjio y Albert Levan reportaron que el número cromosómico de los humanos es de 46.<sup>3</sup>

A lo largo del tiempo se han empleado diferentes técnicas para el estudio de los cromosomas. Torbjörn Caspersson a finales de los años 60 observó que al teñir cromosomas de plantas con quinacrina fluorescente, éstos no fluorecían de manera uniforme, sino que se producían áreas brillantes y otras opacas en el cromosoma y que no todos los cromosomas se teñían de la misma manera sino que tenían diferentes patrones.<sup>2,4</sup> Las regiones del genoma ricas en adenina y timina producían una fluorescencia intensa, mientras que las regiones ricas en guanina y citosina tenían una fluorescencia menor.<sup>4</sup> En 1970, Caspersson con la técnica de bandas Q (en la cual se utiliza mostaza de quinacrina) estableció el patrón de bandas de cada cromosoma humano, lo cual facilitaría su estudio<sup>5</sup> (Figura 1).



**Figura 1.** Primera fotografía de las bandas Q. Imagen modificada de Caspersson T, *et al.*, 1970.<sup>5</sup>

A principios de los años 70 las bandas G reemplazaron a las bandas Q, esta técnica utiliza Giemsa para teñir los cromosomas.<sup>6</sup> Las bandas G tienen la ventaja de producir bandas permanentes que pueden ser visualizadas por microscopia sin necesidad de utilizar sustancias tóxicas fluorescentes.<sup>4</sup> Hoy en día contamos con diferentes técnicas de bandas para el estudio de las alteraciones cromosómicas, como las bandas G, R, C y NOR cada una de las cuales tiene propiedades y aplicaciones específicas.<sup>7</sup> El número total de bandas o resolución en el cariotipo humano depende de la condensación de los cromosomas y en que etapa de la mitosis se encuentren. En una resolución de 2000 cada banda contiene 1.5 Mb de DNA, mientras que con una de 300 cada banda contendrá 7-10 Mb de DNA.<sup>4,8</sup>

El punto de partida de la citogenética molecular se remonta a los primeros experimentos de hibridación en 1969 por Joe Gall y Mary Lou Pardue.<sup>9</sup> Hacia principios de la década de los 80 se desarrollaron metodologías de hibridación *in situ* DNA-RNA con marcaje radioactivo. Un avance importante en el desarrollo de las técnicas de hibridación *in situ* fue su detección por métodos no radioactivos, utilizando técnicas de inmunofluorescencia.<sup>10</sup> En 1986, Pinkel D, *et al.* desarrollaron la técnica hibridación *in situ* con fluorescencia o FISH por sus siglas en inglés.<sup>11,12,13</sup> Esta técnica consiste en utilizar una sonda de DNA marcada con un fluorocromo o fluoróforo, la cual hibrida a una region específica del genoma de interés.<sup>7,10</sup>

La hibridación genómica comparativa (CGH) descrita por Kallioniemi A, *et al.*<sup>14</sup> en 1992, consiste en la hibridación de metafases normales con una mezcla de DNA genómico de un individuo normal marcado con un fluorocromo y DNA genómico del individuo en estudio marcado con otro fluorocromo diferente<sup>15</sup> obteniéndose un nivel de resolución de 4-5 Mb.<sup>16</sup> Posteriormente se desarrolló la técnica de hibridación genómica comparativa empleando microarreglos, aCGH.<sup>17</sup> En esta técnica se utiliza un soporte sólido en el que se fijan de manera ordenada regiones representativas del genoma (sondas) para realizar la hibridación y tiene una resolución 100 veces superior al cariotipo convencional.<sup>18</sup> En 1998 se desarrolló la técnica de microarreglos de polimorfismos de un solo nucleótido (SNPa) la cual permite identificar tanto pérdidas y ganancias de material genética como pérdida de heterocigocidad.<sup>18</sup> El uso de estas técnicas nos permite identificar pérdidas o ganancias de material genético no detectadas por técnicas de citogenética convencional.

## 1.2 Cromosomas

### 1.2.1 Estructura

El genoma contenido en el núcleo de las células somáticas humanas está dispuesto en 46 cromosomas (número diploide,  $2n$ ), distribuido en 23 pares. Los primeros 22 pares corresponden a los autosomas y el par restante corresponde a los cromosomas sexuales. Los gametos tienen 23 cromosomas que corresponden al número haploide o  $1n$ .<sup>19</sup>

Los cromosomas se analizan durante la metafase, en la cual cada uno de ellos consta de dos cromátidas hermanas unidas por el centrómero o constricción primaria que es la región más estrecha del cromosoma y lo divide en brazo corto que se designa p (*petit* en francés) y en brazo largo llamado q.<sup>20</sup>

El centrómero es esencial para la segregación durante la división celular, durante la profase tardía de la mitosis se forman en cada centrómero un par de complejos llamados cinetocoros, los cuales controlan el ensamblado y desensamblado de los microtúbulos, y a través de proteínas motoras permiten el movimiento de cada cromátida hacia los polos opuestos.<sup>21</sup> De esta forma se produce la segregación ordenada de los cromosomas y cada célula hija recibe una cromátida de cada cromosoma.<sup>20,22,23</sup>

El centrómero está constituido por DNA y proteínas no histónicas, llamadas CENP (CENPA, CENPB y CENPC), proteínas pasajeras como INCENP, survivina, borealina y Aurora B. Estas cuatro proteínas forman el complejo CPC (del inglés *chromosome passenger complex*) el cual regula la alineación de los cromosomas en la placa ecuatorial y su segregación durante la mitosis. Un componente principal del DNA centromérico es el DNA alfa-satélite constituido por una secuencia repetida en tándem de 171 pares de bases.<sup>20,23</sup>

El DNA alfa-satélite tipo I está asociado con la formación de heterocromatina constitutiva y contiene una secuencia de 17 pares de bases conocida como caja CENPB que corresponde con el sitio de unión de esta proteína. El DNA alfa-satélite II generalmente flanquea al del tipo I y a menudo está entremezclado con secuencias de tipo LINE y SINE.<sup>20,22,24</sup>

La proteína CENPA, una variante de histona H3, es esencial para la formación de centrómeros y cinetocoros.<sup>25,26</sup> CENPB es una proteína de unión al DNA, parece no ser un componente esencial ya que no se encuentra en neocentrómeros funcionales. Se cree que podría evitar la formación de nuevos centrómeros en células que ya tengan un centrómero activo.<sup>21</sup> La proteína CENPC se relaciona con los centrómeros activos<sup>20</sup> y constituye la placa interna del cinetocoro, esta proteína es importante para la adecuada segregación de los cromosomas, la función de los puntos de control de la mitosis y el ensamblaje del cinetocoro.<sup>23</sup>

Contiguas a los centrómeros se encuentran las regiones denominadas pericentroméricas ricas en heterocromatina constitutiva, cuyas secuencias son ricas en citosina y guanina, y están organizadas como dinucleótidos CpG altamente repetitivos (que constituyen la constricción secundaria). Los cromosomas humanos 1, 9, 16 y el Y son ricos en heterocromatina constitutiva, visible al microscopio de luz blanca como bloques hipercromáticos en las regiones pericentroméricas.<sup>24</sup> Los cromosomas acrocéntricos contienen tallos y satélites, en los tallos se encuentran las regiones organizadoras nucleolares (NOR) en donde se localizan los genes que codifican para RNA ribosomales.<sup>27</sup>

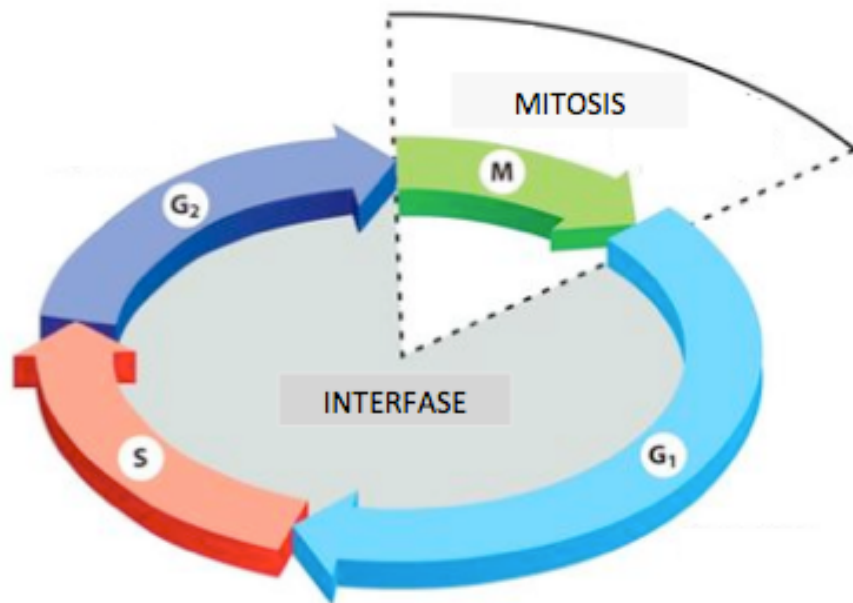
Los extremos de los cromosomas corresponden a los telómeros, la palabra telómero proviene del griego *telos* que significa extremo y *meros* que significa parte o región.<sup>28</sup> Sus principales funciones son conservar la integridad estructural del cromosoma, asegurar la replicación completa del DNA y proteger contra la pérdida de regiones codificantes.<sup>29</sup>

Los telómeros están constituidos por múltiples copias de la secuencia del hexanucleótido TTAGGG con longitud de hasta 10-15 kb, generalmente esta secuencia telomérica es más rica en G en una de las hebras, la que forma el extremo 3', y sobresale unos 12-16 nucleótidos sobre la hebra que aporta el extremo 5'.<sup>30,31</sup> En esta región cromosómica actúa la enzima telomerasa, una telomerasa inestable o defectuosa ocasionará un acortamiento de los cromosomas, llevando a una inestabilidad cromosómica y a la muerte celular.<sup>30,32</sup>

Las secuencias teloméricas de doble cadena son unidas directamente por dos proteínas de unión al DNA, llamadas TRF1 y TRF2. TRF2 es importante para la protección del telómero y TRF1 modula la longitud del telómero y también facilita la replicación del DNA al regular la actividad de la telomerasa.<sup>31</sup> Los telómeros tienen un complejo proteico llamado shelterina, el cual protege y regula la longitud del telómero, interactuando con la enzima telomerasa para evitar que el telómero se acorte en cada proceso de replicación del DNA.<sup>33</sup>

### 1.3 Ciclo celular

El ciclo celular consta de dos fases principales: interfase y fase M o de división celular (Figura 2). La interfase comprende tres etapas que se denominan G<sub>1</sub>, S y G<sub>2</sub>.



**Figura 2.** Fases del ciclo celular. Se muestran las dos principales etapas del ciclo celular: interfase y división celular o mitosis. Imagen modificada de Alberts B, *et al.*, 2008.<sup>34</sup>

#### 1.3.1 Interfase

En el período de interfase se realiza una gran actividad metabólica, es en este período del ciclo celular en donde ocurren los eventos de proliferación y crecimiento celular.<sup>35</sup> Es el segmento del ciclo celular con mayor duración y se puede subdividir para su estudio en tres períodos: G<sub>1</sub>, S y G<sub>2</sub>. Durante G<sub>1</sub> se produce síntesis de proteínas y de RNA, las células son diploides con una copia de cada cromosoma. Las células pueden a su vez, abandonar el ciclo celular y entrar en un proceso de diferenciación o bien pasar a un estado quiescente, esta fase es llamada G<sub>0</sub>.<sup>36</sup>

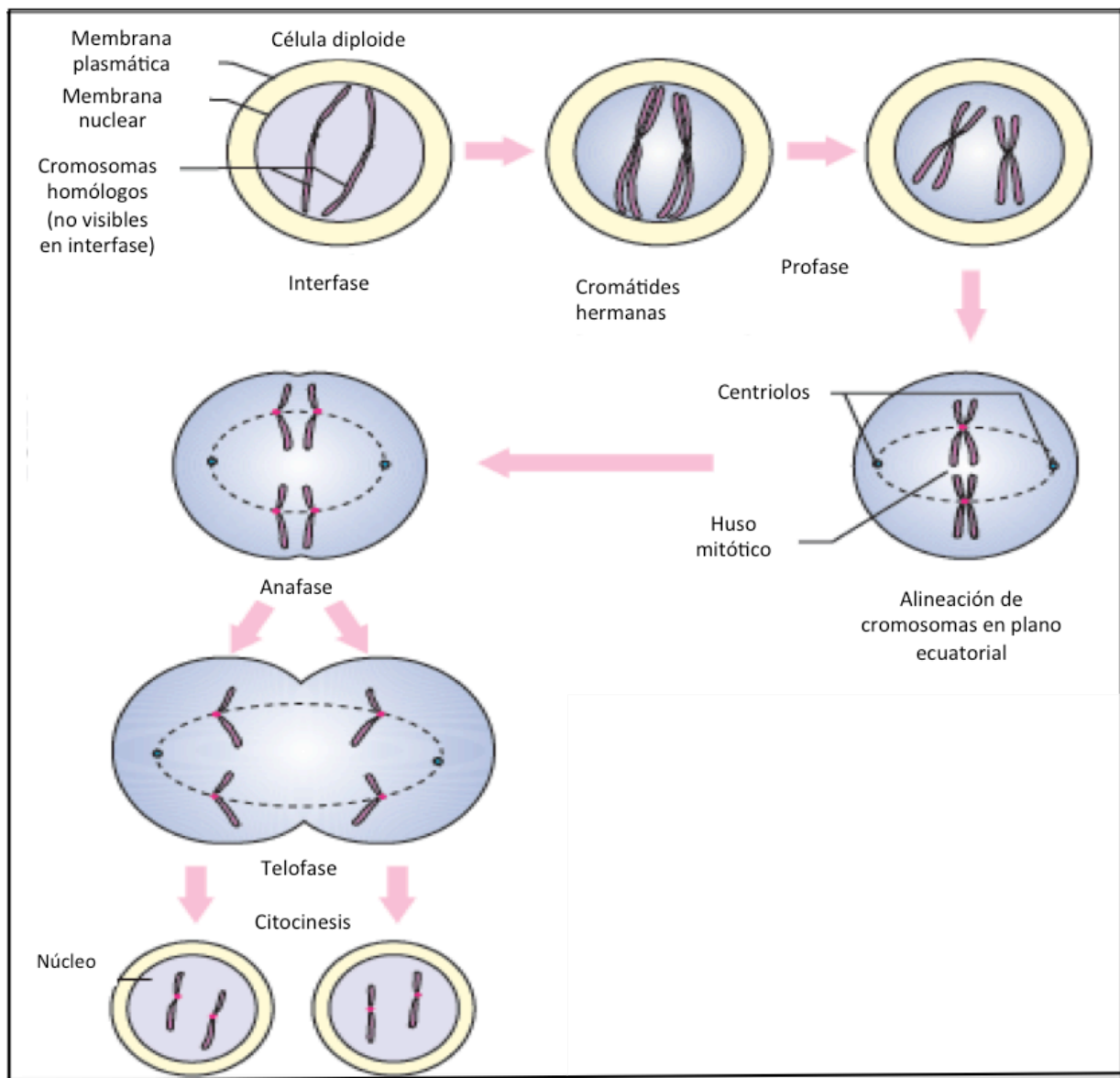
La replicación de la cromatina tiene lugar en la fase S, al final de la cual aunque las células permanecen diploides, cada cromosoma se compone de dos cromátides hermanas unidas por el centrómero y son tetraploides en contenido de DNA.<sup>36</sup>

Durante la fase G2 se lleva a cabo la mayor parte de la reparación del DNA y se siguen sintetizando RNA y proteínas. En este período la célula se prepara para la mitosis, cuando se alcanza la fase G2, la célula contiene dos copias idénticas de cada uno de los 46 cromosomas. La transición de una a otra etapa esta controlada por mecanismos moleculares complejos y puntos de control.<sup>37</sup>

### **1.3.2 Mitosis**

La mitosis es la división celular en donde se originan dos células hijas, cada una de ellas con la misma información genética que la célula original.<sup>38</sup> El proceso de la mitosis es continuo y se distinguen 5 etapas: profase, metafase, anafase, telofase y citocinesis.<sup>39</sup> A continuación se describen cada una de las etapas (Figura 3):

- Profase: Se lleva al cabo la condensación de los cromosomas, la formación del huso mitótico y desaparece la membrana nuclear, los cromosomas comienzan a migrar al plano ecuatorial.
- Metafase: Los cromosomas alcanzan su máxima condensación y se alinean en el plano ecuatorial.
- Anafase: Las cromátidas hermanas de los cromosomas se separan y migran hacia los polos opuestos.
- Telofase: Los cromosomas comienzan a descondensarse, se empieza a formar membrana nuclear alrededor de cada núcleo hijo y comienza a dividirse el citoplasma.
- Citocinesis: Se divide el citoplasma para dar lugar a dos células hijas.



**Figura 3.** Mitosis. En esta imagen se observan las diferentes etapas de la mitosis para generar dos células hijas con complemento diploide. Imagen modificada de Passarge E., 2007.<sup>40</sup>

### 1.3.3 Meiosis

La meiosis incluye dos divisiones celulares sucesivas con una sola ronda de replicación del DNA.<sup>41</sup> La primera división meiotica es una división reduccional en donde se forman dos células haploides a partir de una célula diploide. En la meiosis I se produce la recombinación genética, en donde se intercambian segmentos homólogos de DNA entre cromátidas no hermanas de las parejas de cromosomas homólogos, lo que asegura que ninguno de los gametos producidos por meiosis sea idéntico a otro.<sup>2</sup>

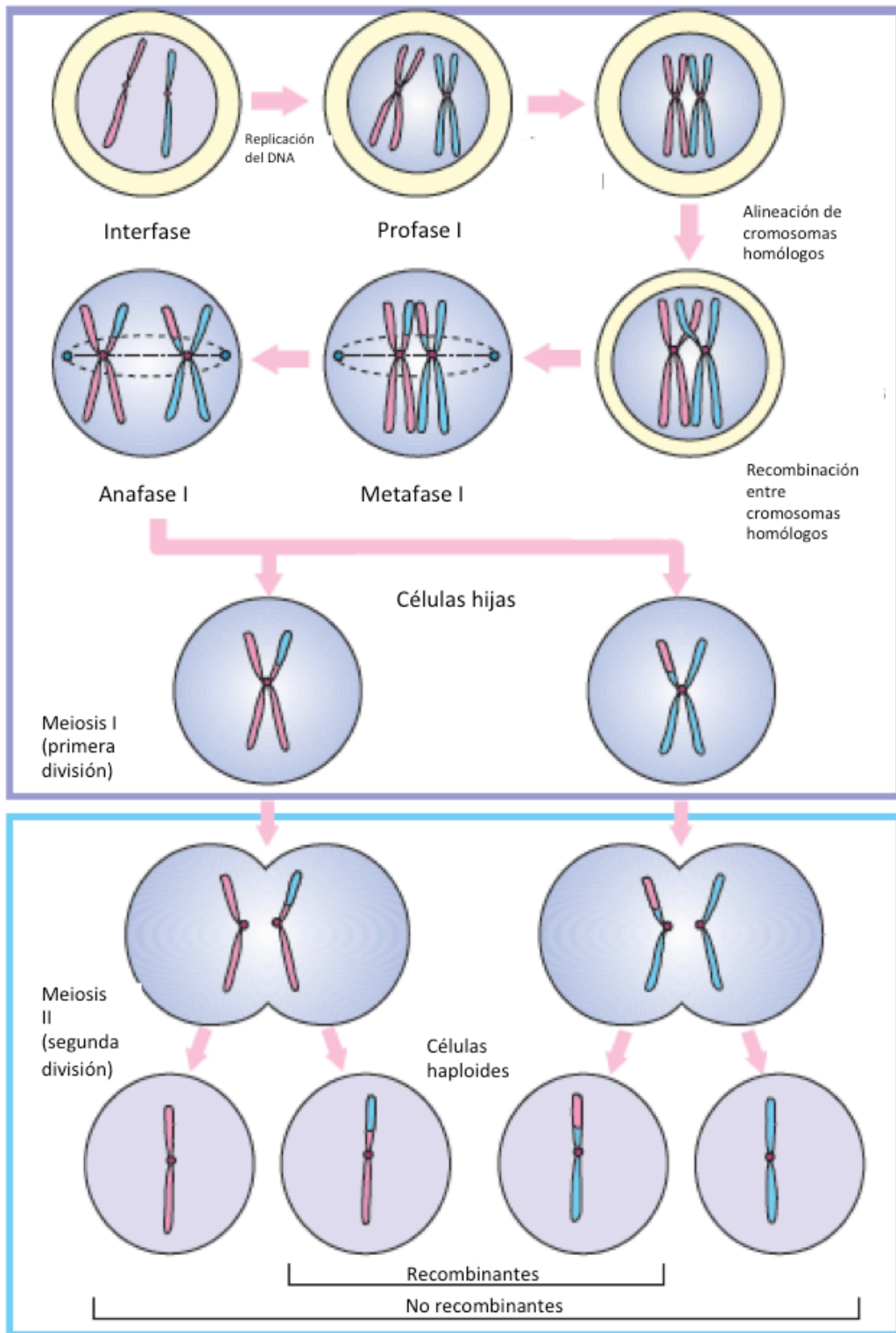
La profase I meiótica consta de 5 fases (Figura 4)<sup>42</sup>:

- Leptoteno: los cromosomas replicados durante la fase S se hacen visibles y empiezan a condensarse.
- Cigoteno: los cromosomas homólogos se alinean, unidos por el complejo sinaptonémico.
- Paquiteno: cada par de homólogos aparece como un bivalente, se lleva al cabo el entrecruzamiento y aparecen los nódulos de recombinación.
- Diploteno: los dos componentes de cada bivalente empiezan a separarse y permanecen unidos en puntos llamados quiasmas, resultado de los sitios de recombinación.
- Diacinesis: los cromosomas alcanzan su máxima condensación.

En anafase I hay separación de los cromosomas homólogos, las crómatidas hermanas permanecen unidas por el centrómero. En telofase I los pares de cromosomas homólogos completan la migración hacia los polos opuestos. Se vuelve a formar la membrana nuclear y al término de la citocinesis hay dos células hijas diploides.<sup>43</sup>

La meiosis II comienza con la interfase II, a diferencia de la interfase I no hay replicación del DNA. Las siguientes etapas de la meiosis son muy similares a lo que sucede durante la mitosis, excepto que las células hijas serán haploides.<sup>39</sup>





**Figura 4.** Diferentes etapas de meiosis en donde se pueden observar las diferencias principales de las dos divisiones celulares. Imagen modificada de Passarge E, 2007.<sup>40</sup>

### 1.3.4 Mecanismos de regulación del ciclo celular

Las células se dividen como respuesta a estímulos internos y externos. Antes de entrar en mitosis la replicación del DNA debe completarse con precisión y la célula debe haber alcanzado un tamaño apropiado. La célula debe responder a estímulos extracelulares que inducen incremento o disminución del grado de división.<sup>44</sup> Entre las moléculas más importantes en la regulación del ciclo celular se encuentran las cinasas dependientes de ciclinas (CDK), una familia de cinasas que fosforilan a otras proteínas reguladoras en fases claves del ciclo celular.<sup>45</sup>

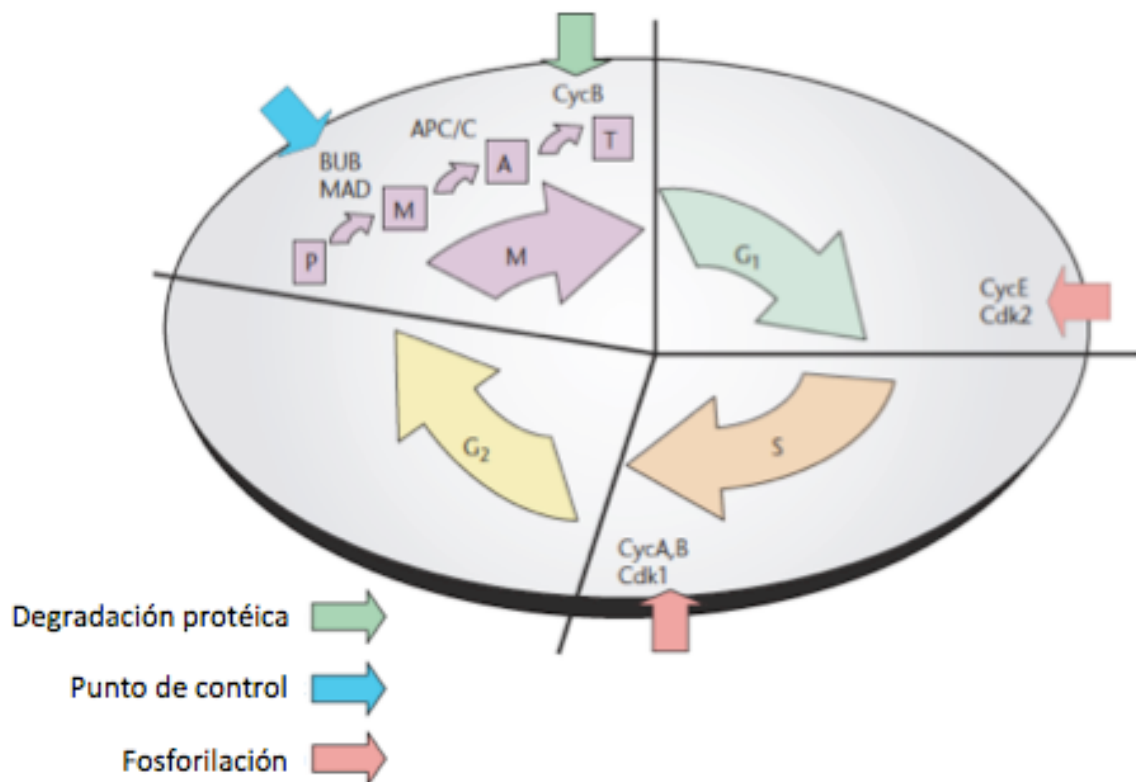
Las cinasas dependientes de ciclinas dirigen a la célula a través de la mitosis y regulan el progreso del ciclo celular. La CDK4 o CDK6 con la ciclina D promueven el avance de la fase G1 a S, mientras que la CDK2 y ciclina E permiten el inicio de la replicación, CDK1 con la ciclina A y B permiten el progreso de la fase S a la G2 y la CDK1 con ciclina B promueven la mitosis (Figura 5).<sup>46</sup> Las cinasas son inactivas a menos de que se unan con las ciclinas. La fosforilación del residuo de treonina en el extremo C-terminal por la cinasa activadora-CDK (CAK) es necesaria para su actividad. La fosforilación de los dos residuos cerca del extremo N-terminal provoca su inhibición.<sup>47</sup>

Las ciclinas son sintetizadas y destruidas en tiempos específicos durante el ciclo celular, por lo que regulan la actividad de las cinasas de una forma tiempo dependiente, mientras que las CDK permanecen en concentraciones constantes.<sup>37</sup> Las proteínas inhibidoras CDK se agrupan en: 1) proteínas inhibidoras de cinasa 4 (INK4) como P16, y 2) las proteínas inhibidoras de CDK1/CDK2 (CIP/KIP) como P21, P27 y P57. Las INK4 se unen e inhiben complejos ciclina D-CDK4 y ciclina D-CDK6. Las CIP inhiben a todos los complejos que tengan CDK1, 2, 4 y 6.<sup>47</sup>

En el control del ciclo intervienen dos complejos enzimáticos que actúan en diferentes tiempos del ciclo para degradar a las proteínas en el sistema de control: SCF (SKP1/Cullin/F-box protein) y APC (complejo promotor de la anafase). En la fase G1 y S, el complejo SCF ubiquitina a las ciclinas-G1/S y a los inhibidores que controlan el inicio de la fase S.<sup>46,48</sup>

El complejo promotor de la anafase asegura la segregación cromosómica durante la mitosis. Consiste en 11 proteínas que degradan proteínas involucradas activamente en el proceso mitótico una vez que hayan finalizado su rol durante el proceso.

El tiempo en el que se da la degradación proteica es crucial, ya que las proteínas deben persistir el tiempo suficiente para lograr su función; sin embargo si permanecen más tiempo de lo necesario pueden impedir el progreso del ciclo celular.<sup>41</sup> El complejo promotor de la anafase degrada a la ciclina B para permitir el avance hacia la citocinesis. Las proteínas BUB y MAD inhiben la actividad del complejo promotor de la anafase.<sup>49</sup>



**Figura 5.** Regulación del ciclo celular. Nótese que a lo largo de todo el ciclo celular hay moléculas encargadas del control y evitan el paso a la siguiente fase en caso de daño al material genético. Imagen modificada de Moore C & Best R, 2008.<sup>41</sup>

Los puntos de control de la mitosis pueden provocar el arresto mitótico bajo ciertas condiciones, como la detección de daño en el DNA, permitiendo así la reparación del DNA o la alineación apropiada de los cromosomas antes de la mitosis. Cuando el daño es irreversible la célula se dirige a apoptosis.<sup>50</sup>

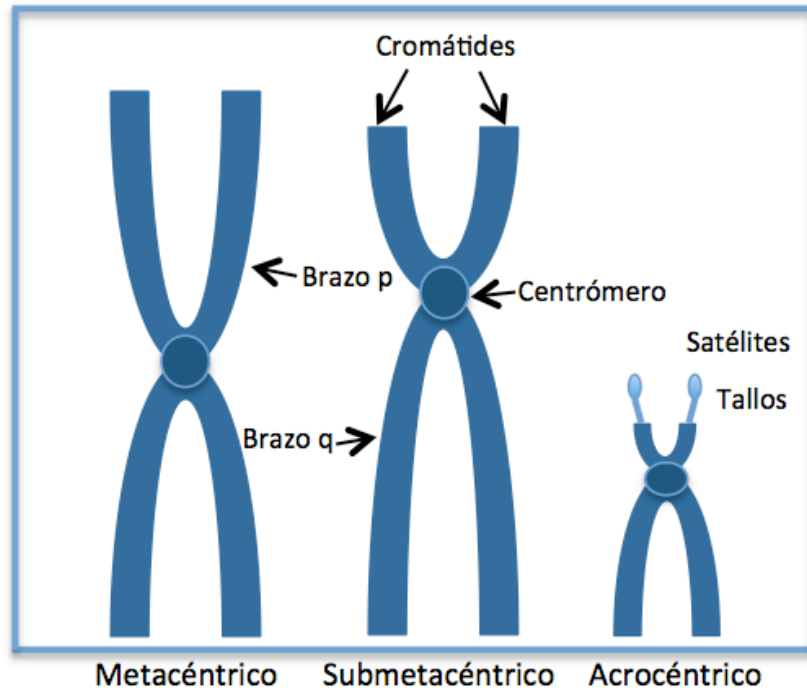
En G1 la fosforilación de la proteína RB reduce su afinidad por el factor de transcripción E2F y permite que éste active la expresión de genes de fase S. Al haber daño en el DNA se activa P53, el cual se acumula y se transcribe P21 (CKI), inhibidor de la cinasa dependiente de ciclina. CKI inhibe el complejo CDK2-ciclina A o E, provocando arresto del ciclo celular, P53 puede inducir la apoptosis.<sup>37</sup>

Las cromátides hermanas permanecen unidas durante la mitosis por medio de proteínas llamadas cohesinas, estas proteínas se encuentran reguladas a su vez por securinas. Al activarse el complejo promotor de la anafase poliubiquitina a la securina para su degradación, lo cual permite la activación de otra proteína llamada separasa que degrada a las cohesinas permitiendo la separación de las cromátidas hermanas en anafase y progresa la mitosis.<sup>48</sup>

La segregación correcta de los cromosomas es un proceso esencial para la transferencia de la información genética, por lo que su regulación se encuentra controlada por mecanismos complejos y muy específicos. La segregación de los cromosomas resulta en un proceso sincronizado, en el que intervienen la interacción con el huso mitótico y la tensión ofrecida por los centrómeros. Los microtúbulos se unen al cinetocoro de cada uno de los cromosomas, que se disponen en la placa ecuatorial metafásica. La dinámica de los microtúbulos permite la migración de los cromosomas hacia polos opuestos mediante la polimerización y despolimerización de los dímeros de tubulina.<sup>41</sup>

#### **1.4 Cariotipo humano**

El cariotipo es el conjunto de cromosomas de una célula agrupados por pares homólogos y ordenados según su tamaño, de mayor a menor y de acuerdo a la posición del centrómero. De acuerdo a la posición del centrómero los cromosomas se clasifican en: metacéntricos: el centrómero se localiza en medio del cromosoma, el brazo corto y el largo son de tamaño similar; submetacéntricos: tienen un brazo corto más pequeño comparado con el brazo largo y acrocéntricos: el brazo corto es muy pequeño<sup>21</sup> (Figura 6).



**Figura 6.** Clasificación de los cromosomas según la localización del centrómero. En esta imagen se pueden observar cromosomas metacéntrico, submetacéntrico y acrocéntrico.

El Sistema Internacional de Nomenclatura en Citogenética Humana (ISCN por sus siglas en inglés: *International System of Chromosome Nomenclature*) ha sido utilizado como referencia para la descripción de los cromosomas desde 1960.<sup>51</sup> Según lo establecido por el ISCN la clasificación básica comprende 7 grupos (clasificados como A-G) (Tabla 1).

**Tabla 1.** Clasificación de los cromosomas de acuerdo al ISCN.<sup>51</sup>

Grupo	Cromosomas	Tipo de cromosoma
A	1 y 3 2	Metacéntricos Submetacéntrico
B	4 y 5	Submetacéntricos
C	6-12, X	Submetacéntricos
D	13-15	Acrocéntricos
E	16-18	Metacéntricos
F	19 y 20	Submetacéntricos
G	21 y 22, Y	Acrocéntricos

## **1.5. Alteraciones cromosómicas**

Las alteraciones cromosómicas se clasifican en numéricas y estructurales, son la principal causa conocida de abortos (corresponden al 50-60%), en óbitos se encuentran en un 25% de los casos, mientras que en recién nacidos vivos se presentan en 0.6-0.8% y son una causa importante de defectos congénitos.<sup>52</sup> Los rearrreglos cromosómicos estructurales balanceados puede encontrarse en 1/500 de la población general. Las alteraciones estructurales no balanceadas corresponden al 3% del total de alteraciones cromosómicas, las alteraciones en los cromosomas autosómicos corresponden al 0.4-0.6%.<sup>52,53</sup>

### **1.5.1 Alteraciones numéricas**

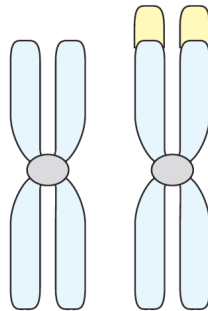
Las alteraciones cromosómicas numéricas ocurren en 1/400 recién nacidos vivos.<sup>54</sup> Las euploidias corresponden a las variaciones en el número de cromosomas múltiplos del número haploide y se denominan triploidias (3n), tetraploidias (4n) o pentaploidias (5n). La frecuencia de la triploidía es de 1/10,000 recién nacidos vivos y corresponde al 15% de las cromosopatías que se producen durante la fecundación, la mayoría corresponden a abortos espontáneos.<sup>55</sup>

La aneuploidía consiste en la ganancia o pérdida de cromosomas, es decir, el número de cromosomas no es múltiplo del número haploide. Se denominan monosomías cuando hay pérdida de un cromosoma y trisomías cuando hay ganancia de uno. La causa más frecuente de las aneuploidías es por un evento de no disyunción durante meiosis I o II.<sup>54</sup> Son las alteraciones numéricas más frecuentes y clínicamente significativas.<sup>56</sup>

### **1.5.2 Alteraciones estructurales**

Las alteraciones estructurales se presentan cuando hay un cambio en la estructura o en los componentes de un cromosoma. Estas alteraciones involucran una ruptura y unión cromosómica ya sea en un mismo cromosoma o entre dos o más cromosomas distintos, resultando en rearrreglos balanceados o desbalanceados. En el caso de los rearrreglos balanceados no hay pérdida ni ganancia de material genético, mientras que en los rearrreglos desbalanceados existe una ganancia o pérdida del material genético.<sup>57</sup> A continuación se describen las alteraciones cromosómicas estructurales.

**Duplicación:** implica la presencia de una copia extra de un segmento cromosómico. Ocurre por un entrecruzamiento desigual entre los cromosomas homólogos o cromátides hermanas (Figura 7).<sup>52</sup>



**Figura 7.** Representación esquemática de una duplicación. Imagen modificada de Passarge E, 2007.<sup>40</sup>

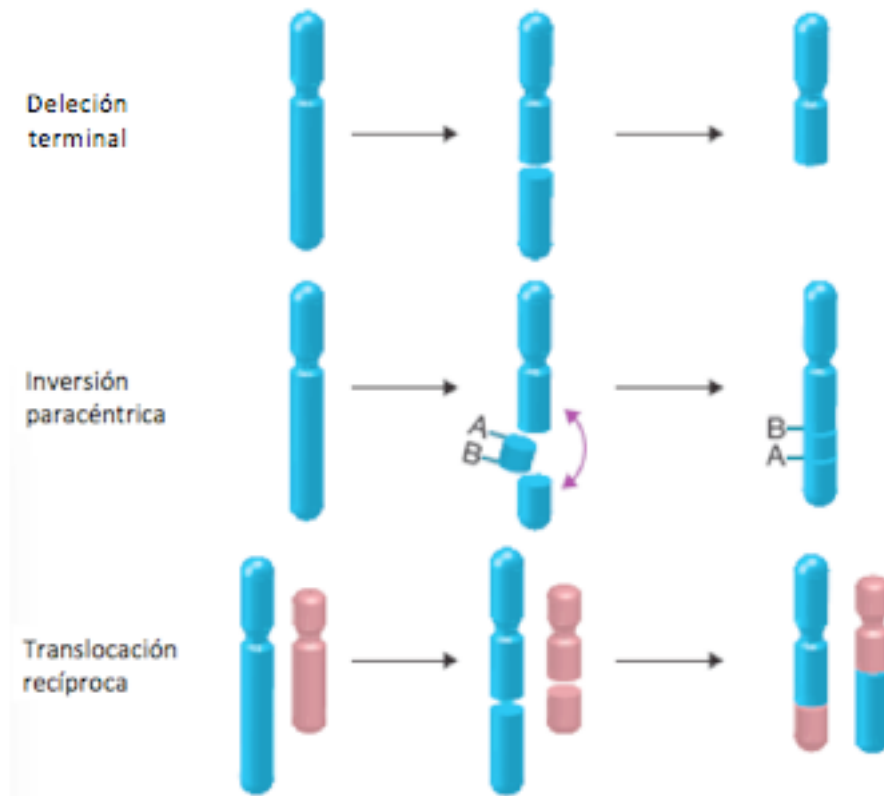
**Delección:** resulta de la pérdida de un segmento de un cromosoma. Se denomina intersticial cuando resulta de dos rupturas en un cromosoma, perdiéndose el segmento entre ellas con posterior unión de los extremos rotos. Las delecciones terminales ocasionan pérdida de un segmento distal del cromosoma implicado (Figura 8).<sup>58</sup>

**Inversión:** ocurre cuando hay dos rupturas en un cromosoma y el segmento cromosómico involucrado rota 180° sobre si mismo y se coloca en el cromosoma en forma invertida, quedando alterada la secuencia de genes. Si la inversión incluye al centrómero, con una ruptura en cada brazo cromosómico, se le denomina pericéntrica.

En la inversión paracéntrica no hay involucro del centrómero y únicamente implica un brazo cromosómico.<sup>59</sup> La inversión pericéntrica del cromosoma 9 es la más frecuente en la población general, se considera un polimorfismo y su frecuencia es de >2%<sup>52</sup> (Figura 8).

**Translocación:** intercambio de material genético entre cromosomas no homólogos. Se considera una translocación recíproca cuando las rupturas ocurren en 2 cromosomas diferentes y se produce un intercambio mutuo de material genético. No hay pérdida ni ganancia. Tienen una frecuencia de 1/625 recién nacidos vivos<sup>52</sup> (Figura 8).

**Tanslocación robertsoniana o fusión céntrica:** se produce cuando los brazos largos de 2 cromosomas acrocéntricos no homólogos se unen por el centrómero y los brazos cortos se pierden.<sup>61</sup> La translocación robertsoniana es la alteración cromosómica estructural recurrente más frecuente en los humanos, la incidencia es de 1/1,000 recién nacidos vivos. Las más frecuentes ocurren entre los cromosomas 13 y 14 con una incidencia de 1/1,000 y entre los cromosomas 14 y 21 con una incidencia de 1/5,000.<sup>62</sup>

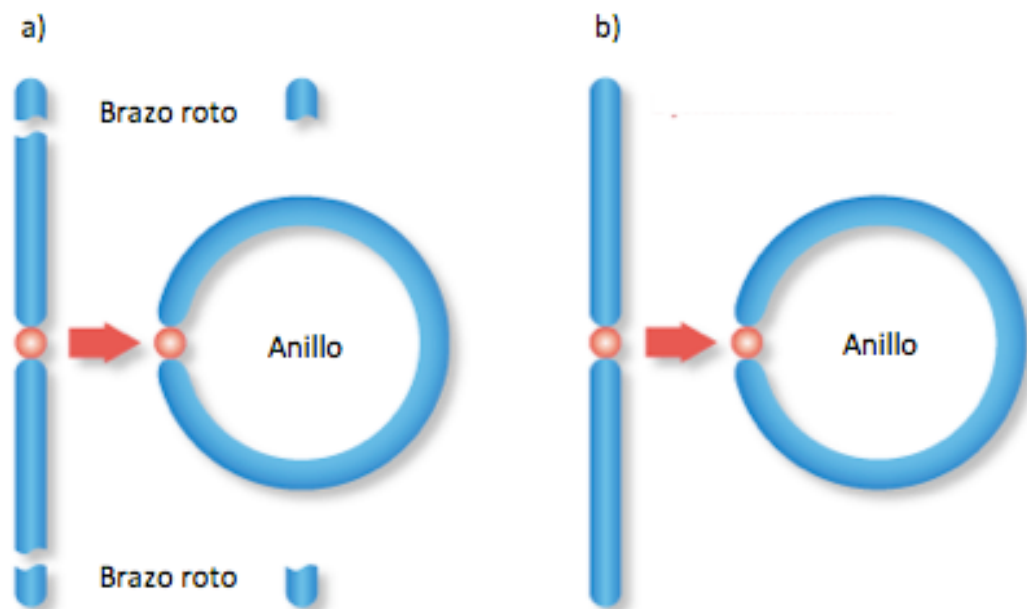


**Figura 8.** Representación esquemática de una delección terminal, inversión paracéntrica (sin involucro del centrómero) y translocación recíproca (no hay pérdida ni ganancia de material genético). Imagen modificada de Roukos V & Misteli T, 2014.<sup>61</sup>

**Isocromosoma:** está formado por dos copias idénticas de un mismo brazo cromosómico. Son resultado del intercambio entre cromosomas homólogos durante la meiosis o secundarios a una ruptura y unión cercana al centrómero de cromátidas hermanas o por falla en la división del centrómero durante la meiosis II o mitosis.<sup>52,53</sup>



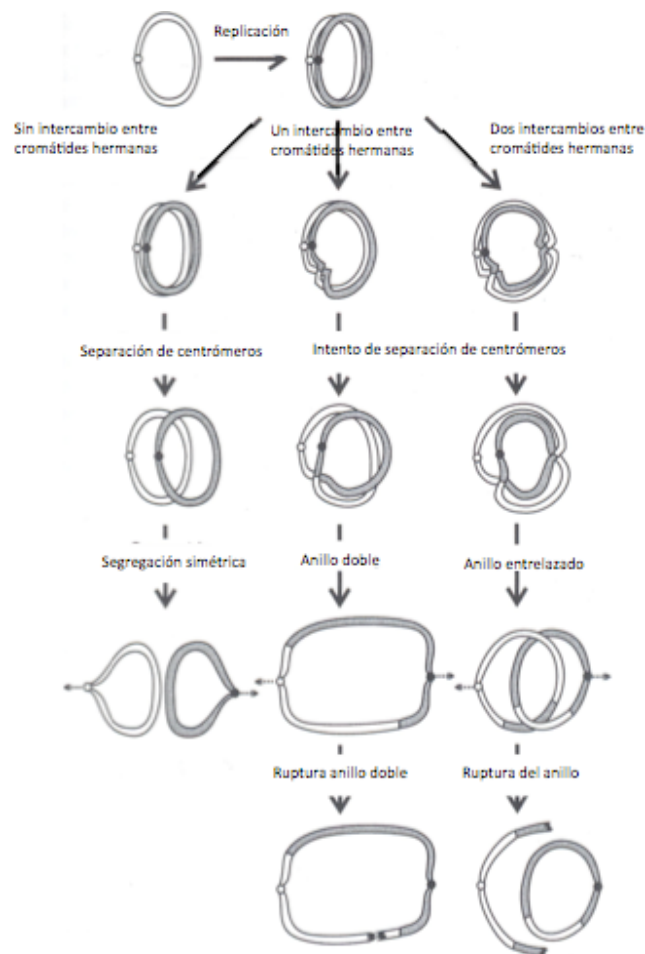
**Anillo:** resulta de una ruptura en ambos brazos cromosómicos, seguido de una fusión de estos extremos o de la unión de un extremo cromosómico roto con la región telomérica del otro extremo llevando así a pérdida de material genético<sup>60,61</sup> (Figura 9). De forma alternativa, puede formarse por la fusión de secuencias subtelo méricas o fusión telómero-telómero sin pérdida de material genético formando un anillo cromosómico completo.<sup>54,64</sup> Sin embargo, con el uso de técnicas de citogenética-molecular con mayor resolución, como CGH-microarreglos, se ha sugerido que la mayoría de los anillos cromosómicos tienen deleciones crípticas. Se han propuesto otros mecanismos de formación de anillos cromosómicos, uno de ellos es un rearrreglo complejo que involucra una inversión, duplicación y deleción.<sup>63,64</sup>



**Figura 9.** Mecanismos de formación de los anillos cromosómicos. a) Ruptura de ambos brazos con la subsecuente formación del anillo y pérdida de material genético. b) fusión telómero-telómero sin pérdida de material genético. Imagen modificada The Ring Chromosome 20 Foundation.<sup>67</sup>

Adicionalmente a la deleción asociada a la formación del anillo puede haber pérdida o ganancia de material genético debido a la inestabilidad cromosómica. En pacientes con anillos el intercambio entre cromátidas hermanas resulta en alteraciones cromosómicas secundarias e incluso en células monosómicas debido a la pérdida del anillo.<sup>66</sup>

De acuerdo a Kosztolányi G.<sup>65</sup> se considera que un anillo cromosómico es inestable cuando se encuentran alteraciones cromosómicas secundarias en al menos el 5% de las metafases analizadas. Pueden presentarse como mosaico verdadero en donde coexisten líneas celulares normales con líneas celulares con anillo cromosómico. La inestabilidad del anillo puede generar mosaicismo dinámico en donde se observa la presencia de células con anillo cromosómico y células con aneuploidías, incluyendo monosomías y duplicaciones del anillo<sup>54,66</sup> (Figura 10).



**Figura 10.** Mosaico dinámico de anillos cromosómicos que causa duplicaciones, roturas o formación de anillos dobles debido al intercambio entre cromátidas hermanas durante el ciclo celular. Imagen modificada de Gardner M, *et al.*, 2012.<sup>68</sup>

## 1.6. Técnicas de citogenética y citogenética-molecular

### 1.6.1 Cariotipo con técnicas convencionales

El análisis citogenético convencional consiste en el estudio de las alteraciones cromosómicas en las metafases de las células y su resolución es de 5 Mb.<sup>69</sup> Los cromosomas pueden ser tratados con diferentes agentes químicos para generar patrones de bandeo específicos, como son las bandas Q, G, R, C, T o NOR.<sup>70</sup>

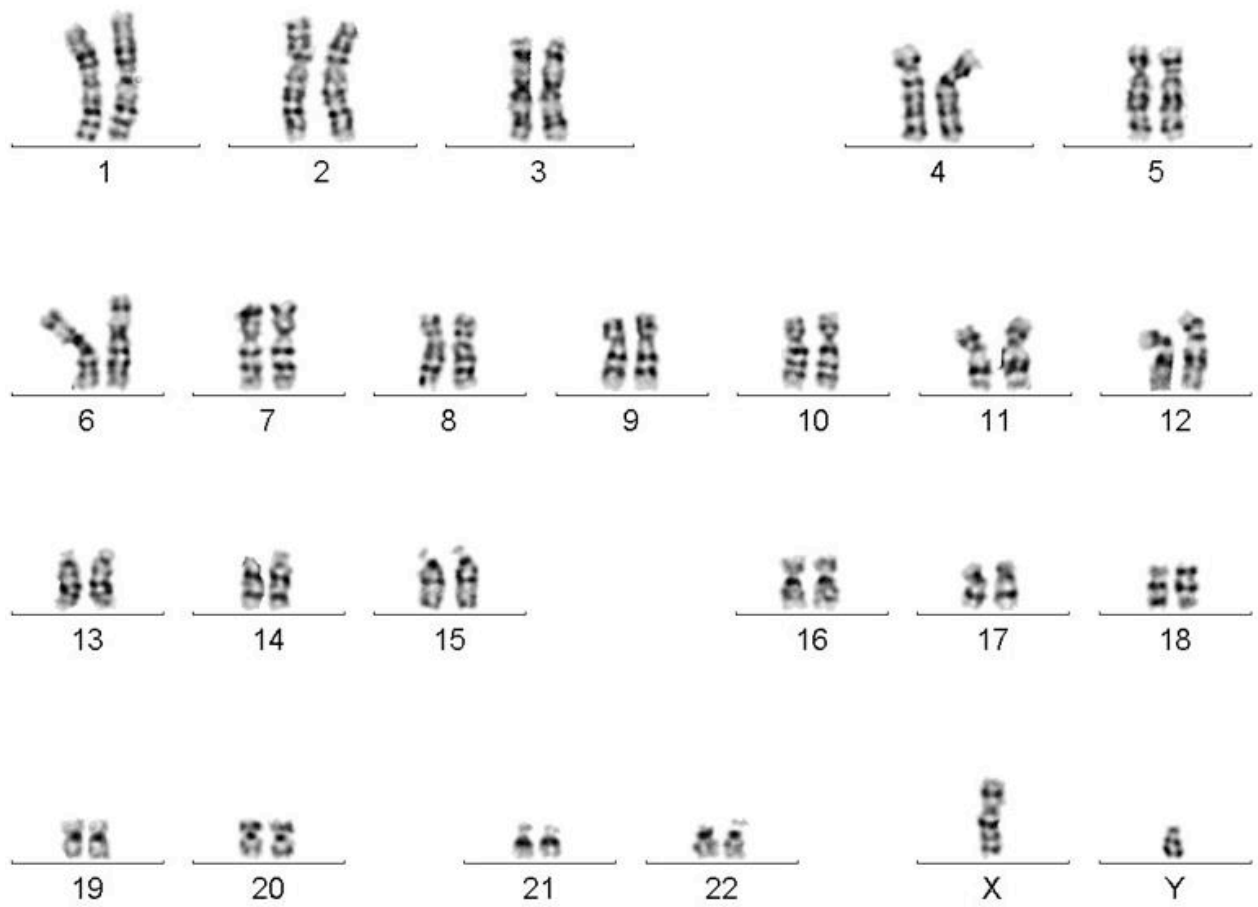
Las bandas Q fueron las primeras en utilizarse, se emplea una tinción con mostaza de quinacrina y microscopia de fluorescencia. Las bandas que fluorescen intensamente corresponden a las regiones ricas en adenina y timina (AT) mientras que las que lo hacen de forma menos intensa son regiones ricas en guanina y citosina (GC).<sup>5</sup>

Las bandas G o GTG fueron el segundo método empleado para el bandeo cromosómico y es la técnica más utilizada. Se basa en una desnaturalización controlada de las proteínas cromosómicas utilizando la tripsina (enzima proteolítica) y posteriormente se tiñen con Giemsa. Con esta técnica se obtiene un patrón de bandas oscuras que corresponden a regiones heterocromáticas y bandas claras que corresponden a regiones de eucromatina.<sup>70</sup> (Figura 11).

Las bandas R se basan en un tratamiento de los cromosomas con calor para desnaturalizar el DNA rico en AT, previo a la tinción con Giemsa. Resultan en un patrón de bandeo opuesto a las bandas GTG y se les conoce como bandas reversas.<sup>71</sup>

La técnica de bandas C tiñe selectivamente las regiones de heterocromatina constitutiva compuestas de secuencias altamente repetitivas ordenadas en tándem localizadas en los centrómeros.<sup>72</sup> En la técnica de bandas T se utiliza la naranja de acridina permitiendo la coloración de los telómeros.<sup>70</sup>

La técnica de bandas NOR consiste en una tinción con nitrato de plata que tiñe las regiones organizadoras nucleolares ubicadas en los tallos de los satélites de cromosomas acrocéntricos.<sup>72</sup>

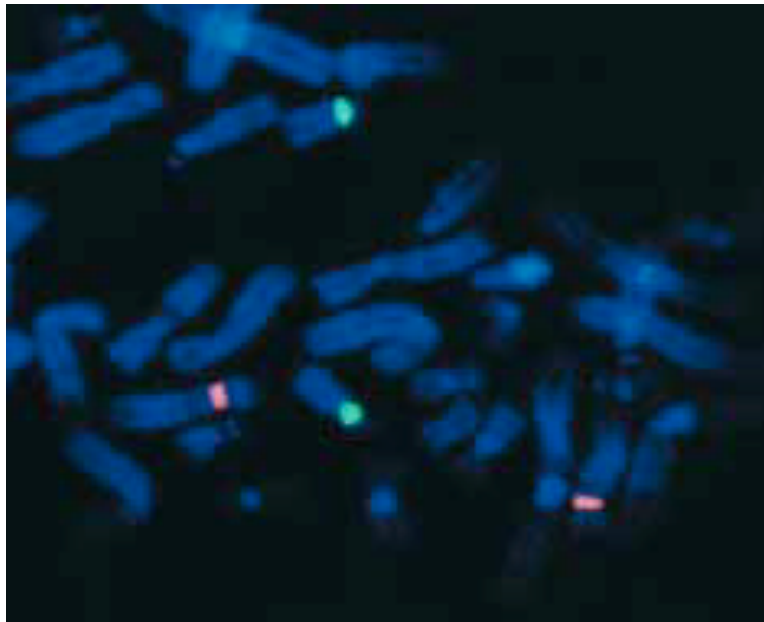


**Figura 11.** Cariotipo con bandas GTG con complemento cromosómico 46,XY. Resolución de 300-400 bandas. (Biol. Ariadna Berenice Morales Jiménez, Laboratorio de Citogenética, Depto. de Genética, HIMFG).

### 1.6.2 Hibridación *in situ* con fluorescencia (FISH)

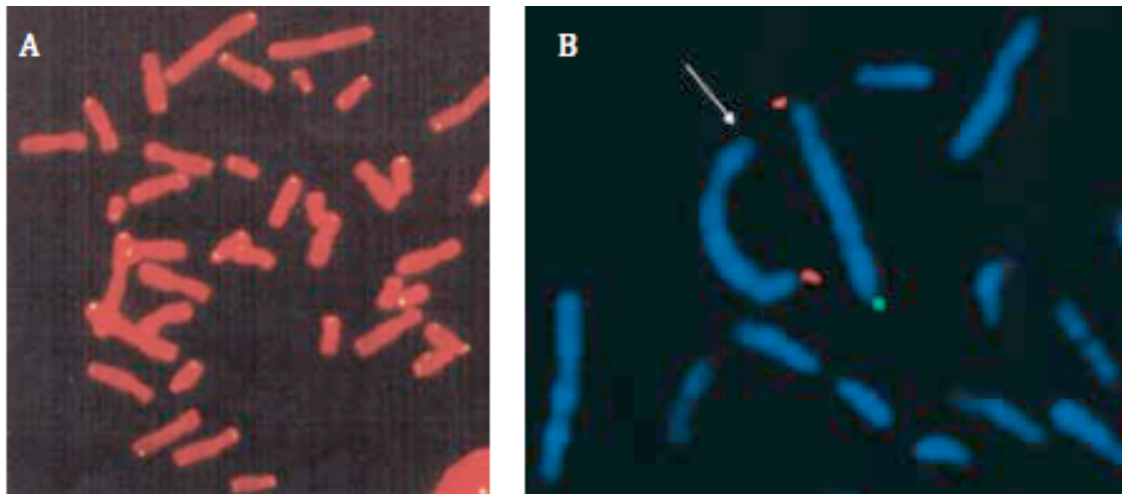
Dentro de las técnicas de citogenética molecular la más empleada es la hibridación *in situ* con fluorescencia, la cual se basa en la hibridación de una sonda de DNA marcada con una sustancia fluorescente sobre su secuencia complementaria del genoma. Puede llevarse a cabo en células en metafase o en interfase e involucra la desnaturalización del DNA usando calor y formamida.<sup>73</sup> El nivel de resolución de FISH va desde 50 kb hasta 2 Mb.<sup>69</sup> Esta técnica permite identificar reordenamientos cromosómicos particulares, obtener un diagnóstico rápido de la existencia de un número anormal de cromosomas e identificar deleciones no visibles con técnicas citogenéticas convencionales.

Los dos componentes principales de la técnica de FISH convencional son la sonda de DNA marcada con fluoresceína y la secuencia diana en la muestra que quiere estudiarse para la cual es específica. Existen sondas específicas para pintado de cromosomas individuales, centroméricas, de locus específico, teloméricas y subteloméricas.<sup>73</sup> Las sondas centroméricas pueden utilizarse para detectar alteraciones numéricas y verificar la presencia de centrómeros en alteraciones estructurales cromosómicas, también pueden emplearse como sondas control<sup>69</sup> (Figura 12).



**Figura 12.** FISH con sondas centroméricas del cromosoma 12 (en rojo) y 18 (en verde) en una metafase parcial. Imagen modificada de Spurbeck JL, *et al.*, 2004.<sup>75</sup>

Por medio de un análisis citogenético convencional no es posible identificar las microdeleciones y microduplicaciones ya que esta técnica, aún con alta resolución, no puede identificar alteraciones menores de 3 Mb.<sup>18,74</sup> Las sondas de región específica son útiles para su detección. La sonda pantelomérica hibrida con la secuencia de repetidos TTAGGG presentes en los telómeros de los cromosomas. Utilizando sondas de FISH para secuencias específicas adyacentes a cada telómero, es posible identificar con mayor precisión el extremo distal de cada cromosoma, excepto en los brazos cortos de los cromosomas acrocéntricos. Las sondas subtelméricas pueden detectar deleciones cromosómicas, translocaciones, inversiones y otros rearrreglos cromosómicos que involucren el extremo distal de los cromosomas, como los anillos cromosómicos<sup>75</sup> (Figura 13).



**Figura 13.** A) FISH con sondas teloméricas. Las señales amarillas en los extremos de cada cromosoma son las sondas marcadas para la secuencia telomérica de repetidos TTAGGG. B) FISH con sonda subtelmérica del brazo corto del cromosoma 5 (en verde), en donde se observa pérdida de la región subtelmérica 5p-. Imagen modificada de Spurbeck JL, *et al.*, 2004.<sup>75</sup>

Otro tipo de sondas son las de pintado cromosómico completo o *whole chromosome painting*, estas sondas son específicas para cada cromosoma y son útiles para la caracterización de alteraciones estructurales. El FISH multicolor puede ser utilizado para colorear con diferente fluorescencia los 24 cromosomas humanos. Esta técnica es particularmente útil para caracterizar alteraciones cromosómicas difíciles de definir con técnicas de citogenética convencional.<sup>74</sup>

### 1.6.3 Hibridación genómica comparativa (CGH)

La hibridación genómica comparativa o CGH consiste en la hibridación de un DNA a estudiar y un DNA control o de referencia sobre una metafase, cada uno de éstos se marca con una sonda fluorescente distinta. El número de moléculas de DNA a estudiar se compara con el número del control utilizando marcadores.<sup>74</sup> Su finalidad es identificar deleciones o duplicaciones genéticas no visibles con técnicas de citogenética convencional debido a su menor resolución.<sup>76</sup>

### 1.6.4 Cariotipo molecular

Un microarreglo de DNA consiste en un gran número de moléculas de DNA ordenadas sobre un soporte sólido en localizaciones conocidas, son empleados para el estudio de la secuencia de genes conocidos o bien para determinar los niveles de expresión genética de un tipo celular o tejido. Estos fragmentos de material genético pueden ser secuencias cortas llamadas oligonucleótidos, cDNA o productos de PCR. A estos fragmentos de DNA de una sola hebra inmovilizados en el soporte, se les llama sondas.<sup>69</sup> Hay dos tipos de microarreglos genómicos, aCHG (Array Comparative Genome Hybridization) y SNPa (Single Nucleotide Polymorphism Array).<sup>79</sup>

**aCGH:** en estos microarreglos, las sondas utilizadas varían en cuanto a su tamaño, pudiendo utilizar oligonucleótidos que van desde 25-85 pares de bases hasta cromosomas artificiales bacterianos (BAC) que contienen 80,000-200,000 pares de bases.<sup>18,77</sup> En este estudio se utilizan dos muestras de DNA, una testigo o de control y el DNA a estudiar, ambas muestras se marcan con un fluorocromo de diferente color y se aplican sobre un microarreglo que contiene las sondas en donde se lleva a cabo la hibridación.<sup>78</sup> Para su análisis se utilizan sistemas de imagen digital que detectan y cuantifican la intensidad de fluorescencia de las sondas hibridadas. Permite detectar ganancias y/o pérdidas de material genético.<sup>77,78</sup>

**SNPa:** utilizan dos oligonucleótidos de 20-60 pares de bases de secuencias diferentes, cada uno correspondiente a 2 variantes alélicas. El genotipo se determina por una reacción de extensión de base única (metodología utilizada por el sistema Illumina) o por la hibridación diferencial de oligonucleótidos (metodología del sistema Affymetrix). Los oligonucleótidos identifican polimorfismos de un solo nucleótido (*single nucleotide polymorphisms*, SNP).<sup>78</sup>

Un polimorfismo se define como un cambio en la secuencia de nucleótidos, que no produce enfermedad y se encuentra en al menos 1% de la población. Los polimorfismos más frecuentes son los de un solo nucleótido, el genoma humano contiene >10 millones de SNPs.<sup>79</sup> Esta técnica permite identificar pérdidas y/o ganancias, al igual que pérdida de heterocigocidad.<sup>77,78</sup>

El tipo más frecuentemente usado de microarreglos de DNA es el de arreglos de alta densidad de oligonucleótidos que se sintetizan *in situ* sobre una superficie de vidrio. Estos arreglos contienen más de 500,000 secuencias en un área no mayor de una pulgada cuadrada en donde se pueden estudiar hasta 20,000 genes de forma simultánea. La lectura de la información obtenida se realiza por medio de un software específicamente diseñado para analizar los datos que se obtienen de estos microarreglos, la resolución de ésta técnica es de 45kb-1 Mb.<sup>78,80</sup>

### **1.7 Abordaje del paciente con probable cromosomopatía**

Un síndrome dismórfico es el patrón de anomalías físicas reconocibles que guardan relación patogénica entre sí, comprende la apariencia física diferente e integrada a varias malformaciones que permiten sugerir un patrón fenotípico característico que conduzca al clínico al diagnóstico nosológico.<sup>81</sup> La prevalencia de los defectos congénitos es de 3-5% de los recién nacidos vivos (RNV).<sup>82</sup> Las causas de los defectos congénitos pueden ser genéticas, ambientales o como sucede en la mayoría de los casos (40-60%) por factores desconocidos. Dentro de las causas genéticas el 10% corresponden a alteraciones cromosómicas.<sup>82,83</sup>

Establecer la etiopatogenia de los defectos congénitos permite conocer el curso natural del proceso y su pronóstico a corto y largo plazo y en relación con este conocimiento establecer las pautas de seguimiento clínico y tratamiento; conocer el patrón de herencia y el riesgo de recurrencia para la familia y el propósito; así como ofrecer opciones de diagnóstico prenatal y alternativas reproductivas.<sup>84</sup>

El abordaje clínico de un paciente con dismorfias y defectos congénitos incluye tres partes: 1) historia clínica detallada con árbol genealógico de al menos 3 generaciones, 2) evaluación del desarrollo psicomotor y 3) exploración física completa (debe incluir medidas antropométricas y la descripción detallada de rasgos dismórficos).<sup>85</sup>



Los estudios complementarios incluyen pruebas de laboratorio, gabinete, técnicas de citogenética y estudios moleculares los cuales corroboran el diagnóstico presuncional.<sup>84</sup>

Cualquier alteración citogenética presente en los pacientes tiene una importante implicación en los miembros de la familia, ya que si alguno de los padres es portador de algún rearrreglo cromosómico los riesgos de recurrencia aumentan. De tal forma que dependiendo de la alteración cromosómica en nuestros pacientes, se debe realizar análisis citogenético en los padres para poder ofrecer un adecuado asesoramiento genético. La técnica de citogenética convencional empleada tradicionalmente es el cariotipo con bandas GTG.<sup>86</sup>

### **1.7.1 Indicaciones de cariotipo**

El análisis cromosómico está indicado en las siguientes situaciones:<sup>87</sup>

1) Período prenatal:

- Edad mayor de 35 años
- Ansiedad materna
- Triple marcador alterado
- Oligohidramnios-polihidramnios
- Retraso de crecimiento intrauterino
- Arteria umbilical única
- Sospecha ecográfica de cromosomopatía
- Antecedentes de cromosomopatía balanceada en uno de los padres

2) Período neonatal:

- 2 o más malformaciones mayores aisladas
- Presencia de 3 o más malformaciones menores
- Recién nacido con genitales ambiguos
- Parto con producto finado de causa inexplicable
- Muerte neonatal de causa inexplicable

3) Período de lactancia

- Niños con dificultades para el aprendizaje
- Niños con rasgos dismórficos
- Niños con retraso psicomotor

4) Período Preescolar-Escolar

- Trastornos del crecimiento
- Retraso psicomotor
- Rasgos dismórficos

- 5) Período de adolescencia
  - Ginecomastia
  - Falta del desarrollo puberal
  - Amenorrea primaria o secundaria
  - Retraso mental
  - Rasgos dismórficos
- 6) Período del adulto
  - Padres de niños con anomalías cromosómicas estructurales
  - Abortos de repetición (2 o más abortos)
  - Infertilidad
  - Diagnóstico prenatal
- 7) En todas las edades
  - Procesos malignos
  - Control de trasplantes de médula ósea

En esta tesis se presentan los análisis de dos pacientes con anillos cromosómicos, uno del cromosoma 9 y otro del 14, por lo que se detallarán las características de los síndromes asociados a estas alteraciones.

### **1.8 Síndrome del anillo cromosómico**

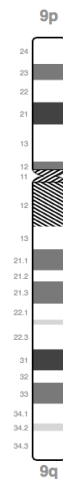
La frecuencia de los anillos cromosómicos es de 1/30,000-60,000 recién nacido vivos. Se han reportado anillos de todos los cromosomas y 50% de ellos son de cromosomas acrocéntricos.<sup>88</sup> El fenotipo de los pacientes con anillo cromosómico es altamente variable, dependerá del cromosoma implicado, el tamaño de la deleción, la presencia de mosaicismo y aneuploidías.<sup>54</sup> En casos reportados con el mismo anillo e incluso con los mismos puntos de ruptura, las manifestaciones clínicas son distintas, por lo que puede considerarse que el fenotipo se superpone con síndromes cromosómicos descritos causados por las deleciones teloméricas o subteloméricas específicas del caso. El retraso en el crecimiento es la alteración más frecuente en los pacientes con anillo cromosómico.<sup>64</sup>

El síndrome del anillo autosómico ocurre en casos en donde no hay pérdida de material genético e independientemente del cromosoma implicado, los pacientes presentan retraso en el crecimiento y desarrollo, dismorfias menores y en algunos casos retraso mental.<sup>54,64</sup>

Este término fue propuesto en 1981 por Cote *et al.* y se piensa que el síndrome se debe a la muerte celular debido a la inestabilidad de los anillos cromosómicos y no a la pérdida misma de material genético en el anillo.<sup>89,90</sup> La mayoría de los anillos cromosómicos son *de novo*, sin embargo se han reportado casos familiares.<sup>91,92</sup>

## 1.9 Cromosoma 9

El cromosoma 9 es submetacéntrico y pertenece al grupo C de la clasificación del ISCN<sup>51</sup>. Contiene 141,213,431 pares de bases, con una longitud de 145 Mb<sup>93</sup> lo cual representa el 4.5% del total del DNA genómico humano. En él se han identificado 809 genes codificantes, 851 genes no codificantes y 663 pseudogenes.<sup>94</sup> El 46.15% del cromosoma 9 contiene secuencias repetidas y el contenido de G+C es de 41.4%.<sup>93</sup> Se han identificado 178 genes en el cromosoma 9 asociados a enfermedad<sup>94</sup> (Figura 14, Tabla 2).



**Figura 14.** Ideograma del cromosoma 9. Imagen tomada de <https://www.abbottmolecular.com/chromosome/9.html><sup>99</sup>

**Tabla 2.** Enfermedades con *loci* en el cromosoma 9.<sup>94</sup> Se describen algunos de los genes relacionados a enfermedad.

<b>Locus</b>	<b>Gen</b>	<b># MIM</b>	<b>Fenotipo</b>
<b>9p24.3</b>	<i>DMRT1</i> , <i>DMRT2</i> , <i>DMRT3</i>	602424, 604935, 614754	Reversión sexual 46,XY
	<i>DOCK8</i>	611432	Retraso mental autosómico dominante
<b>9p24.2</b>	<i>KCNV2</i>	607604	Distrofia de retina
<b>9p23-p21.2</b>	<i>DFNB83</i>	613685	Sordera autosómica recesiva
<b>9p21.3</b>	<i>IFNA21</i>	147584	Deficiencia de interferón alfa
<b>9p13.3</b>	<i>IL11RA</i>	600939	Craneosinostosis y alteraciones dentales
<b>9p12-q12</b>	<i>ACP</i>	605388	Parálisis cerebral, ataxia
<b>9q13</b>	<i>CMD1B</i>	600884	Cardiomiopatía dilatada
<b>9q21-q22</b>	<i>ETL4</i>	611631	Epilepsia familiar del lóbulo temporal
<b>9q21.11</b>	<i>FXN</i>	606829	Ataxia de Friedreich
<b>9q31.1</b>	<i>CHDT3</i>	614954	Cardiopatía congénita
<b>9q33.3</b>	<i>NR5A1</i>	612965	Reversión sexual 46,XY
<b>9q34.3</b>	<i>KCNT</i>	608167	Epilepsia
	<i>INPP5E</i>	613037	Retraso mental, obesidad, distrofia de retina y micropene
	<i>MAN1B1</i>	604346	Retraso mental autosómico recesivo
	<i>GRIN1</i>	138249	Retraso mental autosómico dominante
	<i>TPRN</i>	613354	Sordera autosómica recesiva
	<i>NSMF</i>	608137	Hipogonadismo hipogonadotrópico con o sin anosmia
	<i>EHMT</i>	607001	Síndrome de Kleefstra

### 1.9.1 Síndrome del anillo del cromosoma 9

Es una alteración citogenética poco frecuente y se desconoce la prevalencia, en la literatura se han reportado 27 pacientes con anillo del cromosoma 9.<sup>90</sup> Los puntos de ruptura más comunes se encuentran entre 9p22-p24 y 9q33-q34.<sup>95</sup> Los extremos de los cromosomas tienen una alta tasa de recombinación meiotica y rupturas de doble cadena. Una tasa elevada de recombinaciones entre regiones subteloméricas puede depender del contenido de GC, densidad o el contenido génico, modificadores en *cis*- o *trans*-, estructura de la cromatina o puede asociarse a secuencias genómicas específicas como repetidos de bajo número de copias (LCR por sus siglas en inglés) o elementos dispersos cortos SINE como las secuencias *Alu*.<sup>96</sup>

El fenotipo de los pacientes con anillo del cromosoma 9 varía dependiendo del tamaño y la localización de la deleción. Las manifestaciones clínicas son microcefalia, exoftalmia, estrabismo, fisuras palpebrales ascendentes, epicanto, narinas antevertidas, hipertelorismo, filtrum largo, micrognatia, retrognatia, dismorfia de pabellones auriculares, paladar hendido, úvula bífida, cuello corto, hirsutismo generalizado e hipotonía<sup>90,95,97</sup> (Figura 15).

Otras manifestaciones clínicas son peso y talla bajos, retraso en el desarrollo psicomotor, cardiopatía congénita (defectos septales, tetralogía de Fallot, atresia valvular pulmonar), edad ósea retrasada, alteraciones esqueléticas como aplasia y/o hipoplasia del radio o fusión de vertebras, sobre todo las cervicales.<sup>90</sup> Las alteraciones en genitales como hipospadias y criptorquidia son frecuentes, así como las infecciones recurrentes de vías respiratorias.<sup>97</sup> En menor frecuencia se han reportado espasmos infantiles, reflujo gastroesofágico, hidrocele bilateral, genu valgum y hernia umbilical. Los pacientes con anillo del cromosoma 9 comparten algunas características clínicas reportadas en los síndromes por deleción 9p y 9q.<sup>95</sup>



**Figura 15.** Foto clínica de paciente con r(9)(p23q34.3). Nótese las cejas gruesas y arqueadas, sinofris, hipertelorismo, nariz pequeña con puente nasal ancho, filtrum largo. Imagen tomada de Sibbesen E, *et al.*, 2013.<sup>90</sup>

### 1.9.2 Síndrome por deleción 9p

El síndrome por deleción 9p (MIM #158170) es causado por una monosomía parcial debido a la deleción de material genético en el brazo corto del cromosoma 9.<sup>98</sup> Huret *et al.*, en 1988, observaron que las dismorfias y la discapacidad intelectual son típicas del síndrome de deleción 9p y se presentan en todos los casos aunque los puntos de ruptura y el tamaño de la deleción sean distintos.<sup>100</sup> En estudios previos se ha propuesto una región crítica de 4-6 Mb ubicada entre 9p22.3-p23. Sin embargo se han reportado deleciones de distintos tamaños que van desde 300 kb hasta 14.8 Mb.<sup>101,102</sup>

El primer caso de deleción 9p se reportó por Alfi *et al.*, en 1973, desde entonces se han reportado más de 150 casos.<sup>95</sup> Se caracteriza por discapacidad intelectual moderada a severa, trigonocefalia, occipucio plano, cejas arqueadas, hipertelorismo, fisuras palpebrales pequeñas y ascendentes, epicanto, puente nasal deprimido con narinas antevertidas, filtrum largo, micrognatia, pabellones auriculares dismórficos y de baja implantación.<sup>103</sup>

Se han descrito pacientes con hipospadias, criptorquidia y otras alteraciones de los genitales externos. Otras manifestaciones clínicas son teletelia, cardiopatía congénita, onfalocele, hernia umbilical, escoliosis, acortamiento de metacarpos, uñas cuadradas hiperconvexas. Se han reportado casos con paladar hendido y úvula bífida.<sup>104</sup> La deleción es *de novo* en 2/3 de los casos y el 1/3 restante se debe a rearrreglos cromosómicos heredados de alguno de los padres con una translocación balanceada.<sup>105</sup> Faas *et al.*, en 2007,<sup>102</sup> definió la región crítica en 3.5 Mb, la cual contiene los siguientes genes (Tabla 3):

**Tabla 3.** Genes encontrados en la región crítica del síndrome por deleción 9p (9p22.3).<sup>102</sup>

<b>Gen</b>	<b>Nombre</b>	<b># MIM</b>
<b>FREM1</b>	<i>FRAS1 related extracelular matrix 1</i>	608944
<b>CER1</b>	<i>cerberus 1 homolog</i>	603777
<b>ZDHHC21</b>	<i>zinc finger, DHHC-type containing 21</i>	614605
<b>NFIB</b>	<i>nuclear factor I/B</i>	600728
<b>MPDZ</b>	<i>multiple PDZ domain protein</i>	603785
<b>TYRP1</b>	<i>tyrosinase-related protein 1</i>	115501

Se piensa que los genes encontrados en esta región son los responsables del fenotipo de los pacientes, por ejemplo, *CER1* se ha propuesto como gen candidato para la trigonocefalia.<sup>106</sup>

### 1.9.3 Síndrome por deleción 9p24.3

En algunos casos y dependiendo de la región involucrada, pueden hacerse correlaciones fenotipo-genotipo más específicas como por ejemplo el síndrome de deleción 9p24.3 (MIM#154230) que se caracteriza por reversión sexual en pacientes XY sin tener otras manifestaciones clínicas del síndrome de deleción 9p.<sup>107</sup> Los pacientes presentan disgenesia gonadal completa, hipospadias y/o criptorquidia.

Se ha propuesto que la causa de estas manifestaciones clínicas se deban a una haploinsuficiencia de los genes *DMRT1*, *DMRT2* y *DMRT3*, localizados en 9p24.3. Todos los casos que se han reportado con disgenesia gonadal presentan deleción de esta región abarcando los tres genes y los candidatos más aceptados para la alteración en el desarrollo gonadal son *DMRT1* y *DMRT3*.<sup>108</sup>

Sin embargo se han reportado casos con deleción 9p24 con genitales externos normales lo que podría deberse a la interacción de varios modificadores genéticos en el fenotipo.<sup>98</sup>

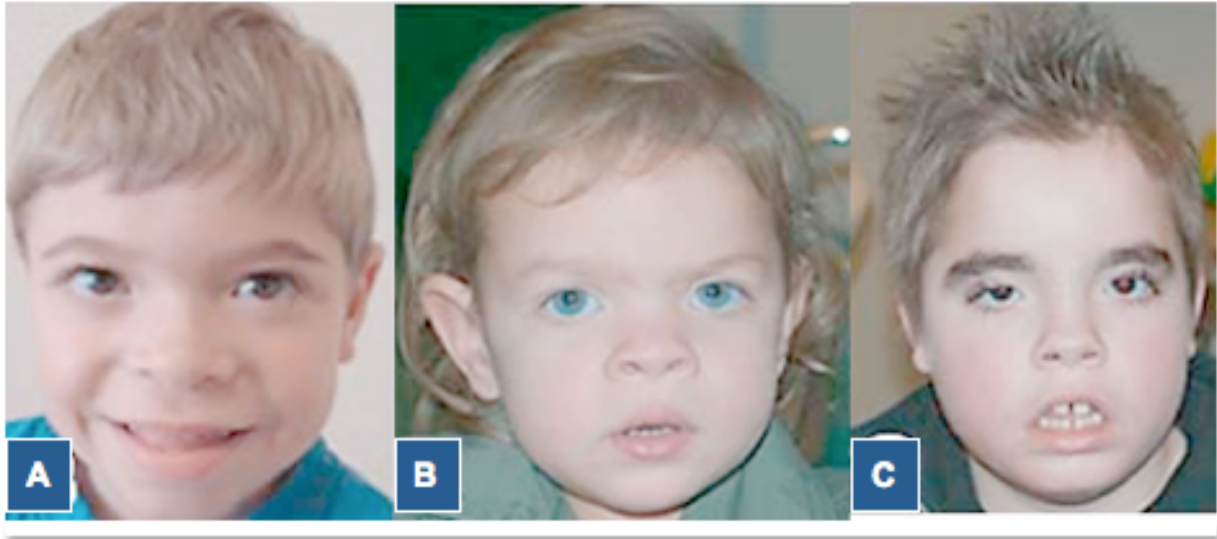
#### **1.9.4 Síndrome por deleción 9q34.3**

El primer caso descrito de deleción 9q fue por Newton *et al.*, en 1972.<sup>95</sup> Es uno de los síndromes de deleción subtelomérica más frecuente y se han reportado mas de 50 casos. La deleción subtelomérica en 9q34.3 causa el síndrome de Kleefstra o síndrome de deleción subtelomérica 9q (MIM #610253), que se caracteriza por discapacidad intelectual sin desarrollo del lenguaje, retraso en el desarrollo psicomotor, hipotonía, microbraquicefalia y dismorfias faciales como sinofris, cejas arqueadas, hipertelorismo, hipoplasia medio facial, narinas antevertidas, labio inferior evertido, boca en carpa con protrusión de lengua y prognatismo (Figura 16).<sup>90</sup>

Otras manifestaciones clínicas son cardiopatía congénita (defectos del septum atrial y ventricular, tetralogía de Fallot, coartación aórtica, estenosis pulmonar) y alteraciones genitourinarias (micropene, criptirquidia, reflujo vesicoureteral, alteraciones estructurales renales), epilepsia, alteraciones psiquiátricas (psicosis, catatonía, trastorno bipolar), alteración del comportamiento (apatía y períodos de agresividad) hipoacusia y sobrepeso.<sup>109,110</sup>

La etiología del síndrome es debida a haploinsuficiencia de *EHMT1* (MIM \*607001), debido a una microdeleción o a una mutación intragénica. El tamaño de la deleción reportada varía desde 700 kb hasta 3 Mb. *EHMT1* codifica para una metiltransferasa de histonas, por lo tanto está involucrada en la remodelación de cromatina.<sup>109</sup> La mayoría de los casos con el síndrome de deleción subtelomérica 9q son *de novo*. En pocas ocasiones resulta de la segregación de una translocación balanceada de alguno de los padres.<sup>110</sup>





**Figura 16.** Pacientes con deleción 9q34.3 en donde se pueden observar rasgos característicos del síndrome como cejas arqueadas, hipertelorismo, narinas antevertidas, boca en carpa y labio inferior evertido. Imagen modificada de Willemsen M, *et al.*, 2011.<sup>109</sup>

### 1.10 Cromosoma 14

Es un cromosoma acrocéntrico, contiene 107,349,540 pares de bases y representa el 3.5% del total del DNA genómico humano.<sup>93</sup> Se han identificado 856 genes codificantes, 888 genes no codificantes y 500 pseudogenes. Hay 137 genes en el cromosoma 14 asociados a enfermedad y dentro de éstos se encuentran dos *loci* de gran importancia para el sistema inmunológico<sup>111,112</sup> (Figura 17, Tabla 4).



**Figura 17.** Ideograma del cromosoma 14. Imagen tomada de <https://www.abbottmolecular.com/chromosome/14.html>.<sup>113</sup>

**Tabla 4.** Genes del cromosoma 14 asociados a enfermedad.<sup>111</sup>

<b>Locus</b>	<b>Gen</b>	<b># MIM</b>	<b>Fenotipo</b>
<b>14q11-q22</b>		613457	Síndrome de delección 14q11-q22
<b>14q11.1-q11.2</b>	<i>NRL</i>	162080	Retinitis pigmentosa
<b>14q11.2-q12</b>	<i>DFNA53</i>	609965	Sordera autosómica dominante
	<i>MRT9</i>	611095	Retraso mental autosómico recesivo
<b>14q11.2</b>	<i>NRCLP5</i>	612851	Narcolepsia
	<i>ALS9</i>	611895	Esclerosis lateral amiotrófica
	<i>TRAC</i>	186880	Inmunodeficiencia 7, deficiencia TCR-alfa/beta
	<i>MYH6,</i> <i>MYH7</i>	160710 160760	Cardiomiopatía dilatada, defectos septum ventricular
<b>14q12</b>	<i>COCH</i>	603196	Sordera autosómica dominante
<b>14q13-q21</b>	<i>RLS2</i>	608831	Síndrome de piernas inquietas
<b>14q13.2</b>	<i>NFKBIA</i>	164008	Displasia ectodérmica anhidrótica con inmunodeficiencia células T
<b>14q21.2</b>	<i>FANCM</i>	609644	Anemia de Fanconi
<b>14q22.1</b>	<i>DDHD1</i>	614603	Paraplejia espástica autosómica recesiva
<b>14q24.1</b>	<i>LCA13</i>	612712	Amaurosis congénita de Leber
<b>14q24.3</b>	<i>COQ6</i>	614647	Deficiencia coenzima Q10
	<i>CHX10</i>	142993	Microftalmia
	<i>NPC2</i>	601015	Niemann-pick tipo C2
	<i>DFNB35</i>	608565	Sordera autosómica recesiva
	<i>POMT2</i>	607439	Distroglicanopatía
	<i>GSTZ1</i>	603758	Tirosinemia Ib
	<i>VIPAS39</i>	613401	Artrogriposis, disfunción renal y colestasis
<b>14q31</b>	<i>GRD1</i>	275000	Enfermedad de Graves
<b>14q31.1</b>	<i>TSHR</i>	603372	Enfermedades tiroideas
<b>14q32.3</b>	<i>IGHD</i>	146910	
	<i>IGHJ</i>	147010	
	<i>IGHG1</i>	147100	
	<i>IGHG3</i>	147120	
	<i>IGHM</i>	147020	Agammaglobulinemia
	<i>IGHD3-3</i>	611937	

### 1.10.1 Síndrome del anillo del cromosoma 14

Desde la primera descripción por Gilgenkrantz S, *et al.*, en 1989, se han reportado 70 pacientes con anillo del cromosoma 14.<sup>114</sup> Las manifestaciones clínicas más frecuentemente reportadas son discapacidad intelectual, hipotonía, dolicocefalia, microcefalia, facies característica, alteraciones oculares como la retinitis pigmentosa, cataratas, estrabismo, maculopatía, glaucoma y miopía, así como retraso en el desarrollo y epilepsia de difícil control.<sup>115</sup>

Las dismorfias faciales más comúnmente reportadas son cara larga y asimétrica, frente alta, bordes supraorbitarios hipoplásicos, cejas rectas, fisuras palpebrales cortas y descendentes, hipertelorismo, epicanto, puente nasal ancho/punta nasal bulbosa, filtrum largo y boca pequeña con comisuras labiales descendentes, pabellones auriculares largos y de baja implantación<sup>116</sup> (Figura 18). Las dismorfias descritas se presentan únicamente en pacientes con una deleción asociada al anillo del cromosoma 14 y dicha deleción debe ser mayor de 0.65 Mb.<sup>114</sup> Presentan infecciones de vías respiratorias recurrentes.

También se han reportado casos con cuello corto, escoliosis y manchas café con leche e infecciones respiratorias recurrentes.<sup>112</sup> Alteraciones del comportamiento como hiperactividad, agresividad, movimientos estereotipados (aplausos o ecolalia).<sup>116,117</sup> En pacientes en quienes se han realizado estudios de imagen como resonancia magnética de encéfalo se reportan alteraciones como hipoplasia supratentorial difusa, dilatación de ventrículos, agenesia o hipoplasia del cuerpo caloso y alteraciones del hipocampo.<sup>118</sup>

Zollino M, *et al.*, en 2012,<sup>114</sup> sugirieron que la deleción en 14q11-q13 está relacionada con la retinitis pigmentosa, ya que esta región contiene el gen *RPGRIP1* (*retinitis pigmentosa GTPase regulator-interacting protein*, MIM 605446) responsable de dicha alteración, así como el gen *NRL* (*neutral retinal leucine zipper gene*, MIM 162080). También se encuentra el gen *FOXP1B* (MIM 164874) expresado durante el desarrollo cerebral fetal.<sup>116</sup> Estos autores proponen que la haploinsuficiencia de la región 14q32-qter es la responsable de las dismorfias faciales, la susceptibilidad a infecciones y las alteraciones en el comportamiento.

<sup>116</sup>

Schlade-Bartusiak K, *et al.*, en 2005, refieren que todos los pacientes con anillo en el cromosoma 14 que tengan puntos de ruptura en 14q32 presentan discapacidad intelectual y crisis convulsivas.<sup>119</sup>



**Figura 18.** 4 casos reportados con anillo del cromosoma 14. Nótese la cara alargada, frente alta, cejas rectas, hipertelorismo, epicanto, puente nasal ancho, filtrum largo, boca en carpa. Imagen modificada de Zollino M, *et al.* 2012.<sup>114</sup>

### 1.10.2 Síndrome por deleción 14q32-qter

La deleción terminal 14q32-qter es la deleción más frecuente relacionada con el brazo largo del cromosoma 14. Se han reportado más de 80 casos con esta alteración citogenética. Hay más mujeres afectadas que varones en una relación de 2:1.<sup>104</sup> El fenotipo asociado con la deleción terminal del brazo largo del cromosoma 14 incluye discapacidad intelectual, hipotonia, retraso en el crecimiento, microcefalia, cara larga y estrecha, frente alta con hipertriosis lateral, fisuras palpebrales descendentes, blefarofimosis, epicanto, punta nasal bulbosa con puente ancho y deprimido, filtrum largo y ancho, labio superior delgado, boca pequeña en forma trapezoidal, paladar alto, alteraciones en la dentición, pabellones auriculares de baja implantación, micrognatia, pliegue palmar transversal único<sup>120,121</sup> (Figura 19).



**Figura 19.** Femenino con deleción terminal 14q32. Nótese la frente alta, depresión bitemporal, blefarofimosis, ptosis, epicanto, puente de la nariz ancho, punta nasal bulbosa, narinas antevertidas, filtrum largo, micrognatia y pabellones auriculares de baja implantación. Imagen modificada de van Karnebeek, *et al.*, 2002.<sup>120</sup>

Otras malformaciones asociadas son las cardiopatías congénitas, oftalmológicas (colobomas, microcórnea y nistagmo), hipoacusia, alteración del sistema nervioso central, gastrointestinales (reflujo gastroesofágico y constipación) y genitorurinarias.<sup>103</sup> Manifestaciones clínicas menos frecuentes son escoliosis, pie equino varo, hernia umbilical e hipoplasia renal unilateral.<sup>116</sup>

Las variaciones fenotípicas de los pacientes son variables de acuerdo al tamaño de la deleción que presenten. La región crítica del síndrome de deleción 14q es 14q32.3-qter. La deleción pura terminal 14q32, sin anillo del cromosoma 14 o trisomías parciales, se ha reportado únicamente en 16 pacientes.<sup>116</sup>

## **2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

En el Departamento de Genética del HIMFG se realizan aproximadamente 700 estudios anuales de cariotipo por bandas GTG, la mayor parte de las indicaciones de los estudios son la sospecha clínica de alteraciones numéricas y estructurales de los cromosomas. El estudio de dichas aberraciones cromosómicas en particular de los anillos de autosomas es relevante ya que presentan una variabilidad fenotípica extensa, incluso en los casos que comparten el mismo cromosoma con puntos de ruptura similares y existe la posibilidad tecnológica de caracterizarlos por estudios citogenéticos-moleculares que permitirían establecer una relación fenotipo-genotipo. Por ello nos planteamos la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál es el tipo y la frecuencia de casos de anillos de autosomas en pacientes quienes acudieron al HIMFG entre 2001 y 2012?

### **3. JUSTIFICACIÓN**

El Departamento de Genética del HIMFG es un centro de concentración y referencia nacional de pacientes con manifestaciones clínicas que pueden asociarse a cromosomopatías. Conocer el tipo y la frecuencia de estas alteraciones, en particular de los casos de pacientes diagnosticados con anillos cromosómicos, nos permitirá establecer detalladamente el tipo de alteraciones que se presentan en nuestra población. Por otra parte, si bien se conoce la estadística general en los reportes periódicos mensuales de nuestro laboratorio, no se cuenta a la fecha de una descripción detallada de dichas alteraciones y en particular de lo correspondientes a los anillos autosómicos, de los cuales existen pocos casos reportados en la literatura. Los pacientes identificados con estas alteraciones en el periodo de 2001 al 2012 fueron beneficiados por estudios citogenéticos moleculares que complementaron tanto su diagnóstico como el asesoramiento genético y además se aportó conocimiento sobre las bases etiopatológicas de estas alteraciones en particular en los casos de anillos autosómicos.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo principal:**

- Describir el perfil de las alteraciones numéricas y estructurales de los cromosomas autosómicos en pacientes atendidos en el HIMFG de 2001 a 2012.

### **4.2 Objetivos secundarios:**

- Determinar el tipo y la frecuencia de las alteraciones numéricas y estructurales de cromosomas autosómicos.
- Identificar los casos en donde se haya reportado anillo de cromosoma autosómico.
- Identificar de los casos de anillos cromosómicos aquellos pacientes quienes podrían beneficiarse de los estudios de citogenética molecular.



## **5. MATERIAL Y MÉTODOS**

La metodología se dividió en dos secciones: la primera corresponde al análisis estadístico de los estudios de cariotipo reportados con alteraciones cromosómicas numéricas y estructurales de los autosomas y en la segunda parte se describen dos casos clínicos con anillos cromosómicos a quienes se les realizó estudio citogenético molecular.

### **5.1. Metodología del análisis estadístico**

- Se revisaron las libretas de los estudios de cariotipo con bandas GTG y realizados en sangre periférica reportados desde enero de 2001 hasta diciembre de 2012 realizados en el Laboratorio de citogenética del Departamento de Genética del Hospital Infantil de México Federico Gómez (HIMFG). Se obtuvo el número total de cariotipos reportados en este periodo, se analizaron de acuerdo al tipo y frecuencia de alteraciones cromosómicas tanto estructurales como numéricas.

### **5.2 Metodología**

- Se identificaron aquellos pacientes que tenían un reporte de anillo cromosómico en autosomas.
- Se revisaron los expedientes clínicos de los pacientes identificados, de acuerdo a los criterios del estudio, se eligieron dos pacientes, uno con anillo del cromosoma 9 y otro del 14 para realizar el análisis descriptivo de las características clínicas y se les realizó estudio citogenético molecular para determinar la cantidad de material perdido y establecer la relación con el fenotipo.
- Se citaron a la consulta a los pacientes y previo consentimiento informado, se realizó toma de muestra de sangre periférica para cariotipo, FISH y SNP. Estos estudios se efectuaron en colaboración con el Servicio de Genética del Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga (HGMDL). Se analizaron los cariotipos con la técnica de FISH empleando sondas TelVysion y estudio por mapeo genómico con microarreglos de alta densidad para caracterizar los anillos, de acuerdo al caso particular.

- Para los estudios de cariotipo molecular se obtuvo DNA genómico de cada paciente, el cual se extrajo 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 a cabo 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. Todo el procesamiento, hibridación y cuantificación se realizó de acuerdo al protocolo provisto por la compañía manufacturadora. Los datos fueron analizados 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 fueron: resolución de 50 kb y un mínimo de 390 marcadores. Se utilizó la función *Joining* para fusionar interrupciones menores a 200 kb. El mapeo se realizó con base en el *ensamble Feb 2009* (GRCh 37/hg19) del genoma humano.

### **5.3 DISEÑO DEL ESTUDIO**

Es un estudio descriptivo, observacional y retrospectivo.

#### **5.3.1 VARIABLES**

Cualitativas nominales: género, diagnóstico y tipo de alteraciones cromosómicas.

#### **5.3.2 CRITERIOS DE SELECCIÓN**

##### CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Reporte de cariotipo con alteración cromosómica numérica o estructural de autosomas.

##### CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Resultados no claros y/o no legibles.

##### CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

- Alteraciones numéricas y estructurales de cromosomas sexuales.

#### **5.3.3 CRITERIOS DE SELECCIÓN DE PACIENTES**

##### CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Pacientes con diagnóstico citogenético de anillo de cromosomas autosómicos.
- Que puedan ser localizados, con expediente clínico y aceptaran participar en el estudio.

##### CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Pacientes no localizables.
- Contraindicación para la toma de muestra.

##### CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

- Muestra sin crecimiento o insuficiente para realizar el estudio.

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 RESULTADOS DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El total de estudios de cariotipo reportados en el periodo de enero de 2001 a diciembre de 2012 fue de 8,060 estudios; 1915 de estos estudios se reportaron con alteraciones cromosómicas (30.47%), en 1,566 casos (81.77%) correspondieron a alteraciones en cromosomas autosómicos y 349 casos (18.22%) involucraron cromosomas sexuales.

De los 1,566 casos con alteraciones autosómicas, 302 casos correspondieron a alteraciones estructurales (19.28%) y 1,264 (80.71%) a alteraciones numéricas. Las alteraciones estructurales más frecuentes fueron las translocaciones, reportadas en 159 (10.15%) pacientes, seguidas de las deleciones e inversiones observadas en 45 (2.87%) y 43 (2.74%) pacientes respectivamente. Se identificaron 39 (2.5%) cariotipos con material adicional, 11 (0.7%) anillos cromosómicos, 4 (0.3%) duplicaciones y 1 (0.06%) isocromosoma del cromosoma 18 (Tabla 5).

**Tabla 5.** Alteraciones de cromosomas autosómicos en el período 2001 al 2012.

<b>Alteración de cromosomas autosómicos</b>	<b>n=1,566</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>Numéricas</b>	<b>1,264</b>	<b>80.71%</b>
Trisomía 21	1205	76.9%
Trisomía 18	31	1.9%
Trisomía 13	12	0.7%
<b>Estructurales</b>	<b>302</b>	<b>19.28%</b>
Translocaciones	159	10.15%
Deleciones	45	2.87%
Inversiones	43	2.74%
Anillos	11	0.7%
Duplicaciones	4	0.3%
Isocromosomas	1	0.06%

En relación a los dos cromosomas de interés para esta tesis, se reportaron 39 casos con alteraciones del cromosoma 9, de las cuales 32 correspondieron a inversiones, presentes en 14 mujeres y 18 varones. Se reportó una duplicación y una deleción del brazo largo de este cromosoma. Se identificaron además 3 translocaciones: t(X;9)(p11;q34), t(1;9)(q25;p22) y t(4;9)(p16;p13), una trisomía 9 y un anillo (Tabla 6).

**Tabla 6.** Alteraciones en el cromosoma 9 en el período de 2001 al 2012.

	<b>Número de casos</b> <b>n=39</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>Inversiones</b>	32	82%
<b>Translocaciones</b>	3	7.7%
<b>Duplicación</b>	1	2.6%
<b>Deleción</b>	1	2.6%
<b>Anillo</b>	1	2.6%
<b>Trisomía 9</b>	1	2.6%

En relación al cromosoma 14 se reportaron 33 alteraciones de las cuales 32 fueron translocaciones robertsonianas y sólo se reportó un anillo del cromosoma 14. La t(14;21)(q10;q10) fue la más frecuentemente reportada, con 27 pacientes, 17 eran del sexo masculino y 10 del sexo femenino, además se encontraron 5 con t(13;14)(q10;q10), tres en individuos del sexo femenino y dos del sexo masculino (Tabla 7).

**Tabla 7.** Alteraciones del cromosoma 14 en el período de 2001 al 2012.

	<b>Número de casos</b> <b>n=33</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>Translocaciones robertsonianas</b>	<b>32</b>	<b>97%</b>
<b>t(14;21)</b>	27	82%
<b>t(13;14)</b>	5	15%
<b>Anillo</b>	<b>1</b>	<b>3%</b>

Considerados en conjunto, de los 11 casos reportados con anillo cromosómico 5 son del sexo masculino y 6 del sexo femenino. Las edades de los pacientes van desde los 7 meses hasta los 14 años con 5 meses. Se reportaron dos anillos del cromosoma 4 y del 21 y un caso de anillo de los cromosomas 5, 9, 13, 14, 18, 19, 20, respectivamente (Tabla 8).

**Tabla 8.** Anillos autosómicos identificados del año 2001 al 2012.

Paciente	Sexo	Edad	Anillo	Cariotipo
1	M	7 m	r(4)	46,XY,r(4)[25]
2	F	1a 8 m	r(4)	46,XX,r(4)(::p16→q35::),16qh+[25]
3	M	14a 5m	r(5)	mos46,XY,r(5)(::p15.3→q35.3::)[82]/46,XY[18]
4	M	5a	r(9)	46,XY,r(9)(::p24→q34::)[35]
5	M	2a 1m	r(13)	46,XY,r(13)[30]
6	F	11a 11m	r(14)	46,XX,r(14)(::p11→q32::)[90]
7	F	8a 8m	r(18)	46,XX,r(18)(::p11.3→q23::)[50]
8	F	10a	r(19)	mos46,XX,r(19)(::p13→q13::)[46]/46,XX[4]
9	F	10a 10m	r(20)	mos46,XX,r(20)(::p13→q13.3::)[18]/46,XX[5]
10	M	2a	r(21)	46,XY,r(21)(::p11→q22.3::)[25]
11	F	2a 8m	r(21;21)	46,XX,+21,idic r(21;21)(::q22.3→p11.2?:p11.2?→q22.3::)[41]

## 6.2 Discusión de los resultados estadísticos

Los resultados del análisis estadístico reportados en este trabajo muestran que el 30.47% de los cariotipos tienen alguna alteración cromosómica, porcentaje similar a lo reportado en la literatura que varía desde el 17 al 38% en diferentes poblaciones que incluyen desde recién nacidos hasta edad adulta, en particular la edad de la población de pacientes estudiada en este trabajo abarca todos los grupos de edad, desde recién nacidos hasta adultos.<sup>119,120</sup>

En este análisis las alteraciones numéricas se reportaron en 1,425 pacientes lo que corresponde al 74% del total de casos con alteraciones cromosómicas, de estas las alteraciones numéricas en cromosomas autosómicos fueron las más frecuentes correspondiendo a 1,264 casos que constituyen el 88.7% de los estudios. Las alteraciones estructurales se encontraron en 341 casos que representan el 18% del total de alteraciones cromosómicas, 302 de ellas ocurrieron en cromosomas autosómicos lo que corresponde al 19.28% de los cariotipos con resultado anormal.

Existen diferentes series de pacientes con los que pueden compararse nuestros resultados. En el estudio reportado por Aiassa D, *et al.*, 2010,<sup>125</sup> realizado en un servicio de Genética en Argentina, las alteraciones numéricas se encontraron en el 63.10% del total de resultados con alteración cromosómica. En este mismo estudio las alteraciones estructurales se encontraron en el 24.27% de los casos. Por otra parte en el estudio de Estay A, *et al.*, 2007,<sup>124</sup> se reportó que de los estudios con alteraciones cromosómicas, el 76.67% correspondieron a alteraciones numéricas y el 23.33% a alteraciones estructurales en cromosomas autosómicos. Wellesley *et al.*, en 2012,<sup>126</sup> encontraron que en su serie de pacientes, las alteraciones numéricas representaban el 74% de los casos y las estructurales el 18%. Tomados en conjunto vemos que estos datos demuestran que las alteraciones numéricas se consideran las alteraciones cromosómicas más frecuentes y los porcentajes obtenidos en nuestro trabajo son muy parecidos a los datos reportados en la literatura a pesar de que el número de individuos y las poblaciones reportadas en cada uno es muy variable (Tabla 9).

**Tabla 9.** Alteraciones cromosómicas reportadas en la literatura.

Alteración de cromosomas	Estay A, et al. <sup>124</sup> 2007 Chile		Wellesley D, et al. <sup>126</sup> 2012 Europa $\alpha$		HIMFG 2014 México	
	n=120	Porcentaje	n=12,060	Porcentaje	n=1915	Porcentaje
<b>Numéricas</b>	<b>92</b>	<b>76.67%</b>	<b>10,323</b>	<b>86%</b>	<b>1,425</b>	<b>74%</b>
Trisomía 21 libre	69	57.5%	5422	53%	1205	63%
Trisomía 18 libre	5	5.43%	1377	13.3%	31	1.6%
Trisomía 13 libre	5	5.43%	536	5.19%	12	0.63%
<b>Estructurales</b>	<b>28</b>	<b>23.33%</b>	<b>1,737</b>	<b>14.4%</b>	<b>341</b>	<b>18%</b>
Translocaciones	10	8.33%	221	1.83%	159	8.3%
Deleciones	2	1.66%	736	6.1%	45	2.34%
Inversiones	-	-	-	-	43	2.24%
Anillos	-	-	-	-	11	0.57%
Duplicaciones	2	1.66%	165	1.4%	4	0.2%
Isocromosomas	2	1.66%	-	-	1	0.05%

$\alpha$ : Registro del EUROCAT.

En este trabajo la trisomía 21 fue la alteración numérica más frecuente y se encontró en el 63% del total de casos; el segundo lugar de frecuencia lo tuvo la trisomía 18 que representa el 1.6% de dichas alteraciones, seguida de la trisomía 13 reportada en el 0.63% de los casos. Se encontró un caso de trisomía 9 y uno de trisomía 8 en sangre periférica aparentemente pura. En cuanto a la frecuencia de la trisomía 21 coincide con lo reportado en trabajos previos, sin embargo para la trisomía 13 y 18 en nuestro trabajo se reportaron con una menor frecuencia que lo reportado en la literatura.<sup>124,125,126</sup>

Las translocaciones son las alteraciones estructurales más frecuentes en nuestra población en donde se reportaron en más del 50% de los estudios citogenéticos, de éstas las translocaciones robertsonianas fueron las más frecuentes, siendo las translocaciones t(13;14) y t(21;21) las más representativas. Este porcentaje es similar al estudio reportado por Estay A, et al.<sup>124</sup> sin embargo es diferente a lo reportado en el estudio de Wellesley A, et al.<sup>126</sup> quienes reportaron las deleciones como las más frecuentes, seguidas de las translocaciones.



Las inversiones fueron la tercera alteración estructural más común (2.74%), siendo la inversión del cromosoma 9 (polimorfismo cromosómico) la más frecuentemente reportada ya que se encontró en 32 de 43 inversiones (74%), esta alteración se ha reportado hasta en el 2% de la población general y es la inversión recurrente más común<sup>52</sup>, dato corroborado por nuestro estudio.

Los anillos cromosómicos autosómicos identificados en esta población correspondieron al 0.57% del total de las alteraciones cromosómicas. 4 de los 11 anillos cromosómicos (36%) fueron reportados en cromosomas acrocéntricos, lo cual es menor a lo reportado en la literatura en donde se refiere que hasta el 50% de los anillos ocurren en cromosomas acrocéntricos.<sup>88</sup> En nuestro estudio estos anillos se encontraron con mayor frecuencia en cromosomas submetacéntricos correspondiendo a 6 de 11 casos (55%). La frecuencia de los anillos cromosómicos es de 1/30,000-60,000 en recién nacido vivos.<sup>88</sup> Similar a lo reportado en la literatura, la frecuencia de anillos cromosómicos es muy baja en términos generales.

En este estudio solo se encontró un isocromosoma autosómico, el cual se reportó en el brazo largo del cromosoma 18. Esta alteración igualmente es muy poco frecuente, como lo demuestra el hecho de que en el estudio europeo<sup>126</sup> no se registró ningún caso y en el chileno<sup>124</sup> únicamente se encontró en dos casos.

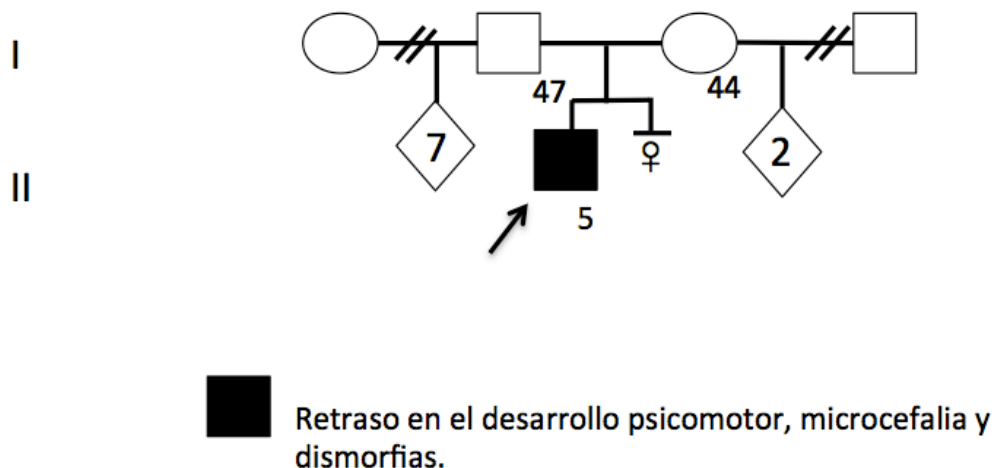
Con el presente trabajo se pudo definir la frecuencia de alteraciones cromosómicas autosómicas, en particular las estructurales de los pacientes atendidos en el Departamento de Genética del HIMFG. Este es un registro y análisis de trascendencia ya que hasta donde sabemos no hay registros sistematizados de alteraciones cromosómicas en nuestro país y este registro refleja lo que ocurre en una población particular de pacientes de un centro de atención de tercer nivel que es además un centro de concentración nacional para estas alteraciones.

## 7. Presentación de Casos

En este trabajo fue posible ofrecer estudios de citogenética molecular a dos pacientes con anillo de los cromosomas 9 y 14 respectivamente.

**7.1 CASO 1.** Masculino de 5 años de edad (Figura 21, individuo II.2) conocido en el Departamento de Genética del HIMFG a los 11 meses de edad, fue referido por diagnóstico de retraso en el desarrollo psicomotor, microcefalia y dismorfias.

**Antecedentes heredofamiliares:** padre de 43 años y madre de 39 años a la concepción, aparentemente sanos, no consanguíneos. Nueve medios hermanos aparentemente sanos. Sin antecedentes heredofamiliares de importancia para el padecimiento actual (Figura 21).



**Figura 21.** Árbol genealógico del caso 1.

**Antecedentes personales no patológicos:** producto de gesta 3, embarazo normoevolutivo, producto obtenido vía abdominal a las 42 SDG por falta de progreso del trabajo de parto, se desconoce Apgar, lloró y respiró al nacer. Pesó 3 200gr (P.25), midió 50 cm (P. 25).

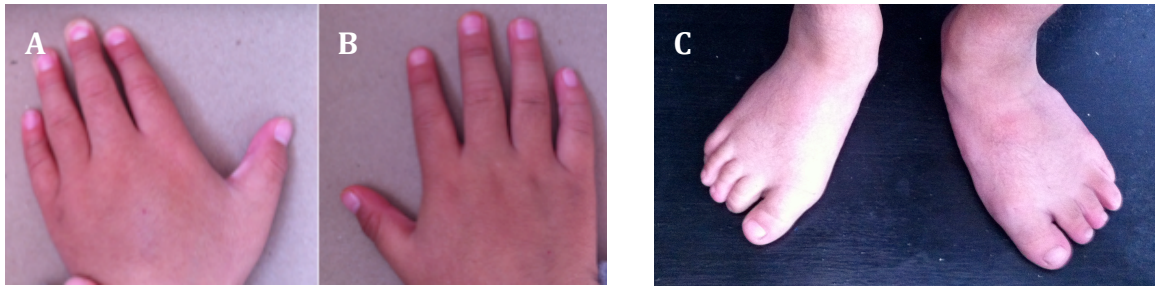
**Desarrollo psicomotor:** sonrisa social a los 2 meses, sostén cefálico 5 meses, sedestación 1 año, marcha 2 años 6 meses, actualmente sin control de esfínteres y falta del desarrollo de lenguaje.

**Exploración física:** perímetro cefálico 44 cm (P. <3), talla 97 cm (P. <3), peso 15 kg (P. 5), escolar masculino de edad aparente menor a la cronológica, activo, reactivo, hipotonía central, microbraquicefalia, implantación baja de la línea anterior del cabello, hipoplasia medio facial, cejas arqueadas, pseudosinofris, fisuras palpebrales ascendentes, nariz con base ancha, narinas antevertidas, filtrum borrado, labios gruesos, labio inferior evertido, microretrognatia.

Implantación baja de pabellones auriculares, cuello corto, tórax simétrico, cardiopulmonar sin compromiso, abdomen sin alteraciones, genitales externos masculinos, extremidades superiores con clinodactilia del 5to dedo, extremidades inferiores con braquidactilia y dedos espatulados con uñas cuadradas (Figuras 22 y 23, fotografías tomadas con consentimiento informado, Anexo 1).



**Figura 22.** Fotografías clínicas del paciente 1. A) Fascie tosca, pseudosinofris, hipertelorismo, base de la nariz ancha, narinas antevertidas y labio inferior evertido. B) Hipoplasia medio facial, microretrognatia y cuello corto. C) Hirsutismo.



**Figura 23.** A y B) Manos con braquidactilia y clinodactilia del quinto dedo bilateral. C) Braquidactilia, dedos espatulados.

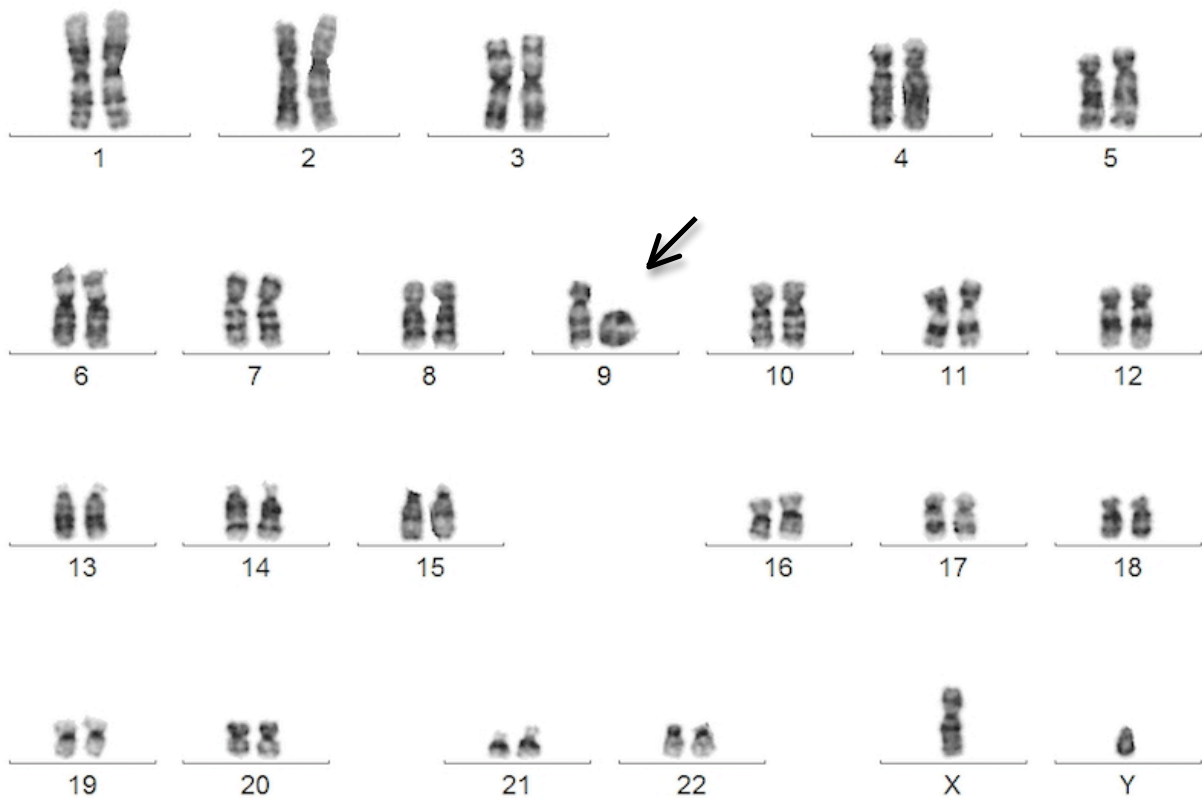
Como parte de su abordaje multidisciplinario se realizó una resonancia magnética de cráneo con impresión diagnóstica de acúmulos de mielina en sustancia blanca periventricular y supramarginal izquierda. El ecocardiograma reportó corazón estructuralmente sano, se diagnosticó hipoacusia severa bilateral por potenciales evocados auditivos del tallo cerebral y a los 2 años 7 meses se colocaron tubos de ventilación secundario a otitis media serosa bilateral. El paciente continúa en seguimiento y manejo.

### 7.1.1 Estudios de citogenética

Se solicitó nuevamente estudio cromosómico con técnica de bandas GTG en sangre periférica (previo consentimiento informado; anexos 2 y 4) el cual reportó un complemento cromosómico:

46,XY,r(9)(::p24→q34::)[35]

En colaboración con el HGMDL se analizaron 50 metafases más encontrándose: 38 células con anillo del cromosoma 9; monosomía del 9 en 9 células; doble anillo cromosómico en 2 células y 1 célula sin anillo pero con un marcador (Figuras 24 y 25). Se solicitó cariotipo a los padres, ambos estudios se reportaron normales.



**Figura 24.** Cariotipo en sangre periférica con bandas GTG del caso 1, el anillo es señalado por la flecha (M. en C. Judith Villa Morales, Lab. de citogenética, Depto. de Genética, HIMFG).

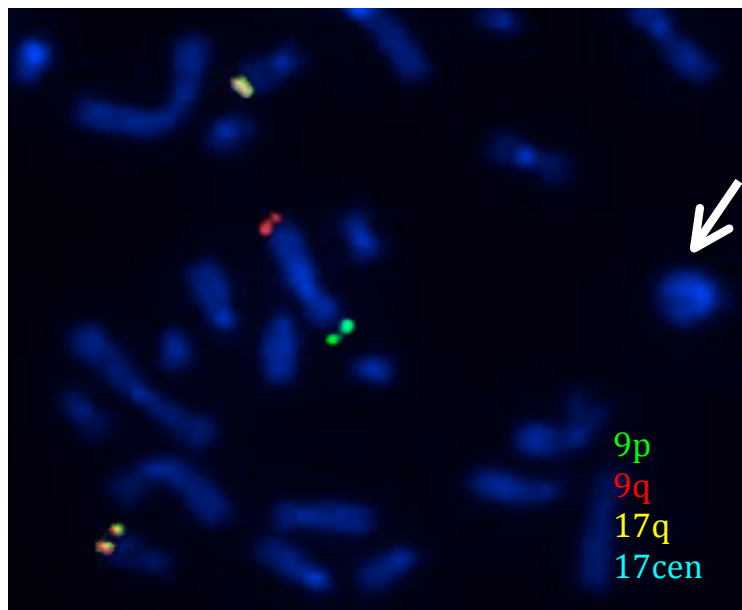


**Figura 25.** Cariotipo parcial del caso 1 en donde se observa el anillo del cromosoma 9.

Se realizó análisis por FISH (Anexo 3) con sondas TelVysion (casa comercial) para las regiones subtelo méricas 9p (305J7-T7) marcada con fluoróforo verde y 9q (D9S325) marcada con fluoróforo rojo. Se reportó la siguiente fórmula cromosómica:

46,XY,r(9)(:p24→q34::)[35].ish r(9)(305J7-T7-,D9S325-)

la cual demuestra la pérdida de las regiones subtelo méricas de los brazos corto y largo del cromosoma 9 (Figura 26).



**Figura 26.** Metafase parcial con FISH del caso 1. Se emplearon sondas subtelo méricas del cromosoma 9 marcadas en verde y rojo. En el anillo (flecha blanca) no se observan las señales de las regiones subtelo méricas del cromosoma 9 (M. en C. Laura Gómez Laguna y Biol. Karem Nieto Martínez, Servicio de Genética, HGMDL, Facultad de Medicina, UNAM).

### 7.1.2 Cariotipo molecular

Se realizó análisis con microarreglos Cytoscan de alta densidad (**Affymetrix Inc., Santa Clara, CA, USA**) (Anexo 5) en donde se identificaron dos deleciones en el cromosoma 9, una de ellas abarcando 0.36 Mb en la región p24.3-pter y la otra de 0.79 Mb en 9q34.3-qter. Además, se identificó una ganancia en mosaico en el cromosoma Y (Tabla 10 y figuras 27 y 28). Asimismo, se identificó la pérdida de 14 genes en las regiones subteloméricas del cromosoma 9 (Tabla 11).

**Tabla 10.** Regiones con ganancias y pérdidas de material genético en 9p24.3 y 9q34.3 detectadas por el microarreglo en el caso 1.

<b>Cromosoma</b>	<b>Número de copias</b>	<b>Tipo</b>	<b>Banda</b>	<b>Tamaño (Mb)</b>
<b>9</b>	1	Pérdida	q34.3	0.79
<b>9</b>	1	Pérdida	p24.3	0.36
<b>Y</b>	1.0709021	Ganancia/Mosaico	p11.31	26

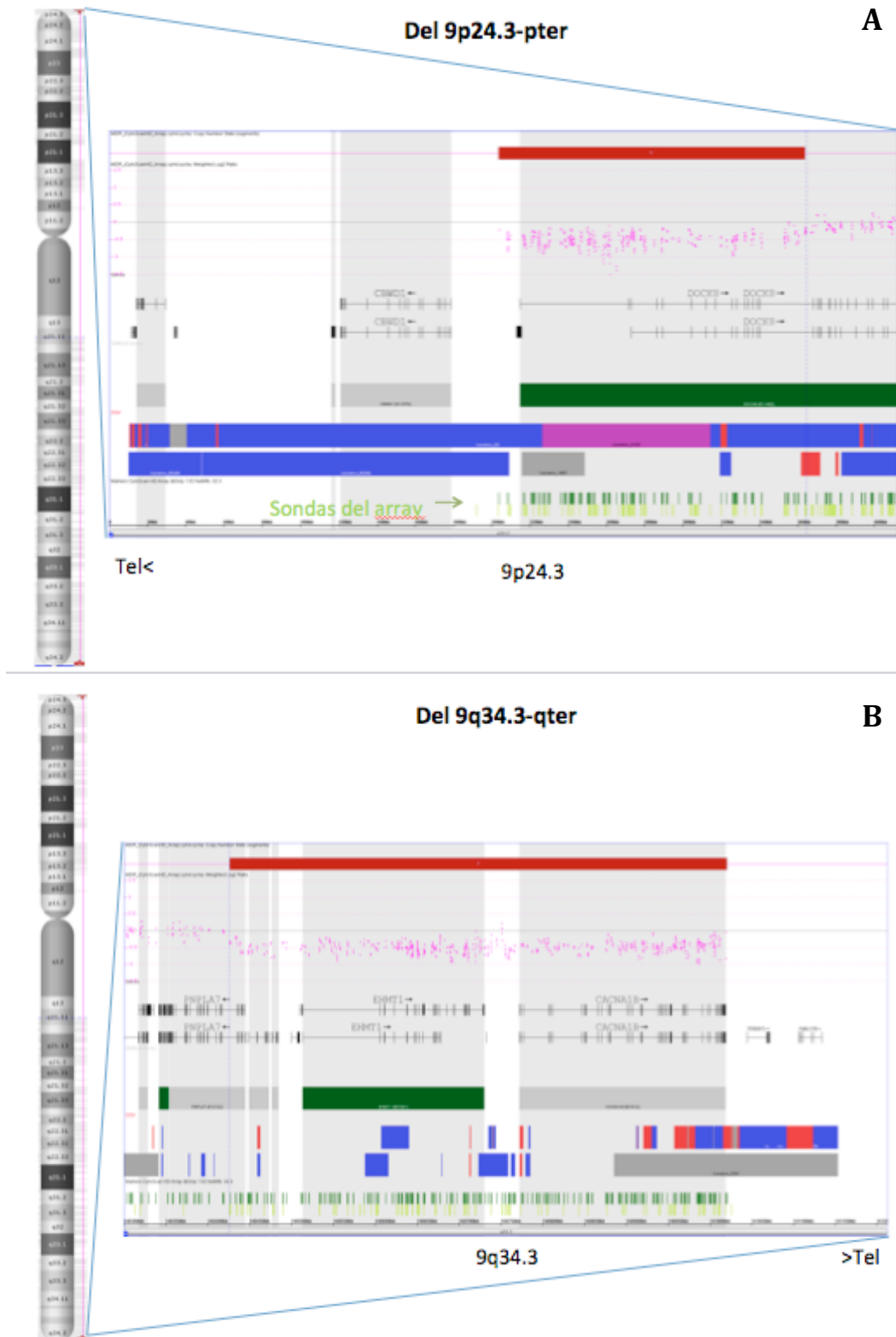
**Tabla 11.** Genes codificantes en las regiones subteloméricas del cromosoma 9 con pérdida de una copia en el caso 1.

<b>Locus</b>	<b>Genes</b>	<b># MIM</b>	<b>Fenotipo</b>
<b>9p24</b>	<i>DOCK8</i>	611432	Retraso mental autosómico dominante / Síndrome de infecciones recurrentes hiper-IgE autosómico recesivo
	<i>FOXD4</i>	601092	-
	<i>CBWD1</i>	611078	-
	<i>C9orf66</i>	-	-
<b>9q34</b>	<i>PNPLA7</i>	612122	-
	<i>MRPL41</i>	611846	-
	<i>WDR85</i>	613210	-
	<i>ZMYND19</i>	611424	-
	<i>EHMT1</i>	607001	Síndrome de Kleeftstra
	<i>CACNA1B</i>	601012	-
	<i>ARRDC1</i>	-	-
	<i>FLI40292</i>	-	-
	<i>MIR602</i>	-	-



**Figura 27.** Microarreglo Cytoscan HD Chromosome Analysis Suite 2.0. Se muestran las regiones con pérdida de material (Dr. Fernando Fernández Ramírez, Servicio de Genética, HGMDL).





**Figura 28.** Microarreglo Cytoscan HD Chromosome Analysis Suite 2.0. Amplificación de las regiones con deleción. A) Se observa la deleción de 9p24.3-pter. B) Se representa la deleción de 9q34.3-qter (Dr. Fernando Fernández Ramírez, Servicio de Genética, HGMDEL).

### 7.1.3 Discusión caso clínico 1

El paciente fue referido por retraso en el desarrollo psicomotor, dismorfias y microcefalia, lo que ameritó la realización de estudios citogenéticos. Los estudios de citogenética-molecular confirmaron tres alteraciones: 1) pérdida de material genético en 9p24.3 de 0.15 Mb, 2) pérdida de material genético en 9q34.3 de 0.6 Mb correspondientes a las regiones subteloméricas del cromosoma 9, lo anterior ocasionando por la formación del anillo autosómico por fusión de los extremos libres y 3) ganancia de material que se presenta en mosaico en muy baja proporción de Yp11.31 a Yq12. Considerando estos resultados, el fenotipo del paciente es debido a la superposición de los datos clínicos asociados a los síndromes por delección respecto a cada región cromosómica involucrada, es decir por del9p24.3 y del9q34.3.<sup>90,103,104,109,110</sup>

En la región 9p24 se perdió el gen *DOCK8* (Tabla 11), el cual se asocia con el síndrome de infecciones recurrentes hiper-IgE. Nuestro paciente no tiene antecedente de infecciones recurrentes y debido a que la asociación de este gen con dicho cuadro clínico tiene un patrón de herencia autosómico recesivo no tiene repercusión en el fenotipo del paciente presentado en este trabajo.

Este gen también se asocia con retraso mental autosómico dominante, por lo que la haploinsuficiencia de este gen podría ser una de las explicaciones para la presentación del retraso mental en este paciente. Sin embargo, es importante mencionar que los pacientes con síndrome del anillo autosómico presentan retraso en el crecimiento y desarrollo, dismorfias menores y retraso mental, por lo que también es una característica relacionada con la formación del anillo.<sup>54,64</sup>

En la revisión de la literatura se encontró que el retraso en el desarrollo psicomotor y/o retraso mental se reportó en el 100% (7/7) de los casos con delecciones en 9p24 y 9q34.3, mientras que en los casos reportados con síndrome del anillo del cromosoma 9 fue del 75% (3/4).<sup>86,91,93,96,98,104,105</sup>

En cuanto a las dismorfias faciales reportadas en el caso clínico tales como las cejas arqueadas, sinofris, hipoplasia medio facial, narinas antevertidas, microrretrognatia e hirsutismo son datos clínicos que se encuentran en el Síndrome de Kleeftstra (MIM 610253) el cual es causado por microdelecciones o mutaciones del gen *EHMT1*.<sup>109</sup>

En el análisis molecular se demostró que se perdió este gen localizado en la región 9q34.3 en nuestro paciente (Tabla 11). Por ello, debemos considerar que tiene un diagnóstico de síndrome de Kleeftstra.

El microarreglo detectó un mosaicismo en muy baja proporción, probablemente menor del 10% de las células, para el cromosoma Y, en 400 núcleos analizados por FISH con sondas centroméricas de los cromosomas X, Y y 18 sólo se encontró uno con dos señales para el Y. Es importante mencionar que nuestro paciente no presenta ningún dato clínico descrito en pacientes con cariotipo 47,XYY y no sabemos si este mosaico se encuentre en otros tejidos o únicamente en sangre, por lo que podemos concluir que dicha alteración no repercute en el fenotipo del paciente.

El síndrome del anillo cromosómico del 9 se asocia además de a la haploinsuficiencia de los genes localizados en las regiones subteloméricas, a la inestabilidad mitótica por lo que el fenotipo del paciente es mucho más complejo que el fenotipo esperado para un síndrome puro por delección.<sup>90,95,97</sup> Lo anterior se ha descrito en relación a la gran variabilidad de las manifestaciones clínicas que presentan estos pacientes e incluso ha sido observada en aquellos pacientes que comparten la alteración no solo en el mismo cromosoma sino incluso con puntos de ruptura similares.

Para realizar el análisis clínico y la correlación fenotipo-cariotipo deben considerarse las características clínicas del síndrome por del9p24.3 y ser comparadas con los datos clínicos del paciente, lo mismo debe hacerse en relación a la del9q34.3 y el síndrome por cromosoma en anillo del 9.

El análisis comparativo de las características clínicas de nuestro paciente con los casos reportados en la literatura se muestra en la Tabla 12. En relación a las características generales del paciente, éste presentó talla baja, de acuerdo al análisis fenotípico podemos observar (Tabla 12) que dicha alteración se presentó en el 31.7% (8/26) de los casos con del9q34.3, en el 50% (2/4) de los casos con r(9) y en ningún caso de del9p24.3, pudiendo sugerir que esta característica en los casos de alteración del cromosoma 9 se puede presentar asociada a la región q34 o al síndrome del anillo autosómico.<sup>86,91,93,96,98,104,105</sup>

**Tabla 12.** Manifestaciones clínicas reportadas en pacientes con anillo del cromosoma 9, síndrome por delección 9p y 9q comparadas con las manifestaciones clínicas del caso clínico 1.

	Lanzl <i>et al.</i> 1996 <sup>47</sup>	Purandare <i>et al.</i> 2005 <sup>55</sup>	Sibbesen <i>et al.</i> 2013 <sup>60</sup>	Hauge <i>et al.</i> 2008 <sup>103</sup>	Swinkles <i>et al.</i> 2008 <sup>101</sup>	Ness <i>et al.</i> 2005 <sup>110</sup>	Willemssen <i>et al.</i> 2012 <sup>109</sup>	Caso clínico
	n=1	n=2	n=1	n=6	n=2	n=12	n=16	1
	Italia	EUA	Dinamarca	EUA	Países Bajos	Australia	Países Bajos	
Estudio citogenético	r(9)(:p24→q34::)	r(9)(:p24→q34)	r(9)(:p23→q34.3::)	del(9)(p24)	del(9)(p24.3)	del(9)(q34.3)	del(9)(q34.3)	r(9)(:p24.3→q34.3::)
	Cariotipo	Cariotipo y FISH	Cariotipo, MLPA y microarreglos	FISH y microarreglos	Cariotipo y microarreglos	Cariotipo y FISH	MLPA, FISH y microarreglos	Cariotipo, FISH y microarreglos
Talla baja	+	1/2	-	-	-	6/11 (54%)	2/15 (13%)	+
RDPM/RM	+	1/2	+	5/5 (100%)	2/2 (100%)	12/12 (100%)	16/16 (100%)	+
Hipotonía	+	NR	+	4/6 (66%)	1/2 (50%)	10/10 (100%)	NR	+
Crisis convulsivas	+	1/2	-	2/6 (33%)	-	NR	7/16 (44%)	-
Microcefalia	+	1/2	+	-	-	6/8 (75%)	8/14 (57%)	+
Trigonocefalia	-	-	+	1/5 (20%)	-	-	-	-
Cejas arqueadas	-	1/2	+	2/4 (50%)	NR	NR	7/8 (88%)	+
Sinofris	-	1/2	+	1/4 (25%)	-	NR	3/8 (37%)	+
Hipertelorismo	-	-	+	-	NR	6/6 (100%)	6/8 (75%)	-
Fisuras palpebrales ascendentes	+	-	-	-	-	-	3/8 (37%)	+
Epicanto	+	-	+	1/6 (16%)	1/2 (50%)	NR	2/8 (25%)	-
Hipoplasia medio facial	NR	-	+	1/4 (25%)	1/2 (50%)	9/9 (100%)	1/8 (12%)	+
Puente nasal deprimido	-	-	+	-	-	4/4 (100%)	1/8 (12%)	-
Narinas antevertidas	+	+	-	-	-	8/8 (100%)	7/8 (88%)	+
Filtrum largo	-	-	+	3/5 (60%)	1/2 (50%)	1/3 (33%)	5/8 (62%)	-
Micro/retrognatia	+	-	+	-	NR	2/3 (66%)	2/8 (25%)	+
Dismorfia de pabellones auriculares	+	+	+	3/6 (50%)	-	3/5 (60%)	3/8 (37%)	+
Cuello corto	+	-	-	-	1/2 (50%)	NR	6/8 (75%)	+
Hirsutismo	+	-	+	2/6 (33%)	NR	NR	NR	+
Braquidactilia	-	-	-	2/5 (40%)	NR	7/7 (100%)	NR	+
Hipospadias/criptorquidia	+	-	-	1/3 (33%)	2/2 (100%)	5/8 (62%)	5/8 (63%)	-
Retraso del lenguaje	-	+	+	5/5 (100%)	2/2 (100%)	NR	2/16 (13%)	+
Cardiopatía	+	+	-	1/2 (50%)	-	8/9 (88%)	5/16 (31%)	-

NR: no reportado

Nuestro paciente no tiene desarrollo del lenguaje y esta característica se ha reportó en el 100% de los casos (7/7) con deleción 9p24, en el 75% (3/4) en los casos con anillo y únicamente en el 13% (2/16) de los casos con deleción 9q34.3.<sup>86,91,96,98,104</sup> Nuestro paciente presentó pérdida de 4 genes en 9p y 10 en 9q, sin embargo ninguno de ellos se ha relacionado con alteraciones del lenguaje.

Otra manifestación clínica frecuente en los pacientes con anillo o pérdida de regiones subteloméricas en el cromosoma 9 es la presencia de crisis convulsivas, las cuales se han reportado en el 50% (2/4) de los casos con anillo, 25% (2/8) en casos con deleción 9p24 y 43% (7/16) de casos con deleción 9q34.3<sup>86,91,93,96,98,104</sup>, en esta última región se localiza el gen *KCNT* asociado a epilepsia.<sup>94</sup> En el caso de nuestro paciente no presenta pérdida de dicho gen por lo pudiera explicarse la ausencia de ésta característica clínica.

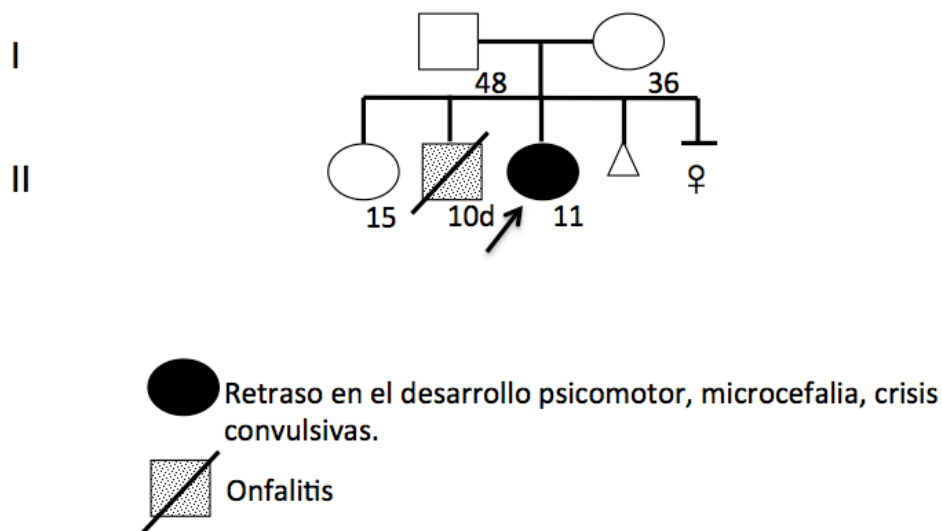
En esta caso no se encontraron alteraciones en genitales y el estudio de microarreglos no demostró pérdida de genes como *DMRT1*, *DMRT2* y *DMRT3*. El 25 % de los casos de síndrome con anillo en el cromosoma 9 presentan hipospadias y/o criptorquidia, 60% (3/5) en los pacientes con deleción 9p24 y en 63% (10/16) de los pacientes con deleción 9q34.3.<sup>93,96,98,104,105</sup> El síndrome por deleción 9p24.3 se caracteriza por reversión sexual en pacientes XY y se debe a la haploinsuficiencia de los genes *DMRT1*, *DMRT2* y *DMRT3*<sup>108</sup>.

El paciente también presenta algunas de las manifestaciones clínicas descritas en el síndrome por deleción 9p como son: cejas arqueadas, hipertelorismo, narinas antevertidas, filtrum largo, micrognatia, pabellones auriculares de implantación baja y uñas cuadradas. Faas *et al.*,<sup>102</sup> han propuesto como genes candidatos del síndrome por deleción 9p a los genes: *FREM1*, *CER1*, *ZDHHC21*, *NFIB*, *MPDZ* y *TYRP1*,<sup>102</sup> sin embargo interesantemente, en este caso no se reportó pérdida de ninguno de ellos, por lo que el fenotipo observado en nuestro paciente corresponden más a las características encontradas en pacientes con deleción en 9q, ya que en 9p perdió muy poco material.

Proponemos que el anillo observado en el caso 1 se derivó de ruptura en ambos brazos cromosómicos con la posterior fusión de estos extremos causando pérdida de material genético en regiones subteloméricas. Se reportó inestabilidad cromosómica expresada como un mosaicismo dinámico en 24% de las células en donde hay células con el anillo cromosómicos y células aneuploides, sin anillo o con variaciones en el tamaño del mismo. Los anillos cromosómicos presentan inestabilidad y puede ocurrir un mosaico dinámico cuando se encuentran aberraciones cromosómicas secundarias en al menos el 5% de las metafases analizadas.<sup>65</sup>

**7.2 CASO 2.** Femenino, actualmente de 11 años 10 meses de edad (Figura 29, individuo II.3), fue referida por el Departamento de Neurología del HIMFG a los 2 años de edad por presentar retraso en el desarrollo psicomotor, microcefalia y crisis convulsivas.

**Antecedentes heredofamiliares:** padres actualmente de 48 años y madre de 36 años, aparentemente sanos, no consanguíneos. Hermana de 15 años aparentemente sana y un hermano finado a los 10 días de vida aparentemente por sepsis neonatal.



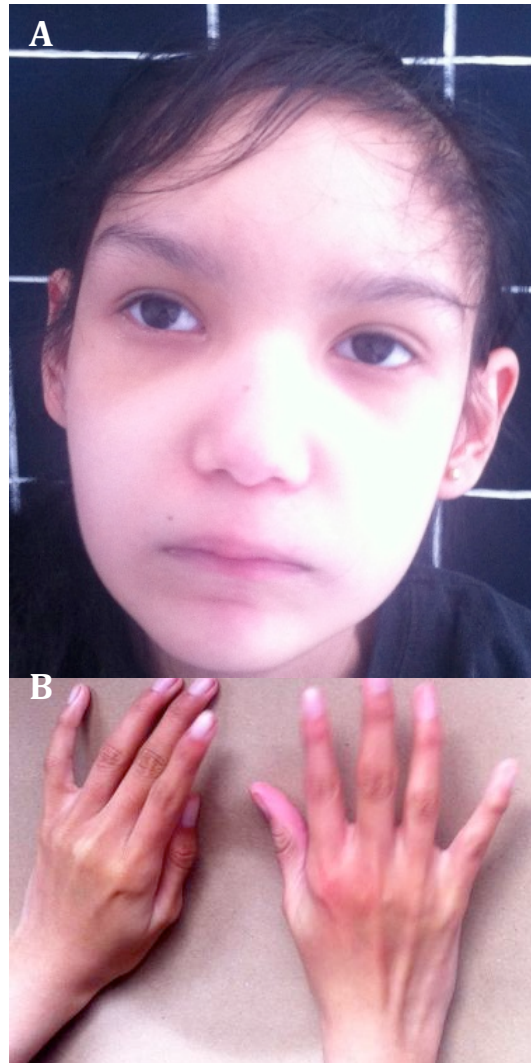
**Figura 29.** Árbol genealógico del caso 2.

**Antecedentes personales no patológicos:** producto de gesta 3, embarazo normoevolutivo, obtenido de término por vía abdominal debido a disociación céfalo pélvica, respiró y lloró al nacer, peso 2,900 gr (P.10), se desconocen talla y Apgar.

**Desarrollo psicomotor:** fijación de la mirada 2 meses, sedestación 7 meses, bipedestación 2 años 6 meses, marcha 2 años 10 meses, actualmente sin desarrollo del lenguaje.

**Exploración física:** perímetro cefálico 51 cm (P.<3), peso 33 kg (P.10), talla 134 cm (P.<3) adolescente femenino de edad aparente menor a la cronológica, poca interacción con el medio, sin contacto visual, microcefalia, frente alta, hipertelorismo, fisuras palpebrales horizontalizadas, puente nasal ancho con punta bulbosa, *filtrum* largo y borrado, labios delgados, paladar alto, cardiopulmonar y abdomen sin alteraciones, extremidades con limitación a la prono-supinación.

Pliegue palmar transverso, dedos largos terminados en punta, extremidades inferiores con limitación a la extensión, pies con dedos en mala posición (Figura 30, fotografías tomadas con consentimiento informado, Anexo 1).



**Figura 30. Fotografías del Caso 2.** A) Se observan: frente alta, cejas rectas, hipertelorismo, puente de la nariz ancho, filtrum largo. B) Manos con dedos largos, delgados, terminados en punta.

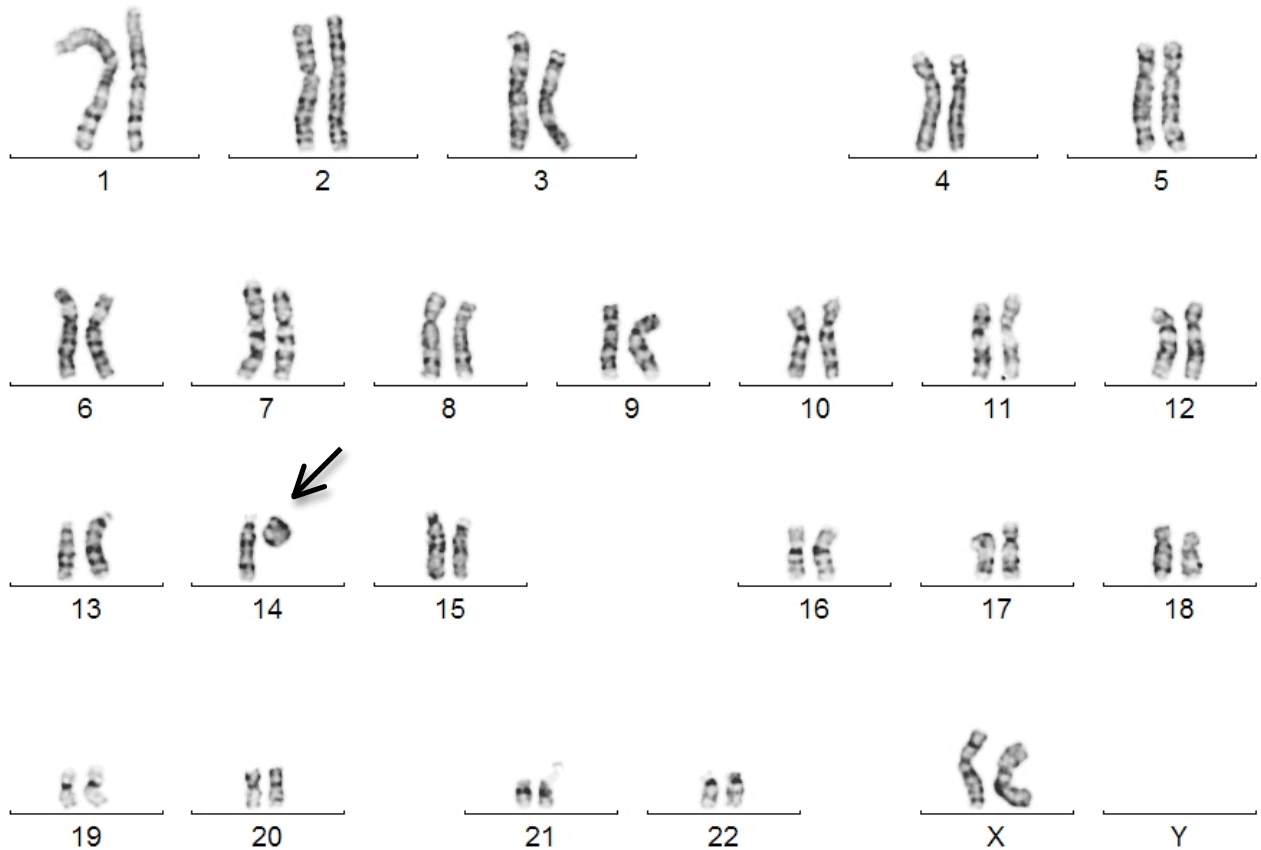
Como parte de su abordaje multidisciplinario se solicitó valoración oftalmológica incluyendo fondo de ojo en donde no se reportaron alteraciones. Se realizó valoración neurológica y electroencefalograma reportando retraso global del desarrollo y epilepsia tónico clónica generalizada de difícil control.

### 7.2.1 Estudios de citogenética

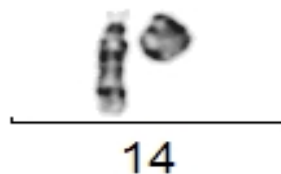
Se realizó nuevamente cariotipo (previo consentimiento informado, anexos 2 y 4) con técnica de bandas GTG (Figuras 31 y 32) el cual se reportó como:

46,XX,r(14)(::p11→q32::)[90]

Se realizó cariotipo a ambos padres los cuales se reportaron normales.



**Figura 31.** Cariotipo en sangre periférica con bandas GTG del caso 2: 46,XX,r(14)(::p11→q32::) (Q.F.B. Ana Y. Aparicio Onofre, Lab. de Citogenética, Depto. de Genética, HIMFG).

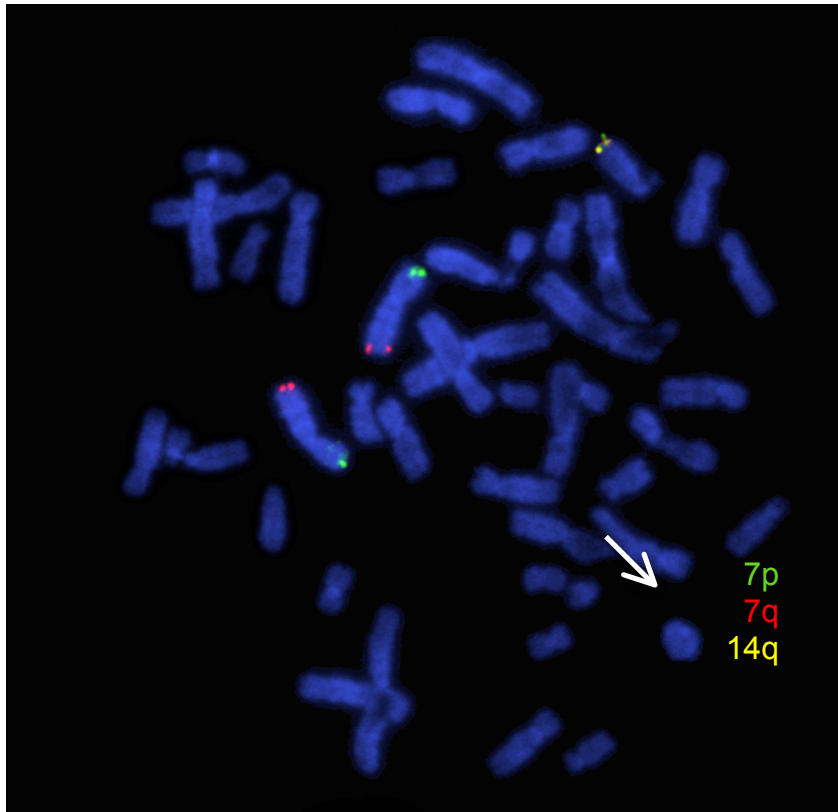


**Figura 32.** Cariotipo parcial del caso 2 en donde se observa el anillo del cromosoma 14.



Se realizó análisis por FISH (Anexo 3) con sondas subteloamérica del cromosoma 14q, en donde se demostró la pérdida de la región subteloamérica (Figura 33).

46,XX,r(14)(:p11→q32::).ish r(14)(QTEL-)



**Figura 33.** Metafase con FISH en donde se evidencia la falta de la señal para la región subteloamérica del brazo largo del cromosoma 14 en el anillo. (M. en C. Laura Gómez Laguna y Biol. Karem Nieto Martínez, Servicio de Genética, HGMDEL, Facultad de Medicina, UNAM).

### 7.2.2 Cariotipo molecular

Se realizó análisis de mapeo genómico con microarreglo Cytoscan de alta densidad (**Affymetrix Inc., Santa Clara, CA, USA**) (Anexo 5) el cual reportó pérdidas de material genético en 14q11.2 de 0.53 Mb y en la región 14q32.33 pérdida de 1.9 Mb, ganancia de 0.4 Mb y pérdida de 0.61 Mb. También se encontró la presencia de 3 copias de la región 13q12.11 (0.43 Mb). Asimismo se reportaron pérdidas de mayor tamaño en 14q11.2 de 2.5Mb y en 14q32.2-q34.33 de 6.6 Mb en forma de mosaico (Tabla 13, figura 34 y 35). Se identificó la pérdida de 38 genes en la región 14q32.33 (Tabla 14).

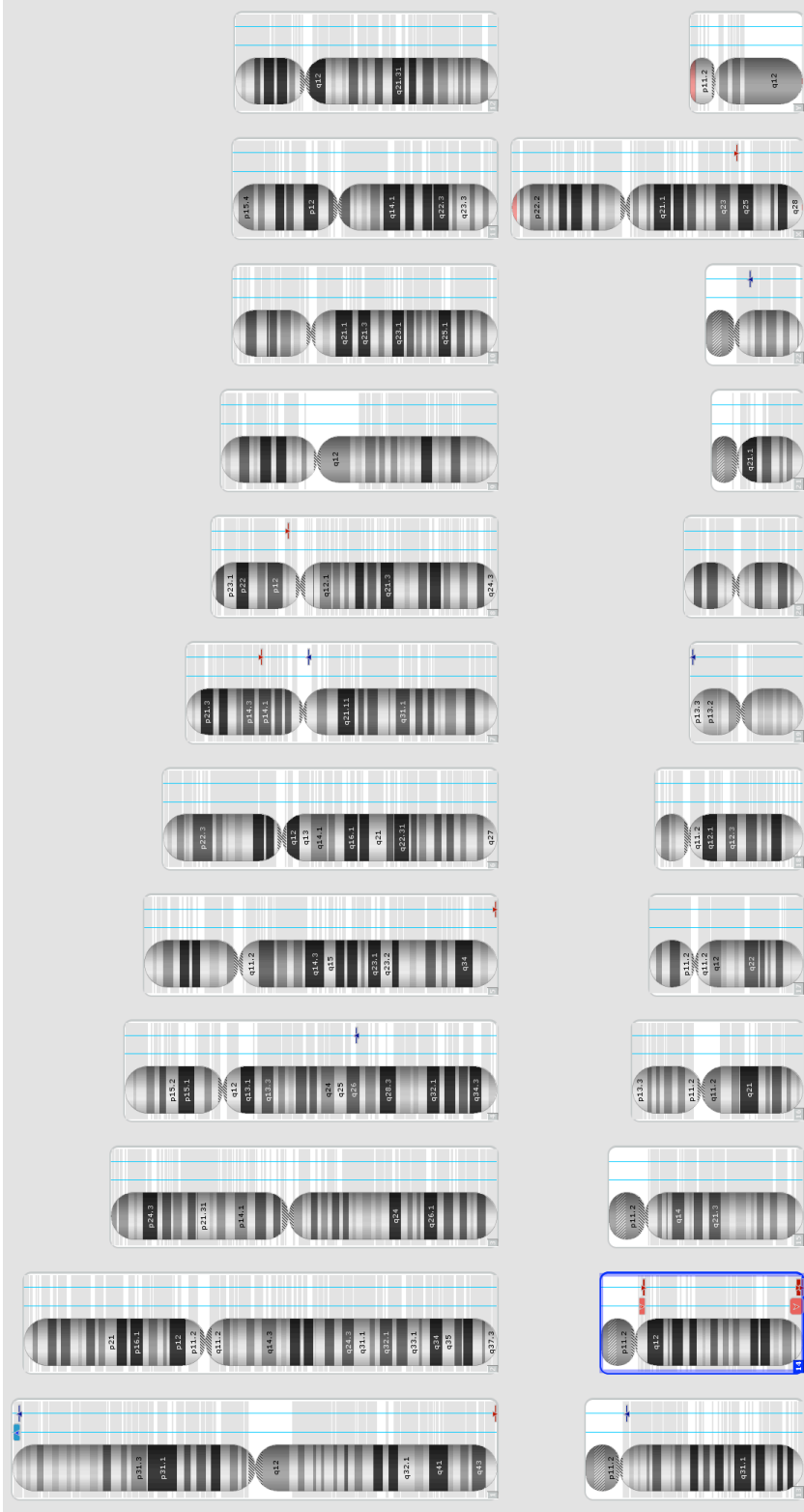
Tabla 13. Resultados del análisis con Cytoscan mostrando las regiones con ganancias y pérdidas de material genético en 14q11.2 y 14q32.33 y 13q12.1.

Cromosoma	Número de copias	Tipo	Banda	Tamaño (Mb)
14	1	Pérdida	q11.2	0.53
14	1.6881212	Pérdida/mosaico	q11.2	2.5
14	1	Pérdida	q32.33	1.9
14	3	Ganancia	q32.33	0.4
14	1	Pérdida	q32.33	0.61
14	1.5209082	Pérdida/mosaico	q32.2	6.6
13	3	Ganancia	q12.11	0.43

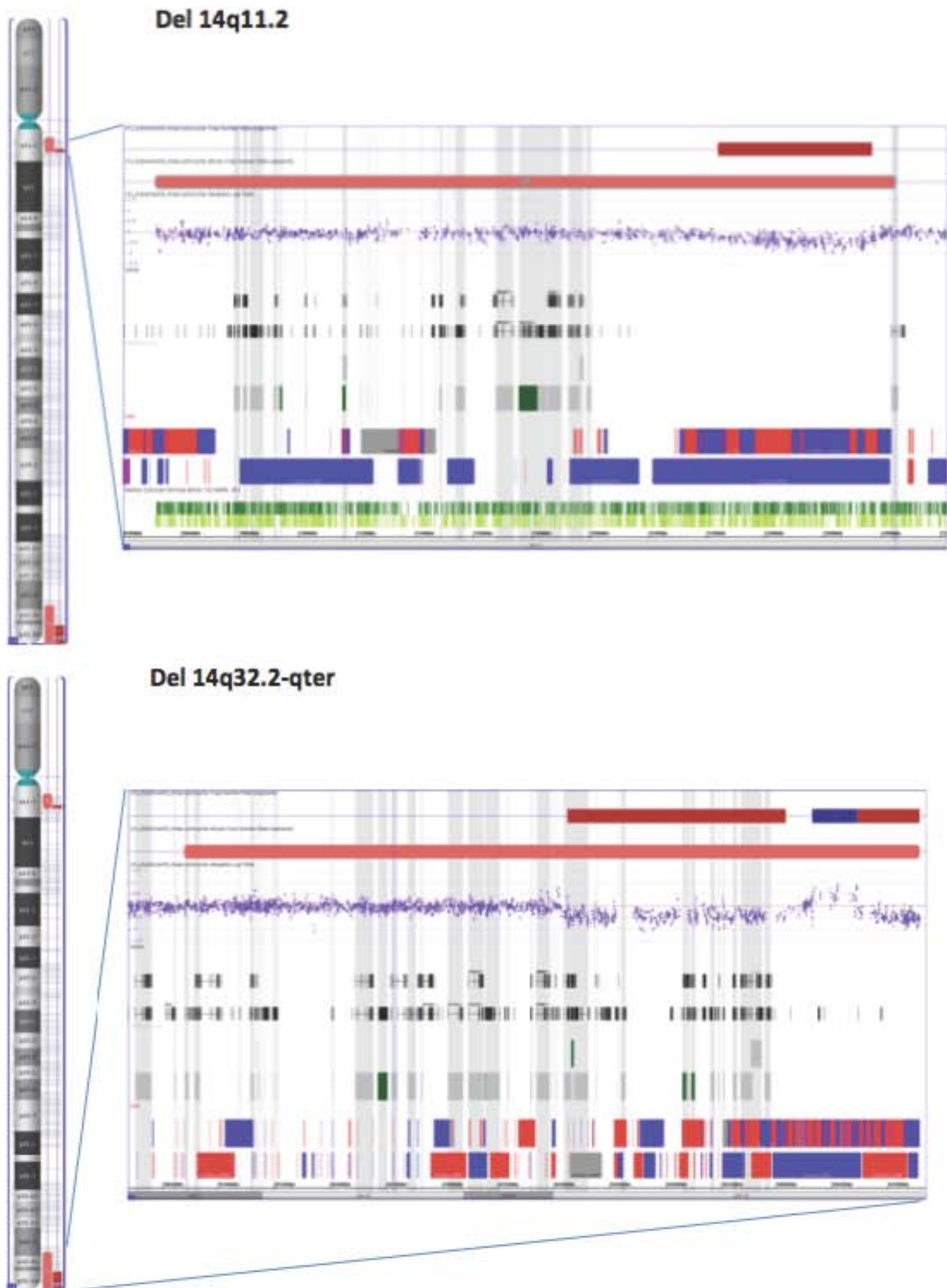
**Tabla 14.** Genes codificantes perdidos en la región 14q32.33 del caso 2.

<b>Locus</b>	<b>Gen</b>	<b># MIM</b>	<b>Fenotipo</b>
<b>14q32.33</b>	<i>KLC1</i>	600025	-
	<i>XRCC3</i>	600675	Melanoma cutáneo maligno
	<i>ZFYVE21</i>	613504	-
	<i>C14orf2</i>	604573	-
	<i>MIR203</i>	611899	-
	<i>KIF26A</i>	613231	-
	<i>INF2</i>	610982	Glomeruloesclerosis focal segmentaria / Charcot-Marie-Tooth dominante intermitente E
	<i>ADSL1</i>	612498	-
	<i>AKT1</i>	164730	Síndrome de Proteus / Cáncer ovárico / Síndrome de Cowden / Cáncer colorectal / Cáncer de mama
	<i>ZBTB42</i>	613915	-
	<i>CDCA4</i>	612270	-
	<i>JAG2</i>	602570	-
	<i>BRF1</i>	604902	-
	<i>PACS2</i>	610423	-
	<i>MTA1</i>	603526	-
	<i>CRIP2</i>	601183	-
	<i>CRIP1</i>	123875	-
	<i>PPP1R13B</i>	-	-
	<i>LOC145216</i>	-	-
	<i>TDRD9</i>	-	-
	<i>RD3L</i>	-	-
	<i>ASPG</i>	-	-
	<i>MIR3545</i>	-	-
	<i>C14orf180</i>	-	-
	<i>TMEM179</i>	-	-
	<i>MIR4710</i>	-	-
	<i>ADSSL1</i>	-	-

<i>SIVA1</i>	-	-
<i>MGC23270</i>	-	-
<i>KIAA0284</i>	-	-
<i>PLD4</i>	-	-
<i>AHNAK2</i>	-	-
<i>C14orf79</i>	-	-
<i>GPR132</i>	-	-
<i>NUDT14</i>	-	-
<i>BTBD6</i>	-	-
<i>TEX22</i>	-	-
<i>C14orf80</i>	-	-
<i>TMEM121</i>	-	-



**Figura 34.** Microarreglo Cytoscan HD Chromosome Analysis Suite 2.0.0. Se señala con recuadro azul el cromosoma 14. Las barras verticales rojas muestran las regiones de delección en q11.2 y q32.3-qter. (Dr. Fernando Fernández Ramírez, Servicio de Genética HGMDFI)



**Figura 35.** Microarreglo Cytoscan HD Chromosome Analysis Suite 2.0. Amplificación de las regiones con deleción en 14q11.2 y 14q32.2-qter (Dr. Fernando Fernández Ramírez, Servicio de Genética HGMDL).

### 7.2.3 Discusión caso clínico 2

Esta paciente fue referida por retraso en el desarrollo psicomotor, microcefalia y crisis convulsivas por lo que se realizó estudio citogenético como parte de su abordaje diagnóstico interdisciplinario. Los microarreglos identificaron diferentes alteraciones, se detectó un mosaicismo para las deleciones en el cromosoma 14 lo cual nos habla de la inestabilidad del anillo y la presencia de un mosaico dinámico, ya que se encontraron células con el anillo, monosomía del 14 y pérdida de material genético de diferente tamaño en la región 14q32.2, así como una duplicación en esta misma región. Además, se identificó pérdida de la región 14q11.2 y una ganancia en 13q12.11.

El mecanismo de formación del anillo 14 es un rearrreglo muy complejo que implica regiones duplicadas y delecionadas y que probablemente exista una inversión, debido a los hallazgos de la región 14q32.33 y con pérdida de la región 14q11. En el cariotipo con bandas GTG se encontraron 90 células con anillo del cromosoma 14 y 10 células con monosomía 14, lo que apoya la presencia de un mosaicismo dinámico. Este dato fue corroborado con los análisis de microarreglos al reportarse en estos diferentes tamaños del anillo que están en relación a la pérdida de material genético en los puntos de ruptura y que a su vez son secundarios a la inestabilidad cromosómica del anillo. Sin embargo, por técnicas de citogenética no se encontró variación en el tamaño del anillo.

En cuanto a la ganancia en 13q12.11 se consideran dos posibilidades, una de ellas es que se trate de un neocentrómero en donde el material duplicado del cromosoma 13 este en otro acrocéntrico o que el anillo tenga un centrómero derivado del cromosoma 13 que se haya originado del 14 que tenía centrómero del 13. No contamos con bandas C por lo que no podemos corroborar estas teorías.

Se reportaron 38 genes codificantes perdidos en la región 14q32.33, dos de ellos asociados a cáncer: *XRCC3* (melanoma cutáneo maligno) y *AKT1* (Cáncer ovárico / Síndrome de Cowden / Cáncer colorectal / Cáncer de mama), por lo que será de importancia mantener en vigilancia a la paciente, ya que en caso de presentar una mutación somática en alguno de estos genes podría desarrollar cáncer.

Otro gen identificado fue *INF2* asociado con glomerulonefritis focal segmentaria y Charcot-Marie-Tooth dominante intermitente E con glomerulonefritis focal segmentaria. Esta patología se caracteriza por debilidad y atrofia muscular, pérdida de la sensibilidad distal,

proteinuria y progresión a insuficiencia renal. Es causada por mutaciones heterocigotas en este gen y las manifestaciones clínicas aparecen entre los 10 a 21 años para la proteinuria y entre los 5 y 28 años para los síntomas neurológicos. Actualmente nuestra paciente no presenta manifestaciones clínicas, sin embargo tendrá que mantenerse en vigilancia.

Podemos considerar que el fenotipo de la paciente es el resultado de la pérdida de material genético en la región 14q32.2-qter, para su correlación se analizaron las características clínicas de este caso con las características reportadas en la literatura ocasionadas tanto por el síndrome del anillo del cromosoma 14 como por la deleción 14q32 (Tabla 15).

Una de las características principales de la paciente es el antecedente de retraso en el desarrollo psicomotor y actualmente presentar retraso mental, estos datos se reportaron en el 100% (49/49) de los casos con anillo del cromosoma 14 y en el 96% (25/26) de los casos con deleción 14q32.3. En esta región no se han escrito genes que de manera particular estén relacionados a retraso mental, sin embargo es una característica del síndrome con anillo del cromosoma 14 y de la deleción 14q32-qter<sup>115,120,121</sup>, con la anterior consideración pudiera pensarse que existen *loci* en la región subtelomérica de 14q que pudieran causar dicha alteración, pero es importante señalar que el retraso mental también puede ser una característica del síndrome del anillo autosómico.

Las dismorfias craneofaciales presentes en la paciente descrita en este trabajo como microcefalia, frene amplia, hipertelorismo, punta nasal bulbosa, filtrum largo y boca pequeña en forma trapezoidal son manifestaciones clínicas presentes en el síndrome por deleción 14q32-qter.<sup>120,121</sup> En los casos reportados en la literatura 96% de los pacientes presentaron frente amplia, 76% punta nasal bulbosa, 70% boca pequeña con comisuras labiales descendentes, 57% filtrum largo, 42% microcefalia y 27% hipertelorismo. La microcefalia fue la manifestación clínica más frecuente en los casos con anillo del cromosoma 14 reportada en el 83% de los casos.<sup>114,116</sup>



**Tabla 15.** Manifestaciones clínicas reportadas en la literatura del síndrome del anillo del cromosoma 14 y delección 14q32, comparadas con las reportadas en el caso clínico 2.

	van Karnebeek et al. 2002 <sup>12</sup> n=22 Amsterdam	Morimoto et al. 2003 <sup>11</sup> n=3 Japón	Schladewitz et al. 2005 <sup>13</sup> n=3 Canadá	Kajinburg et al. 2007 <sup>14</sup> n=1 Países bajos	Guilherme et al. 2010 <sup>15</sup> n=1 Brasil	Zollino et al. 2012 <sup>12</sup> n=19 Italia	van Karnebeek et al. 2002 <sup>13a</sup> n=8 Amsterdam	Engels et al. 2012 <sup>12</sup> n=19 Alemania	Caso clínico 2 r(14)(:p11→q32:)
	r(14)(:p11→q32:) r(14)(:p12→q32:) r(14)(:p13→q32:)	r(14)(:p12→q32.33:) r(14)(:p11.2→q32.33:) r(14)(:p12→q32.31:)	r(14)(:p11→q32:)	r(14)(:p12→q32.33:)	r(14)(:p13→q32.33:)	r(14)(:p11→q32.3:)	del(14)(q32.32)	del(14)(q32.1-32.33)	
Estudio citogenético y/o molecular	Cariotipo y FISH	Cariotipo y FISH	Cariotipo, FISH, MLPA, microarreglos	Cariotipo, FISH, MLPA, aCGH	Cariotipo, FISH, MLPA, microarreglos	Cariotipo, aCGH	Cariotipo y FISH	Cariotipo, FISH, MLPA, SNPa	
RDPM/IRM	22/22 (100%)	3/3 (100%)	3/3 (100%)	+	+	19/19 (100%)	6/7 (85%)	19/19 (100%)	+
Epilepsia	21/22 (95%)	3/3 (100%)	3/3 (100%)	+	+	19/19 (100%)	1/7 (14%)	5/17 (29%)	+
Hipotonía	12/21 (57%)	1/3 (33%)	1/3 (33%)	NR	NR	15/19 (78%)	6/8 (75%)	16/18 (88%)	NR
Microcefalia	15/20 (75%)	1/3 (33%)	2/3 (66%)	+	+	19/19 (100%)	3/8 (37%)	8/18 (44%)	+
Fronte amplia	9/15 (60%)	NR	-	+	+	13/19 (68%)	7/7 (100%)	15/16 (93%)	+
Fisuras palpebrales descendentes	9/15 (60%)	NR	1/3 (33%)	-	+	13/19 (68%)	3/7 (42%)	8/17 (47%)	-
Hipertelorismo	8/17 (47%)	NR	NR	+	-	13/19 (68%)	1/7 (14%)	5/15 (33%)	+
Punta nasal bulbosa	7/13 (53%)	NR	NR	+	-	13/19 (68%)	4/6 (66%)	12/15 (80%)	+
Filtrum largo	4/13 (30%)	NR	NR	-	-	13/19 (68%)	3/6 (50%)	9/15 (60%)	+
Boca pequeña, comisuras labiales descendentes	6/15 (40%)	NR	NR	-	-	13/19 (68%)	5/7 (71%)	11/16 (68%)	+
Alteración oftalmológica	7/12 (58%)	NR	2/3 (66%)	+	+	9/16 (56%)	-	6/15 (40%)	-
Alteración del lenguaje	NR	NR	NR	NR	+	18/19 (94%)	NR	NR	+
Escoliosis	-	NR	NR	+	NR	6/15 (40%)	NR	NR	-
Infecciones recurrentes	NR	NR	1/3 (33%)	+	-	9/16 (56%)	NR	NR	-
Alteración del comportamiento	NR	NR	NR	NR	+	17/17 (100%)	NR	NR	+

NR: no reportado

Alteraciones oftalmológicas: retinosis pigmentaria, catarata, maculopatía, glaucoma, miopía.

Alteraciones del comportamiento: callados, poca interacción con el medio, agresividad, movimientos estereotipados.

La alteración en el lenguaje o falta del desarrollo de éste no se reportó en ninguno de los casos con deleción 14q32.3, sin embargo dicha alteración es reportada con frecuencia en pacientes que tienen deleción 14q11.2 y en los casos con anillo del cromosoma 14 se reportó en el 95% de los casos.<sup>61,108</sup> La paciente al momento del estudio no había desarrollado lenguaje. El estudio con microarreglos no mostró pérdida de genes codificantes de proteínas en la región 14q11.2 por lo que esta alteración pudiera también deberse a pérdida de material genético en el brazo largo del cromosoma 14 específicamente en la región subtelomérica.

La paciente descrita en este trabajo presenta epilepsia tónico clónica generalizada de difícil control. Esta característica clínica es frecuentemente reportada en los pacientes con anillo del cromosoma 14,<sup>115</sup> en nuestra revisión se reportó en el 100% (49/49) de los casos y en aquellos con deleción 14q únicamente en el 25% (6/24). Zollino *et al.*,<sup>114</sup> sugirieron que la región asociada a la epilepsia se encuentra en 14q11.2-q12 ya que en los casos reportados con deleción lineal 14q32 no se reportan crisis convulsivas. En el caso de nuestra paciente no se encontró ningún gen codificante para proteínas en la región 14q11.2 por lo que las crisis convulsivas pudieran estar causadas por genes aún no identificados en la región subtelomérica del brazo largo del cromosoma 14 o por otras causas si bien se ha postulado que las crisis convulsivas se deben al síndrome del anillo.<sup>119,120,</sup>

Las alteraciones en el comportamiento como poca interacción con el medio, agresividad, poco contacto visual y la presencia de movimientos estereotipados también se ha reportado en los pacientes con anillo del cromosoma 14.<sup>114,116</sup> Con excepción de la agresividad, todas estas características del comportamiento se encontraron en la paciente presentada en este trabajo.

Nuestra paciente no presentó ninguna alteración oftalmológica, sin embargo se han reportado retinosis pigmentaria, catarata, maculopatía, glaucoma y miopía se reportaron en el 66% (2/3) de los casos con anillo del cromosoma 14 y en el 40% (6/15) de los pacientes con deleción 14q32.3. La hipopigmentación de retina se ha reportado en pacientes con anillo del cromosoma 14, Howard *et al.*,<sup>123</sup> realizaron una revisión de pacientes con anillo del 14 y sugirieron que la región 14q32.2 pudiera estar asociada para controlar la pigmentación del área retiniana/macular del ojo. Debido a que el punto de ruptrua de nuestra paciente es en 14q32.3 y que no presnetó pérdida de genes codificantes en la región 14q11, región en donde se encuentra el gen *RPGRIP1* responsable de retinosis pigmentaria, lo esperado es que no presente dichas alteraciones.

La susceptibilidad a las infecciones presentes en los pacientes con anillo del cromosoma 14 reportadas en el 52% de los casos en la literatura revisada<sup>112</sup>, puede explicarse a que en la región 14q32.3 se encuentran genes codificantes para las cadenas pesadas de inmunoglobulinas como *IGHD*, *IGHJ*, *IGHG1*, *IGHG3*<sup>60</sup> entre otros, ninguno de ellos se encontró deletado en nuestra paciente quien no tiene antecedente de infecciones recurrentes.

Con la revisión de las características clínicas de la paciente, podemos considerad que el fenotipo asociado a la alteración cromosómica de anillo del cromosomo 14 se debe tanto a la deleción, al tamaño del anillo y a la inestabilidad mitótica del anillo cromosómico tejido específico, lo cual provoca pérdida o ganancia de material genético.

## 8. Conclusiones generales

El objetivo general de esta tesis fue la descripción del perfil de las alteraciones numéricas y estructurales de los cromosomas autosómicos de pacientes atendidos en el HIMFG de 2001 a 2012 y la posibilidad de ofrecer estudio citogenético molecular con técnicas de última generación a los pacientes, dos de ellos son descritos en esta tesis.

En relación a las alteraciones cromosómicas con los resultados obtenidos en el presente trabajo de demuestra que el 30.47% de los cariotipos solicitados tienen alguna alteración cromosómica, porcentaje similar a lo reportado en la literatura, siendo las alteraciones numéricas las más frecuentes (74%) y en segundo lugar las estructurales (18%), siendo los anillos autosómicos una alteración poco frecuente, reportada en el 0.7% de los casos con cariotipo anormal.

En este trabajo se describen dos pacientes con anillos del cromosoma 9 y 14 en quienes se pudieron realizar estudios de citogenética-molecular para poder realizar una correlación fenotipo-genotipo. En el caso 1 el mecanismo de formación del anillo cromosómico fue por ruptura de ambos extremos cromosómicos con pérdida de regiones subtelo méricas y la posterior unión de los extremos.

En el caso 2 el mecanismo de formación del anillo es por inversión deleción duplicación. Por otra parte la pérdida de la región 14q11 indica que el anillo se formó solamente del brazo largo con un neocentrómero que tendrá que ser demostrado más adelante o dado que el microarreglo revela que en todas las células hay triple dosis de la región pericentromérica del brazo largo del cromosoma 13 pudiera ser un derivado del cromosoma 13 ya que este tipo de rearrreglos es frecuente entre cromosomas acrocéntricos.

El fenotipo de los pacientes con anillo cromosómico comparte muchas de las manifestaciones clínicas reportadas en los síndromes por deleción del cromosoma implicado. En el caso 1 el fenotipo corresponde al síndrome de Kleefstra (MIM 610253) el cual es causado por microdeleciones o mutaciones del gen *EHMT1*<sup>109</sup> y a la inestabilidad del anillo. En el caso 2 el fenotipo de la paciente es debido a la deleción de la región 14q32.32-qter y a la inestabilidad del anillo.

El uso de técnicas como son FISH y microarreglos en los pacientes con anillos cromosómicos demuestra que los rearrreglos cromosómicos son alteraciones complejas y que la aplicación de técnicas de citogenética molecular nos permite delimitar los puntos de ruptura y los desbalances genómicos, así como determinar el posible mecanismo de formación del anillo cromosómico presente en cada caso y los genes implicados, aportando información valiosa tanto para el asesoramiento genético como para la comprensión del síndrome del anillo cromosómico.

El anillo cromosómico reportado en ambos casos se considera que es una alteración cromosómica estructural *de novo*, ya que el cariotipo de los padres se reportó normal, por lo que el riesgo de recurrencia sería <1%.<sup>91,92</sup>

## 9. Referencias

- 1) Genetics and Genomics Timeline. Genome News Network. Disponible en: <http://www.genomeneetwork.org/resources/timeline>.
- 2) Gersen S. History of Clinical Cytogenetics. En: Gersen S, Keagle M. *The Principles of Clinical Cytogenetics*. New York: Springer; 2013. pp 3-9.
- 3) Tjio JH & Levan A. The chromosome number of man. *Hereditas*. 1956; 42:1-6.
- 4) Moore C & Best R. Chromosome Preparation and Banding. *Encyclopedia of Life Sciences*. John Wiley & Sons. 2001;1-7. doi: 10.1038/npg.els.0001444
- 5) Caspersson T, Zech L, Johansson C. Differential binding of alkylating fluorochromes in human chromosomes. *Exp Cell Res*. 1970; 60:315-9.
- 6) Kannan T, Zilfalil B. Cytogenetics: Past, present and future. *Malays J Med Sci*. 2009; 16:1-6.
- 7) Smeets DF. Historical prospective of human cytogenetics: from microscope to microarray. *Clin Biochem*. 2004; 37:439-446.
- 8) Bickmore WA. Karyotype Analysis and Chromosome Banding. *Encyclopedia of Life Sciences*. John Wiley & Sons. 2001:2-7. doi: 10.1038/npg.els.0001160
- 9) Speicher M. The new cytogenetics: Blurring the boundaries with molecular biology. *Nat Rev Genet*. 2005; 6:782-792.
- 10) Trask BJ. Human cytogenetics: 46 chromosomes, 46 years and counting. *Nat Rev Genet*. 2002; 3:769-778.
- 11) Kannan T. Cytogenetics Techniques in Diagnosing Genetic Disorders. Disponible en: [www.cdn.intechopen.com/pdfs-wm/23705.pdf](http://www.cdn.intechopen.com/pdfs-wm/23705.pdf)
- 12) Pinkel D, Gray JW, Trask B, van den Engh G, Fuscoe J, van Dekken H. Cytogenetic analysis by in situ hybridization with fluorescently labeled nucleic acid probes. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 1985; 51:151-157.
- 13) Pinkel D, Straume T, Gray W. Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization. *Proc Natl Acad Sci*. 1986; 83:2934-2938.
- 14) Kallioniemi A, Kallioniemi OP, Sudar D, Rutovitz D, Gary JW, Waldman F, Pinkel D. Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science*. 1992; 258:818-821.
- 15) Shen YP, Wu BL. Microarray-based genomic DNA profiling technologies in clinical molecular diagnostics. *Clin Chem*. 2009; 55:659-699.
- 16) Strachan T, Read A. Chromosome Structure and Function. En: *Human Molecular Genetics*. Cambridge University Press; 2010. pp 43-50.

- 17) Pinkel D, Se Graves R, Sudar D, Clark S, Poole I, Kowbel D, *et al.* High resolution analysis of DNA copy number variation using comparative genomic hybridization to microarrays. *Nat Genet.* 1998; 20:207-211.
- 18) Emanuel BS, Saitta SC. From microscopes to microarrays: dissecting recurrent chromosomal rearrangements. *Nat Rev Genet.* 2007; 8:869-883.
- 19) Shaffer L. Karyotype Interpretation. *Encyclopedia of Life Sciences. John Wiley & Sons.* 2005;1-7. doi: 10.1038/npg.els.0005778
- 20) Vos L, Famulski J, Gordon K. How to build a centromere: from centromeric and pericentromeric chromatin to kinetochore assembly. *Biochem Cell Biol.* 2006; 84:619-639.
- 21) Przewloka M, Glover D. The Kinetochore and the Centromere: A Working Long Distance Relationship. *Annu Rev Genet.* 2009; 43:439-465.
- 22) Kitagawa K. Kinetochore: Structure, Function and Evolution. *Encyclopedia of Life Sciences. John Wiley & Sons.* 2006;1-7. doi: 10.1002/9780470015902.a0006237
- 23) Bloom K. Centromere dynamics. *Current Opinion in Genetics & Development.* 2007; 17:151-156.
- 24) Haaf T. Centromeres. *Encyclopedia of Life Sciences. John Wiley & Sons.* 2006;1-6. doi: 10.1002/9780470015902.a0005785
- 25) Smith M. Centromeres and variant histones: what, where and why? *Curr Opin Cell Biology.* 2002; 14:279-285.
- 26) Black B, Bassett E. The histone variant CENP-A and centromere specification. *Curr Opin Cell Biology.* 2008; 20:91-100.
- 27) Kass D, Batzer M. Genome Organization: Human. *Encyclopedia of Life Sciences. John Wiley & Sons.* 2004;1-8. doi: 10.1038/npg.els.0003855
- 28) Blackburn E. Structure and function of telomeres. *Nature.* 1991; 350:569-573.
- 29) Martin CL, Ledbetter D. Telomere. *Encyclopedia of Life Sciences. John Wiley & Sons.* 2005;1-4. doi: 10.1038/npg.els.0005787
- 30) Londoño-Vallejo A. Telomere instability and cáncer. *Biochimic.* 2008; 90:73-82.
- 31) Artandi S, dePinho R. Telomeres and telomerase in cancer. *Carcinogenesis.* 2010; 31:9-18.
- 32) Zhenyu Ju, Rudolph L. Telomere dysfunction and stem cell ageing. *Biochimic.* 2008; 90:24-32.
- 33) Grandin N, Charbonneau M. Protection against chromosome degradation at the telomeres. *Biochimic.* 2008; 90:41-59.

- 34) The Cell Cycle. En: Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. *Molecular Biology of The Cell*. New York: Garland Science; 2008. pp 1053-1114.
- 35) Massagué J. G1 cell-cycle control and cancer. *Nature*. 2004;432:298-306.
- 36) Golias CH, Charalabopoulos A, Charalabopoulos K. Cell proliferation and cell cycle control: a mini review. *Int J Clin Pract*. 2004; 58:1134-1141.
- 37) Stein G, Medina R, van Wijnen A, Steina J, Owen T. *Cell Cycle*. *Encyclopedia of Life Sciences*. John Wiley & Sons. 2011;1-13. doi: 10.1002/9780470015902.a0001354.pub2
- 38) Cooper GM. *The Cell: A Molecular Approach*. 2nd. Ed. Sunderland: Sinauer Associates; 2000. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9876/>
- 39) Funk JO. Cell Cycle Checkpoint Genes and Cancer. *Encyclopedia of Life Sciences*. John Wiley & sons. 2007;1-6. doi: 10.1038/npg.els.0006046
- 40) Eukaryotic Cells. En: Passarge E. *Color Atlas of Genetics*. New York: Thieme; 2007. pp. 110-129.
- 41) Moore C & Best R. Chromosome Mechanics. *Encyclopedia of Life Sciences*. John Wiley & Sons. 2008;1-10. doi: 10.1002/9780470015902.a0001441.pub2
- 42) Hultén MA. Meiosis. *Encyclopedia of Life Sciences*. John Wiley & Sons. 2010;1-14. doi: 10.1002/9780470015902.a0005772.pub2
- 43) Kohli J, Hartsuiker E. Meiosis. *Encyclopedia of Life Sciences*. John Wiley & Sons. 2008;1-8. doi: 10.1002/9780470015902.a0001359.pub2
- 44) Satyanarayana A, Kaldis P. Mammalian cell-cycle regulation: several Cdks, numerous cyclins and diverse compensatory mechanisms. *Oncogene*. 2009; 28:2925-2939.
- 45) Bowater R. DNA Structure. *Encyclopedia of life sciences*. John Wiley & Sons. 2005;1-8. doi: 10.1038/npg.els.0006002
- 46) Novák B, Sible J, Tyson J. Checkpoints in the Cell Cycle. *Encyclopedia of Life Sciences*. John Wiley & Sons. 2002;1-8. doi: 10.1038/npg.els.0001355
- 47) Truman A, Kitazono A, Fitz Gerald J, Kron S. Cell cycle: Regulation by Cyclins. *Encyclopedia of Life Sciences*. John Wiley & Sons. 2012;1-10. doi: 10.1002/9780470015902.a0001364.pub3
- 48) Nagasaka K, Gallego-Paez L, Hirota T. Mitosis and Meiosis: Molecular Control of Chromosome Separation. *Encyclopedia of Life Sciences*. John Wiley & Sons. 2011;1-10. doi: 10.1002/9780470015902.a0005917.pub2
- 49) Cerutti L, Simanis V. Controlling the end of the cell cycle. *Current Opinion in Genetics & Development*. 2000; 9:65-69.



- 50) Cairrao F, Domingos P. Apoptosis: Molecular Mechanisms. *Encyclopedia of Life Sciences. John Wiley & Sons.* 2010;1-8. doi: 10.1002/9780470015902.a0001150.pub2
- 51) Simons A, Shaffer LG, Hastings RJ. Cytogenetic Nomenclature: Changes in the ISCN 2013 Compared to the 2009 Edition. *Cytogenet Genom Res.* 2013; 141:1-6.
- 52) Shaffer L, Lupski J. Molecular Mechanisms for Constitutional Chromosomal Rearrangements in Humans. *Annu Rev Genet.* 2000; 34:297-329.
- 53) Luthardt F, Keitges E. Chromosomal syndromes and genetic disease. *Encyclopedia of Life Sciences. John Wiley & Sons.* 2001;1-12. doi: 10.1038/npg.els.0001446
- 54) Kosztolányi G. The Genetics and Clinical Characteristics of Constitutional Ring Chromosomes. *The Journal of the Association Genetic Technologists.* 2009; 35:44-48.
- 55) Spencer K. Aneuploidy Screening in the First Trimester. *Am J Med Genet.* 2007; 145C:18-32.
- 56) Robinson W, McFadden D. Chromosomal Genetic Disease: Numerical Aberrations. *Encyclopedia of Life Sciences. John Wiley & Sons.* 2002;1-7. doi: 10.1038/npg.els.0001451
- 57) Riley S, Buckton K, Ratcliffe S, Syme J. Inheritance of a ring 14 chromosome. *J Med Genet.* 1981; 18:209-213.
- 58) Hsieh C. Cytogenetic Techniques. *Encyclopedia of Life Sciences. John Wiley & Sons.* 2011;1-2. doi: 10.1002/9780470015902.a0002650.pub2
- 59) Pack SD, Stratakis CA. Chromosomes: Methods for Preparation. *Encyclopedia of Life Sciences. John Wiley & Sons.* 2002;1-7. doi: 10.1038/npg.els.0002709
- 60) Ferlin A, Raicu F, Gatta V, Zuccarello D, Palka G, Foresta C, *et al.* Male infertility: role of genetic background. *Reproductive BioMedicine Online.* 2007; 14:734-745.
- 61) Roukos V, Misteli T. The biogenesis of chromosome translocations. *Natura Cell Biology.* 2014; 16:293-300.
- 62) Zorrilla M, Yatsenko A. The Genetics of Infertility: Current Status of the Field. *Curr Genet Med Rep.* 2013; 1:247-260.
- 63) Guilherme RS, Meloni F, Sodre CP, Christofolini DM, Pellegrino R, de Mello CB, *et al.* Cytogenetic and molecular evaluation and 20-year follow-up of a patient with ring chromosome 14. *Am J Med Genet.* 2010; 152A:2865-2869.
- 64) Guilherme RS, Ayres Meloni V, Kim C, Pellegrino R, Takeno S, Spinner N., *et al.* Mechanisms of ring chromosome formation, ring instability and clinical consequences. *BMC Medical Genetics.* 2011; 12:1-7.

- 65) Kosztolanyi G: Does “ring syndrome” exist? An analysis of 207 case reports on patients with a ring autosome. *Hum Genet.* 1987; 75:174-179.
- 66) Knijnenburg J, Haeringen A, Hansson K, Lankester A, Smit M, Belfroid R, et al. Ring chromosome formation as a novel escape mechanism in patients with inverted duplication and terminal deletion. *Eur J Hum Genet.* 2007; 15:548-555.
- 67) The Ring Chromosome 20 Foundation. Disponible en: <http://www.ring20.org/what-is-r20.php>.
- 68) Autosomal ring chromosomes. En: Gardner M, Sutherland G, Shaffer L. Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling. New York: Oxford University Press; 2012. pp. 201-211.
- 69) Speicher MR, Carter NP. The new cytogenetics: Blurring the boundaries with molecular biology. *Nat Rev Genet.* 2005; 6:782-792.
- 70) Holmquist G. Chromosomal Bands and Sequence Features. *Encyclopedia of Life Sciences John Wiley & Sons.* 2005;1-6. doi: 10.1038/npg.els.0005002
- 71) Verma RS, Lubs HA. A simple R banding technique. *Am J Hum Genet.* 1975; 27:110-117.
- 72) Speicher M. Chromosome. *Encyclopedia of Life Sciences. John Wiley & Sons.* 2005;1-8. doi: 10.1038/npg.els.0005783
- 73) Speicher M. Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) Techniques. *Encyclopedia of Life Sciences. John Wiley & Sons.* 2005;1-6. doi: 10.1038/npg.els.0005779
- 74) Romana SP, Vekemans M. Clinical Molecular Cytogenetics. *Encyclopedia of Life Sciences. John Wiley & Sons.* 2005;1-3. doi: 10.1038/npg.els.0005573
- 75) Spurbeck J, Adams A, Stupca P y Dewald G. Primer on Medical Genomics Part XI: Visualizing Human Chromosomes. *Mayo Clin Proc.* 2004; 79:58-75.
- 76) Thomy J. L. What’s new in karyotyping? The move towards array comparative genomic hybridization (CGH). *Eur J Pediatr.* 2007; 166: 637-643.
- 77) Theisen A. Microarray-based Comparative Genomic Hybridization (aCGH). *Nature Education* 2008; 1:1-8.
- 78) Beaudet A. The Utility of Chromosomal Microarray Analysis in Developmental and Behavioral Pediatrics. *Child Dev.* 2013; 84:1-20.
- 79) Blohm DH, Guiseppi-Elie A. New developments in microarray technology. *Curr Opin Biotechnol.* 2001; 12:41-47.
- 80) Bribiesca L. Los microarreglos de DNA y su aplicación clínica. *Acta Médica Grupo Ángeles.* 2004; 2:125-127.

- 81) Aviña J, Tastekin A. Malformaciones congénitas: clasificación y bases morfológicas. *Rev Mex Pediatr.* 2008; 75:71-74.
- 82) QuelBer-Luft A, Spranger J. Congenital Malformations. *Dtsch Arztebl.* 2006; 103:2464–2471.
- 83) Bacino CA, Firth HV, Tepas E. Approach to congenital malformations. Disponible en: <http://www.uptodate.com/contents/approach-to-congenital-malformations>
- 84) Hunter A. Medical genetics 2. The diagnostic approach to the child with dysmorphic signs. *CMAJ.* 2002; 167:367-372.
- 85) Van Esch H, Fryns J. Dysmorphism: Syndromes. *Encyclopedia of Life Sciences John Wiley & Sons.* 2005;1-6. doi: 10.1038/npg.els.0001880
- 86) Karadeniz N, Mrasek K, Weise A. Further delineation of complex chromosomal rearrangements in fertile male using multicolor banding. *Molecular Cytogenetics.* 2008;1-7.
- 87) Galán E. Indicaciones del estudio genético. En: Delgado A, Galán E. Consejo genético en la práctica médica. España: Monografías de la Asociación Española de Pediatría; 2005. pp 23-28.
- 88) Sigurdardottir S, Goodman B.K., Rutberg J, Thomas G.H., Jabs E.W. Geraghty M.T. Clincial, Cytogenetic, and Fluorescence In Situ Hybridization Findings in Two Cases of “Complete Ring” Syndrome. *Am J Med Genet.* 1999; 87:384-390.
- 89) Sodre CP, Guilherme RS, Meloni V, Brunoni D, Juliano Y, Andrade J, *et al.* Ring chromosome instability evaluation in six patients with autosomal rings. *Genetics and Molecular Reserach.* 2010; 9:134-143.
- 90) Sibbesen EC, Jespersgaard C, Alosi D, Bisgaard A.M., Tümer Z. Ring chromosome 9 in a girl with developmental delay and dysmorphic features: Case report and review of the literatura. *Am J Med Genet.* 2013; 161A:1447–1452.
- 91) Palmer C, Hodes M, Reed T, Kojetin J. Four new cases of ring 21 and 22 including familial transmission of ring 21. *Am J Med Genet.* 1977; 14:54-60.
- 92) Matalon R, Supple P, Wyandt, Rosenthal IM. Tranmission of ring 14 chromosome from mother to two sons. *Am J Med Genet.* 1990;36:381-385.
- 93) Disponible en: [http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Location/Chromosome](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Location/Chromosome)
- 94) McKusick VA. Gene map chromosome 9. Online mendelian inheritance in man. Disponible en: [http://www.omim.org/geneMap/9?phenotype\\_exists=true&start=100&limit=100](http://www.omim.org/geneMap/9?phenotype_exists=true&start=100&limit=100)

- 95) Purandare S, Lee J, Hased S, Steele M, Blackett O, Mulvihill J, Shibo L. Ring chromosome 9 [r(9)(p24q34)]: A report of Two Cases. *Am J Med Genet.* 2005; 138A:229-235.
- 96) Yatsenko SA, Brundage EK, Roney EK, Cheung SW, Chinault AC, Lupsiki JR. Molecular mechanisms for subtelomeric rearrangements associated with the 9q34.3 micrideletion syndrome. *Hum Mol Genet.* 2009; 18:1924-1936.
- 97) Lanzi G, Fazzi E, Veggiotti P, Pagliano E, Gariglio M, Bonaglia C, *et al.* Ring chromosome 9: an atypical case. *Brain & Development.* 1996; 18:216-219.
- 98) Sirisena N, Wijetunge U, de Silva R y Dissanayake V. Child with Deletion 9p Syndrome Presenting with Craniofacial Dysmorphism, Developmental Delay, and Multiple Congenital Malformations. *Case Reports in Genetics.* 2013;1-4.
- 99) Disponible en: <https://www.abbottmolecular.com/chromosome/9.html>.
- 100) Huret J, Leonard C, Forestier B, Rethore M y Lejeune J. Eleven new cases of del(9p) and features from 80 cases. *J Med Genet.* 1988; 25:741-749.
- 101) Swinkels M, Simons A, Smeets D, Vissers L, Veltman J, Pfunter R, *et al.* Clinical and cytogenetic characterization of 13 dutch patients with deletion 9p syndrome: Delineation of the critical region for a consensus phenotype. *Am J Med Genet.* 2008; 146A:1430-1438.
- 102) Faas B, de Leeuw N, Mieloo H, Bruinenberg J, de Vries B. Further refinement of the candidate region for monosomy 9p syndrome. *Am J Med Genet.* 2007; 143A:2353-2356.
- 103) Hauge X, Raca G, Cooper S, May K, Spiro R, Adam M, Martin L. Detailed characterization of and clinical correlations in ten patients with distal deletions of chromosome 9p. *Genet Med.* 2008; 10:599-611.
- 104) Hennekam R, Krantz I, Allanson J. Gorlin's Syndrome of the Head and Neck. New York: Oxford University Press; 2010.
- 105) Swinkels M, Simons A, Smeets D, Vissers L, Veltman J, Pfunter R, *et al.* Clinical and cytogenetic characterization of 13 dutch patients with deletion 9p syndrome: Delineation of the critical region for a consensus phenotype. *Am J Med Genet.* 2008; 146A:1430-1438.
- 106) Kawara H, Yamamoto T, Harada N, Yoshiura K, Niikawa N, Nichimura A, *et al.* Narrowing candidate region for monosomy 9p syndrome to a 4.7-Mb segment at 9p22-p23. *Am J Med Genet.* 2006; 140A:373-377.

- 107) Raymond C, Parker E, Kettlewell J, Brown L, Page D, Kusz K, et al. A región of human chromosome 9p required for testis development contains two genes related to known sexual regulators. *Hum Mol Genet.* 1999; 8:989-996.
- 108) Barbaro M, Balsamo A, Anderlid B, Myhre A, Gennari M, Nicoletti A, et al. Characterization of deletions at 9p affecting the candidate regions for sex reversal and deletion 9p syndrome by MLPA. *Eur J Hum Genet.* 2009; 17:1439-1447.
- 109) Willemsen M, Vulto-van A, Nillesen W, Wissink-Lindhout W, van Bokhoven H, Philip N, et al. Update on Kleefstra Syndrome. *Mol Syndromol.* 2011; 2:202-212.
- 110) Neas K, Smith J, Chia N, Huseyin S, Heaps L, Peters G, et al. Three Patients With Terminal Deletions Within the Subtelomeric Region of Chromosome 9q. *Am J Med Genet.* 2005; 132A:425-430.
- 111) McKusick VA. Gene map chromosome 14. Online mendelian inheritance in man. Disponible en:  
[http://www.omim.org/geneMap/14/1?phenotype\\_exists=true&start=1&limit=10](http://www.omim.org/geneMap/14/1?phenotype_exists=true&start=1&limit=10)
- 112) Kamnasaran D, Cox D W. Current status of human chromosome 14. *J Med Genet.* 2002; 39:81-90.
- 113) Disponible en: <https://www.abbottmolecular.com/chromosome/14.html>.
- 114) Zollino M, Ponzi E, Gobbi G, Neri G. The ring 14 syndrome. *Eur J Med Genet.* 2012; 55:374-380.
- 115) Sánchez J, García-Díaz L, Chinchón D y Antiñolo G. Prenatal Diagnosis of a Fetus with Congenital Heart Defect and Ring Chromosome 14. *Case Reports in Genetics.* 2012;1-4.
- 116) Zollino M, Seminara L, Orteschi D, Gobbi G, Giovannini S, Della Giustina E, et al. The Ring 14 Syndrome: Clinical and Molecular Definition. *Am J Med Genet.* 2009; 149A:1116–1124.
- 117) Ville D, de Bellescise J, Nguyen M, Testard H, Gautier A, Perrier J, et al. Ring 14 chromosome presenting as early-onset isolated partial epilepsy. *Developmental Medicine & Child Neurology.* 2009; 51:917–922.
- 118) Morimoto M, Usuku T, Tanaka M, Otabe O, Nishimura A, Ochi M, et al. Ring chromosome 14 with localization-related epilepsy: three cases. *Epilepsia.* 2003; 44:1245-1249.
- 119) Schlade-Bartusiak K, Costa T, Summers A, Nowaczyk M, Cox D. FISH-Mapping of Telomeric 14q32 Deletions: Search for the Cause of Seizures. *Am J Med Genet.* 2005; 138A:218-224.


- 120) van Karnebeek C, Quik S, Sluijter S, Hulsbeek M, Hoovers J, Hennekam R. Further Delineation of the Chromosome 14q Terminal Deletion Syndrome. *Am J Med Genet.* 2002; 110:65-72.
- 121) Schlade-Bartusiak K, Ardinger H, Cox DW. A child with terminal 14q deletion síndrome: Consideration of genotype-phenotype correlations. *Am J Med Genet.* 2009; 149A:1012-1018.
- 122) Engels H, Schüler HM, Zink AM, Wohlleber E, Brockschmidt A, Hoischen A, et al. A phenotype map for 14q32.3 terminal deletions. *Am J Med Genet.* 2012; 158A:695-706.
- 123) Howard PJ, Clark D, Dearlove J. Retinal/macular pigmentation in conjunction with ring 14 chromosome. *Hum Genet.* 1988; 80:140-142.
- 124) Estay A, Parral R, Benítez H. Alteraciones cromosómicas en linfocitos de sangre periférica. *Rev Chil Pediatr.* 2007; 78(4):363-368.
- 125) Aiassa D, Gorla N. Prevalencia de anomalías cromosómicas en pacientes referidos para diagnóstico citogenético en la Ciudad de Río Cuarto. *Experiencia Médica* 2010; 28:1-16.
- 126) Wellesley D, Dolk H, Boyd P, Greenless R, Haeusler M, Nelden V, et al. Rare chromosome abnormalities, prevalence and prenatal diagnosis rates from population-based congenital anomaly registers in Europe. *Eur J Hum Genet.* 2012; 20:521-526.

**ANEXOS**

**ANEXO 1: Consentimiento informado para fotografías.**



**HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO  
FEDERICO GOMEZ**  
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD  
DR. MÁRQUEZ NO. 162 COL. DOCTORES,  
DELEGACIÓN CUAUHTÉMOC, C.P. 06720 MÉXICO, D.F.  
INSTITUCIÓN DE SERVICIO MÉDICO, ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN  
AFILIADO A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

 5228-9917

México, D.F. a \_\_\_\_ de \_\_\_\_ de 20\_\_

**A QUIEN CORRESPONDA:**

Por medio de la presente deseo manifestar que estoy de acuerdo con la invitación que me \_\_\_\_\_ ha/han \_\_\_\_\_ hecho \_\_\_\_\_ el \_\_\_\_\_ Doctor/Doctores

del Departamento de Genética de Hospital Infantil de México Federico Gómez para que sean publicadas y/o presentadas en congresos científicos nacionales e internacionales las características clínicas de mi caso y/o el de mi hijo, en forma escrita o en fotografías.

Se me ha explicado que ello obedece al interés científico de compartir conocimiento con la comunidad médica y científica internacional que pudiese en un futuro redundar en un mejor conocimiento y entendimiento de la enfermedad de que se trate además del que actualmente se tiene. Se me ha explicado que de realizarse dicha publicación o presentación en congreso, esta será un medio científico, reconocido nacional e internacionalmente, que se tomarán todas las medidas necesarias para preservar la confidencialidad del caso y todo aquello que pudiese permitir la identificación de la persona de quien se trate, incluyendo la modificación de las fotografías clínicas para preservar el anonimato.

Por lo anterior establezco aquí que he tomado esta decisión libremente y que se me ha explicado que no es obligatorio el participar y que no percibiré por ello ningún beneficio en especie o económico de ninguna naturaleza y de la misma manera que de negarme a participar ello no influiría en el trato y prestaciones que recibo por parte del Hospital Infantil de México Federico Gómez, obedeciendo a los derechos que como paciente tengo y al respeto a mi toma de decisiones y de mi dignidad.

Por lo anterior firmo este documento de conformidad y recibo una copia del documento.

Nombre y firma \_\_\_\_\_

Paciente/tutor \_\_\_\_\_

Parentesco con el paciente \_\_\_\_\_

Testigo 1 \_\_\_\_\_

Testigo 2 \_\_\_\_\_

## **ANEXO 2: Cariotipo con técnica de bandas GTG**


- 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 estreptomicina 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 30 minutos 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 12 ml.
- 8) Se incuba 30 minutos a 37-37.5°C.
- 9) Centrifugar 10 minutos a 2,500 rpm.
- 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 80 ml.
- 11) Se refrigera por 20 minutos.
- 12) Se centrifuga y se retira el sobrenadante, se lleva a un volumen de 8 ml 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, (Tripsina)
- 17) Sacar la laminilla al termino del tiempo y enjuagarla en el segundo coplin (buffer pH 7)
- 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 (agua)
- 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



### **ANEXO 3: Técnica de FISH (Hibridación *in situ* con fluorescencia)**

- 1) Se realiza cultivo y cosecha 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 a 73°C,
- 9) Las sondas previamente mezcladas con el amortiguador 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 73°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™).

**ANEXO 4: Consentimiento informado para toma de muestra de sangre periférica para cariotipo**

 Hospital Infantil de México Especialidades de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica	<b>FORMATO DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACION HIM-LC-PR.01-RE.01</b>
CUBICULO No. <input type="text"/>	FECHA <input type="text"/> / <input type="text"/> / <input type="text"/>
<b>NOMBRE DEL PACIENTE</b> _____	Sexo <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/> Otro _____ Edad _____ AÑOS
PROCEDIMIENTO PROPUESTO Y EXPLICACION DEL MISMO:	
Toma de muestra	<input type="checkbox"/> SANGUINEA <input type="checkbox"/> ORINA <input type="checkbox"/> MATERIA FECAL <input type="checkbox"/> OTRO (explique) _____
Beneficios : DIAGNOSTICO OPORTUNO DE PADECIMIENTO Y/O SEGUIMIENTO AL TRATAMIENTO	
Riesgos y complicaciones: MINIMOS, SI SE PRESENTA ALGUNA CONTAMOS CON PERSONAL CAPACITADO EN ATENDER LA URGENCIA. EL MATERIAL ES NUEVO, ESTERIL Y DESECHABLE.	
<b>Yo</b> _____ <b>de</b> _____ años de edad. Reconozco que se me explico y entendí el procedimiento para realizar los exámenes, estoy enterado de los beneficios, sé de los riesgos y las probables complicaciones que se me pueden presentar. Consiento 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.	
<b>FIRMA DEL PACIENTE O SU REPRESENTANTE LEGAL</b> _____	
TESTIGO FAMILIAR (Nombre y Firma) _____	
TESTIGO SUPERVISOR (Nombre y Firma) _____	
NOMBRE Y FIRMA DEL FLEBOTOMISTA _____	
Este consentimiento deberá llenarse para todo procedimiento de Toma de Muestras en el Laboratorio a realizarse en todo paciente sin excepción alguna. El responsable de recabarlo es quien vaya a realizar el mismo. Esta carta es renovable mientras no se concluya el procedimiento y no obligará al Químico, Técnico o Médico a realizar u omitir un procedimiento cuando ello entrañe un riesgo hacia el paciente. La muestra podrá ser utilizada para fines de investigación.	
REFERENCIA: LEY GENERAL DE SALUD cap. IV, Art. 80, 81, 82 y 83. NOM-168-SSA1-1998	

**ANEXO 5: 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 µg/µl). 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.).

Análisis de número de copias:

9) 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.

10) Se utiliza la función Joining para fusionar interrupciones menores a 200 kb.

11) El mapeo se realiza con base en el ensamble Feb 2009 (GRCh 37/hg19) del genoma humano.

**ANEXO 6: Consentimiento informado para toma de muestra para DNA.**

  
**HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO**  
**FEDERICO GÓMEZ**  
Instituto de Investigación y Salud

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

México D.F., a \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 201\_\_

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

1.- Extracción de 3ml 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 del documento.

La información anterior fue explicada por \_\_\_\_\_

Para cualquier duda contactar a la Dra. Verónica Fabiola Morán Barroso en el Departamento de Genética del Hospital Infantil de México Federico Gómez Tel: 52 28 99 17 Ext. 2037 o a la Dra. Rebeca Gómez-Chico Velasco, Subdirectora de Pediatría Ambulatoria.

_____ Nombre y Firma de la Madre o Tutora	_____ Testigo
_____ Nombre y Firma del Padre o Tutor	_____ Testigo

 INSTITUCIÓN DE SERVICIO MÉDICO, ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN, AFILIADA A LA UNAM  
Dr. Márquez 162, Col. Doctores, C.P. 06702, México, D. F.  
Teléfono: 52 28 99 17 [www.himig.edu.mx](http://www.himig.edu.mx) 