



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

---

---

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**  
**CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA**  
**UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD**  
**HOSPITAL GENERAL “DR. GAUDENCIO GONZÁLEZ GARZA”**  
**CURSO UNIVERSITARIO DE ESPECIALIZACIÓN EN PEDIATRÍA**

“RELACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS CON LOS  
REARREGLOS CROMOSÓMICOS ENCONTRADOS MEDIANTE  
HIBRIDACIÓN GENÓMICA COMPARATIVA EN PACIENTES  
PEDIÁTRICOS MEXICANOS CON SÍNDROME DE KABUKI EN  
CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA IMSS”

**TESIS DE POSGRADO**

PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN:

**P E D I A T R Í A**

**PRESENTA:**

**DR. KENNETH GUSTAV ABIMELEC MAGAÑA**  
RESIDENTE DE TERCER AÑO DE PEDIATRÍA  
UMAE HOSPITAL GENERAL CMN LA RAZA

**DIRECTOR DE TESIS:**

**DR. CARLOS ALBERTO YAM ONTIVEROS**  
MÉDICO ADSCRITO AL DEPARTAMENTO DE GENÉTICA  
UMAE HOSPITAL GENERAL CMN LA RAZA

**REGISTRO: R-2016-3502-36**



CIUDAD DE MÉXICO

MAYO 2016



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

INVESTIGADOR PRINCIPAL

**DR. CARLOS YAM ONTIVEROS**

GENETISTA

MATRÍCULA: 99374738

MÉDICO ADSCRITO AL DEPARTAMENTO DE GENÉTICA MÉDICA

UMAE HOSPITAL GENERAL "DR. GAUDENCIO GONZÁLEZ GARZA"

CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

E-MAIL: [drcarlosyam@yahoo.com.mx](mailto:drcarlosyam@yahoo.com.mx)

TELÉFONO: 55 3056 4748

INVESTIGADOR ASOCIADO:

**DR. KENNETH GUSTAV ABIMELEC MAGAÑA**

RESIDENTE DE TERCER AÑO DE PEDIATRÍA

MATRÍCULA: 97151259

UMAE HOSPITAL GENERAL "DR. GAUDENCIO GONZÁLEZ GARZA"

CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

CORREO: [dr.kenneth.magaña@gmail.com](mailto:dr.kenneth.magaña@gmail.com)

TELÉFONO: 55 4936 8166

**DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS**  
**UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN Y POLÍTICAS DE SALUD**  
**COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD**

---

DRA. LUZ ARCELIA CAMPOS NAVARRO  
DIRECTORA DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN EN SALUD

---

DRA. SILVIA GRACIELA MOYSEN RAMÍREZ  
COORDINADORA DEL CURSO DE ESPECIALIZACIÓN EN PEDIATRÍA

---

DR. CARLOS ALBERTO YAM ONTIVEROS  
DIRECTOR DE TESIS

---

DR. KENNETH GUSTAV ABIMELEC MAGAÑA  
RESIDENTE DE TERCER AÑO DE PEDIATRÍA



**Dictamen de Autorizado**

Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud **3502** con número de registro **13 CI 09 002 252** ante COFEPRIS

HOSPITAL GENERAL DR. GAUDENCIO GONZALEZ GARZA, CENTRO MEDICO NACIONAL LA RAZA, D.F. NORTE

FECHA **25/02/2016**

**DR. CARLOS ALBERTO YAM ONTIVEROS**

**P R E S E N T E**

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título:

**RELACION DE LAS CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS CON LOS REARREGLOS CROMOSÓMICOS ENCONTRADOS MEDIANTE HIBRIDACIÓN GENÓMICA COMPARATIVA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS MEXICANOS CON SÍNDROME DE KABUKI EN CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA IMSS**

que sometió a consideración de este Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de Ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A U T O R I Z A D O**, con el número de registro institucional:

<b>Núm. de Registro</b>
<b>R-2016-3502-36</b>

ATENTAMENTE

  
**DR.(A). GUILLERMO CAREAGA REYNA**

Presidente del Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud No. 3502

**IMSS**

SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

## AGRADECIMIENTOS

*A mi madre, mi Lolita querida (QEPD), por quien todo he hecho y continuaré haciendo, mi eterna fuente de inspiración y pilar fundamental en mi vida...*

*A mi abuelita Carmen, por el gran cariño y apoyo realmente incondicional en todo lo que emprendo aunque a veces no lo entienda...*

*A mi alma gemela, Nancy, por los gratos momentos compartidos, mi compañera de aventuras, ella quien me mantiene vivo día con día y me motiva siempre a dar lo mejor de mí...*

*A mi familia, mis tíos, tías, primos y primas que siempre me apoyan en mis locuras y no me abandonan...*

*A mis amigos, con quienes comparto mis sueños y me alientan a conquistarlos...*

*A mis maestros, a los verdaderos, que han dejado en mí una huella y me han permitido crecer como médico y como persona...*

*A mis pacientes, sobre todo a esos pequeños que mantienen siempre viva la llama, el espíritu, y me motivan a ser como ellos y a seguir aprendiendo...*

*A todos ellos, gracias por existir.*

**CONTENIDO**

1. RESUMEN.....	2
2. ANTECEDENTES.....	3
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	12
4. HIPÓTESIS.....	13
5. OBJETIVOS.....	14
5.1 Objetivo general.....	14
5.2 Objetivos específicos.....	14
6. JUSTIFICACIÓN.....	15
7. MATERIAL Y MÉTODOS.....	16
7.1 DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO.....	17
7.2 DEFINICIÓN Y CLASIFICACIÓN DE LAS VARIABLES.....	18
7.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	21
7.4 ASPECTOS ÉTICOS.....	22
7.5 FACTIBILIDAD.....	23
7.6 DIFUSIÓN DE RESULTADOS.....	24
8. RESULTADOS.....	25
9. DISCUSIÓN.....	37
10. CONCLUSIONES.....	38
11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40
12. ANEXOS.....	42

## RESUMEN

RELACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS CON LOS REARREGLOS CROMOSÓMICOS ENCONTRADOS MEDIANTE HIBRIDACIÓN GENÓMICA COMPARATIVA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS MEXICANOS CON SÍNDROME DE KABUKI EN CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA IMSS.

Yam Ontiveros, Carlos Alberto<sup>1</sup>; Magaña, Kenneth Gustav Abimelec<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Genetista. Departamento de Genética. Hospital General CMN La Raza IMSS.*

<sup>2</sup> *Residente de tercer año de Pediatría. Hospital General CMN La Raza IMSS.*

**INTRODUCCIÓN.** El síndrome de Kabuki, es una enfermedad congénita rara, que fue descrita por primera vez en 1981 por Norio Niikawa y Yoshikazu Kuroki, caracterizado por leve a moderada discapacidad intelectual, falla de medro postnatal, facies característica que recuerda al maquillaje de los actores del tradicional teatro Kabuki japonés; anomalías esqueléticas menores, persistencia de almohadillas fetales en las yemas de los dedos, entre otras alteraciones. Fue hasta 2010 que la etiología genética fue aclarada, donde se identificaron mutaciones en el gen KMT2D en 56-75% de los casos y hasta 2012 en el gen KMD6A reportándose en 9-14% de los pacientes negativos para la mutación en KMT2D. El diagnóstico del síndrome de Kabuki se realiza mediante criterios clínicos de acuerdo a los hallazgos fenotípicos y se corrobora mediante pruebas moleculares, de las cuales, una de las más utilizadas es la Hibridación Genómica Comparativa (CGH).

**JUSTIFICACIÓN.** Existen probables rearrreglos cromosómicos en sitios específicos fuera de los genes implicados KMT2A y KMD6A en los pacientes con síndrome de Kabuki, que les confiere la variabilidad fenotípica característica resultando en una mayor discapacidad intelectual en unos pacientes que en otros o la presencia de alteraciones cardíacas o renales, lo cual oscurece el pronóstico en estos pacientes.

**OBJETIVO.** Establecer el diagnóstico genético mediante CGH, detectar la aparición de rearrreglos cromosómicos y relacionar la presencia de éstos con las diferentes características del fenotipo del paciente con síndrome de Kabuki.

**MATERIAL Y MÉTODOS.** Se realizó un estudio observacional, descriptivo y transversal en la población pediátrica con síndrome de Kabuki. Se incluyeron a todos los pacientes menores de 18 años con el diagnóstico clínico de este síndrome y se procedió a la toma de muestra venosa para determinar el cariotipo en cada uno, así como la realización de CGH. Se recolectaron datos clínicos del fenotipo de los pacientes y se concentraron en hoja de cálculo de Excel. Posteriormente se observaron resultados de las pruebas y se relacionaron las características clínicas encontradas a la exploración y los resultados de las pruebas genéticas.

**RESULTADOS.** Se estudiaron 6 pacientes con diagnóstico clínico de síndrome de Kabuki, de los cuales corresponden 5 mujeres (83.33%) y un hombre (16.66%), con edades de entre los 5 y 12 años, con una media de 9.3 años y una moda de 12 años. Las características más frecuentemente compartidas fueron la ptosis palpebral, alteración de los pabellones auriculares y en los arcos supraciliares, presentes en el 100% de los pacientes. En segundo lugar la presencia de microcefalia, cardiopatía, alteraciones en el puente nasal y las almohadillas en los pulpejos se corroboró en 5 de los 6 pacientes (83.33%). En tercer lugar, la presencia de columela corta, alteraciones palatinas, alteraciones vertebrales y alteraciones neurológicas, se presentaron en el 66.66%. El cariotipo resultó acorde al género en todos los pacientes. La CGH presentó disminución en la intensidad de la señal en el 33.33% de los pacientes, el 50% de éstos correspondió al sexo masculino y el otro 50% al femenino. Los genes alterados fueron MYP3, ATXN7L3B, PAWR, RAB21, ALX1 y el KERA en el locus 12q21-qter; y SLPI, HDAC2, ZHX3, CD40 en el locus 20q12.

**CONCLUSIONES.** A pesar de que en algunos se encontraron rearrreglos cromosómicos en ciertos *loci*, no hubo repetición de la misma alteración en otros casos. Lo cual nos lleva a concluir que la muestra fue inadecuada, a pesar de incluir a todos los pacientes con el diagnóstico de Síndrome de Kabuki. Se sugiere ampliar el número de muestra para conocer otras variantes genéticas y poder establecer una correlación genotipo-fenotipo



## ANTECEDENTES

El síndrome de Kabuki, también conocido como síndrome Niikawa-Kuroki, es una enfermedad congénita rara, que fue descrita por primera vez en 1981 por dos grupos independientes de científicos japoneses, liderados por Norio Niikawa y Yoshikazu Kuroki, respectivamente. Este síndrome está caracterizado por leve a moderada discapacidad intelectual, falla de medro postnatal, facies característica que recuerda al maquillaje de los actores del tradicional teatro Kabuki japonés; fisuras palpebrales alargadas con eversión del tercio lateral del párpado inferior, cejas anchas y arqueadas, columela pequeña y punta de la nariz deprimida, orejas largas y prominentes; anomalías esqueléticas menores, persistencia de almohadillas fetales en las yemas de los dedos. Otros hallazgos incluyen: defectos cardíacos congénitos, anomalías genitourinarias, labio y/o paladar hendido, malformaciones gastrointestinales incluyendo atresia anal, ptosis palpebral y estrabismo, dientes muy espaciados e hipotonía. Sin embargo, estas características, puede que no estén todas presentes incluso en casos genéticamente confirmados de síndrome de Kabuki.<sup>1, 2, 3, 4, 5.</sup>

Las diferencias funcionales pueden incluir: aumento en la susceptibilidad a infecciones y enfermedades autoinmunes, convulsiones, anormalidades endocrinológicas como la telarca prematura aislada en mujeres, problemas para la alimentación y pérdida auditiva.<sup>3</sup>

La prevalencia del síndrome de Kabuki se estima en 1 de cada 32,000 nacimientos en la población japonesa y de 1 en 86,000 en Nueva Zelanda y

Australia.<sup>4, 5</sup> Contrario a lo estimado inicialmente, el síndrome de Kabuki ha sido documentado en múltiples grupos étnicos, incluyendo aquellos del norte de Europa, brasileños, filipinos, vietnamitas, árabes, del este de India, chinos, mexicanos y en aquellos de ascendencia africana, con aproximadamente 400 casos reportados globalmente.<sup>3, 6, 7.</sup>

Las investigaciones y las conclusiones definitivas de éstas son limitadas en la literatura, y aunque esta condición fue caracterizada desde 1981, poco más de 30 años fueron necesarios para que la etiología fuera aclarada, cuando en 2010 se identificaron posibles defectos causales dentro del gen MLL2 (Leucemia de Linaje Mixto 2, por sus siglas en inglés), ahora llamado KMT2D, siendo validados en julio de 2011. La identificación de tales mutaciones en los pacientes con síndrome de Kabuki (SK) no sólo fueron prometedoras por su relativamente alta presencia (66-74%), sino que con esta información pre existente del gen MLL2, ahora ya se es capaz de validar parcialmente genes MLL2 mutados como fuertes candidatos para este síndrome. Aunque indudablemente serán necesarias más investigaciones debido a la significativa superposición fenotípica del SK con otros síndromes congénitos.<sup>7, 8</sup>

En verano 2010, Ng *et al.* reportaron la identificación de mutaciones heterocigóticas en KMTD2 (antes llamado MLL2) como la mayor causa genética del SK. Subsecuentes estudios de cohortes han encontrado mutaciones en KMT2D entre el 56-75% de los pacientes. La mayoría de las mutaciones identificadas fueron *de novo*, aunque ocasionalmente han sido descritos casos de herencia autosómica dominante en algunas familias.<sup>4, 7, 9</sup>

Un segundo gen implicado en el síndrome de Kabuki fue descrito en 2012 por Lederer *et al.* mostrando en 3 pacientes deleciones heterocigóticas totales o parciales del gen KDM6A localizado en el cromosoma X, resaltando la importancia del array-CGH (Hibridación Genómica Comparativa, por sus siglas en inglés) como herramienta útil para el diagnóstico diferencial en pacientes sin mutación en el gen KMT2D. Sin embargo, las mutaciones en KMD6A con herencia ligada al X parecen ser muy raras como causa de SK. Y en un número importante de pacientes, aproximadamente del 30%, la causa genética subyacente permanece aún sin ser identificada.<sup>3, 4</sup>

El gen KMT2D está localizado en el locus 12p13.12, tiene 36.3 kb, comprende 54 exones y codifica para una proteína, una metiltransferasa de 5537 aminoácidos. Esta enzima se requiere para la di y trimetilación de H3K4, constituyendo un marcador de estado activo de transcripción. Este grupo de enzimas presentan un dominio SET, el cual es responsable de su actividad. Las metiltransferasas H3K4 actúan como complejos proteicos estables que contienen y comparten distintos componentes que contribuyen a la función específica de cada complejo. El gen KMT2D/MLL2 fue caracterizado en 1997, este gen es expresado en variedad de tejidos humanos y murinos durante su desarrollo embrionario, según algunos estudios. Las variantes alélicas de este gen son mutaciones sin sentido y del marco de lectura (72%), seguido de mutaciones de sentido erróneo (16%), mutaciones en sitio de empalme (9%) y deleciones/inserciones en marco (3%), todas ellas dando lugar a codones de terminación, los cuales son potencialmente deletéreos.<sup>3, 4, 8, 10.</sup>

La identificación del gen KMT2D como causa génica de un síndrome de múltiples malformaciones congénitas subrayó la importancia de la regulación transcripcional en un tiempo y espacio específicos a través de la interacción de diferentes marcadores epigenéticos durante el desarrollo embrionario de los humanos.<sup>4</sup>

En cuanto al gen KDM6A está localizado en el locus Xp11.3, tiene 239 Kb y comprende 29 exones. Codifica para una proteína de 1401 aminoácidos, una lisina demetilasa 6A, que juega un papel crucial en la remodelación de la cromatina e interactúa con KMT2D. Las deleciones o mutaciones del KDM6A han sido reportadas en 9-14% de los pacientes negativos para la mutación en KMT2D. Las variantes alélicas de KDM6A que dan lugar a codones de terminación son las deleciones intragénicas multiexónicas, deleciones de genes contiguos, mutaciones sin sentido, deleciones de 3 pb y, últimamente documentadas, las mutaciones puntuales por Miyake *et al.* en 2012.<sup>3, 8, 11</sup>

En la mayoría de los individuos afectados, la haploinsuficiencia de KMT2D/MLL2 o KDM6A es probablemente la base subyacente del síndrome de Kabuki.<sup>3</sup>

El diagnóstico del síndrome de Kabuki se realiza mediante criterios clínicos de acuerdo a características fenotípicas presentadas por los pacientes y a través de pruebas moleculares.<sup>3, 8, 9</sup> Dentro de los primeros se incluye una tabla del score propuesto para el diagnóstico de SK. (*Tabla 1*).<sup>3</sup> En cuanto a las pruebas moleculares las más empleadas son el MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification, por sus siglas en inglés o Amplificación Múltiple de Sondas

Dependientes de Ligación), qPCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa cuantitativa), FISH (Hibridación Fluorescente *in situ*), así como CGH (Hibridación Genómica Comparativa).<sup>10, 12, 13, 14</sup>

<b>Tabla 1. SISTEMA DE PUNTAJE FENOTÍPICO PROPUESTO PARA SÍNDROME DE KABUKI</b>		
Hallazgos clínicos	Características fenotípicas	Puntaje posible
Características faciales	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cejas arqueadas y tercio externo escaso</li> <li>• Escleróticas azules</li> <li>• Párpado inferior evertido</li> <li>• Fisuras palpebrales grandes</li> <li>• Ptosis palpebral</li> <li>• Estrabismo</li> <li>• Orejas grandes displásicas</li> <li>• Raíz nasal ancha</li> <li>• Punta nasal aplanada</li> <li>• Dentición anormal</li> <li>• Hipodoncia</li> <li>• Paladar alto o hendido</li> <li>• Micrognatia</li> <li>• Labio superior delgado e inferior ancho</li> <li>• Nódulos labiales</li> </ul>	1 – 5 puntos <sup>1</sup>
Características de las extremidades	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Braqui o clinodactilia</li> <li>• Luxación de cadera</li> <li>• Laxitud de articulaciones</li> <li>• Persistencia de almohadillas fetales en yema de los dedos</li> </ul>	0 – 1 puntos <sup>2</sup>
Microcefalia		1 punto
Talla baja		1 punto
Malformaciones cardiacas		1 punto
Malformaciones renales		1 punto
TOTAL		0 – 10 puntos <sup>3</sup>
Adaptado por Makrythanasis et al (2013)		
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 0 – 3 características = 1 punto; 4 – 6 características = 2 puntos; 7 – 9 características = 3 puntos; 10 – 12 características = 4 puntos; 13 – 15 características = 5 puntos.</li> <li>2. 0 – 1 característica = 0 puntos; 2 – 4 características = 1 punto.</li> <li>3. Aquellos con mutación de KMT2D tienen un puntaje promedio de 6.1; aquellos sin mutación del KMT2D tienen un puntaje promedio de 4.5.</li> </ol>		

La CGH es una reciente técnica de citogenética molecular que permite el análisis de todo el genoma, permite la rápida detección de rearrreglos cromosómicos o microarreglos, entendiéndose por éstos a la ganancia o pérdida de material genético como deleciones, microdeleciones, duplicaciones, microduplicaciones, translocaciones balanceadas y desbalanceadas, inversiones, etc. La CGH realiza un mapeo de un número de copias de secuencias del ADN y diferencia entre un genoma normal de uno anormal, identificando aquellos microarreglos sumamente pequeños que escaparían a un estudio de genética convencional como lo es el cariotipo. Tiene un amplio potencial de aplicaciones, como en la investigación básica y en la práctica clínica, particularmente en áreas como genética de los tumores, detectando la presencia de genes amplificados y mapeando su localización en cromosomas normales. El potencial de la CGH no está limitado a estudios del cáncer. En genética clínica, es usado como complemento de la citogenética convencional en el diagnóstico de rearrreglos cromosómicos desbalanceados.<sup>15, 16, 17</sup>

La CGH es una modificación de la técnica FISH. El proceso entero de análisis de ADN con la técnica de hibridación genómica comparativa (CGH) se conforma de los siguientes pasos:

- Preparación para la metafase normal: se utilizan cultivos de linfocitos de sangre periférica de un individuo con cariotipo normal estimulados por hemaglutinina. Las células son detenidas en mitosis, mediante colchicina tratada con cloruro de potasio (KCL) hipotónico y fijadas en metanol o ácido

acético. Los cromosomas en metafase utilizados como ADN diana son fijados convencionalmente a los portaobjetos.<sup>15</sup>

- Aislamiento del ADN en estudio y el ADN control: la cadena de ADN en estudio puede ser obtenida por cualquier tipo de aislamiento que produzca ADN de alto peso molecular adecuado para el uso en CGH.<sup>15</sup>
- Marcaje de ADN: los segmentos de ADN en estudio y de referencia son cortados en pequeños fragmentos y etiquetados o marcados con diferentes fluorocromos para distinguirlos entre las secuencias hibridadas en los dos genomas. Normalmente el ADN estudiado es detectado con isotiocianato fluorescente, el cual emite fluorescencia verde, y el ADN de referencia con rodamina, la cual produce fluorescencia roja. Una pequeña cuenta de 0.5 – 1 microgramos de ADN es suficiente.<sup>15</sup>
- Hibridación: la hibridación de ambos tipos de ADN genómico conduce simultáneamente a la competencia entre el ADN estudiado y el de referencia por secuencias específicas de ADN en metafase en el extendido. Los fragmentos marcados con cantidades similares de ADN estudiado y de referencia se mezclan y se añaden en solución a los portaobjetos que contienen el ADN diana. La hibridación toma lugar entonces de acuerdo a la cinética molecular y en proporción a la cantidad de ADN en estudio y de referencia presentes en la muestra.<sup>15</sup>
- Adquisición de imágenes y análisis: usando un microscopio de fluorescencia y análisis de imagen digital, las cantidades relativas del ADN estudiado y el ADN de referencia hibridando al ADN diana se estiman

midiendo las fluorescencias verdes y rojas en cada punto de los cromosomas normales en metafase. La proporción de color verde y rojo es cuantificado a largo de todos los cromosomas. En aquellas partes del genoma donde el número de copias del ADN en estudio es alto, la razón de fluorescencia verde/rojo también será alta y viceversa.<sup>15</sup>

Para determinar una ganancia o pérdida cromosómica, la proporción fluorescente de las intensidades verde/rojo debe ser calculada. Con un microscopio de fluorescencia, usando tres filtros pasa-banda separados en combinación con una cámara de carga acoplada, se capturan tres imágenes digitales en blanco y negro de cada metafase y son plasmadas en la pantalla de una computadora. Un especial software permite cariotipar de manera interactiva los cromosomas y calcular la proporción de verde/rojo de cada cromosoma. Del número obtenido mediante la proporción del ADN estudiado con respecto al ADN de referencia puede ser cuantificado el número aproximado de copias de las secuencias homólogas de cada cromosoma entre los dos genomas.<sup>15</sup>

La CGH es una atractiva herramienta para la detección de una aneuploidía segmentaria o de todo un cromosoma porque permite la detección de esta aneuploidía en cualquier parte del genoma en un solo paso sin necesidad de sondas específicas.<sup>15, 16, 17</sup>

En el análisis de los resultados de la CGH, también hay limitaciones que se deben tomar en cuenta. La CGH puede detectar un cambio en el número de copias de una secuencia sólo si más del 50% de las células analizadas contienen ganancia o



pérdida cromosómica. La CGH también se ve afectada en su capacidad para identificar anormalidades cromosómicas balanceadas, ya que en las cuales no hay cambio en el número de copias, tales como aquellas encontradas en translocaciones balanceadas, inversiones, rearrreglos intragénicos y poliploidías.<sup>15</sup>

Los cambios genéticos son detectados y mapeados en cromosomas cuando el tamaño de la región cromosómica afectada es de al menos 10 megabases (Mb). Regiones más pequeñas afectadas, son solamente detectadas en caso de amplificaciones de alto nivel, 5 a 10 veces la amplificación de 1Mb. Se ha estimado que una amplificación de un segmento tan pequeños como de 100 kilobases (Kb) puede ser detectado por CGH si el número de copias es aumentado en un factor de 20. Cuando la delección es del 100%, no hay copias presentes, puede ser alcanzada una resolución de 1-2 Mb.<sup>15</sup>

Las características fenotípicas del síndrome de Kabuki, como ya se mencionó, son tan variadas que ningún paciente posee el mismo fenotipo que otro. Diversos estudios señalan que esto se debe a probables rearrreglos cromosómicos en sitios específicos fuera de los genes implicados KMT2D y KMD6A en los pacientes con síndrome de Kabuki, que les confiere mayor discapacidad intelectual que a otros o presencia de alteraciones cardíacas o renales siendo que en otros pacientes sólo se describen alteraciones oftálmicas y esqueléticas menores con leve discapacidad intelectual sin afectación de órganos internos. Y son las técnicas de diagnóstico molecular como la CGH que nos permiten conocer estos rearrreglos cromosómicos detonantes del fenotipo de los pacientes con síndrome de Kabuki.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El síndrome de Kabuki es una enfermedad poco frecuente, de la cual no se tiene suficiente información en pacientes mexicanos. En el Centro Médico Nacional La Raza del Instituto Mexicano del Seguro Social, contamos con una población pequeña de pacientes con síndrome de Kabuki diagnosticados en base a criterios clínicos.

El síndrome de Kabuki, cuya prevalencia se desconoce en México, es una enfermedad con múltiples diagnósticos diferenciales por la superposición fenotípica con otros síndromes. Incluso dentro del mismo síndrome, los pacientes cursan con alta variabilidad en su fenotipo.<sup>18</sup>

Los rearrreglos cromosómicos en sitios diferentes a la mutación de base (genes KMT2D y KMD6A) son quizá la causa de esta diversidad en los pacientes con síndrome de Kabuki. Para el diagnóstico definitivo y la detección de estos rearrreglos se requieren pruebas de mayor agudeza y precisión como la CGH, necesarias para determinar la etiología molecular y establecer la relación de las mutaciones encontradas con el fenotipo del paciente con síndrome de Kabuki. Lo que nos lleva a formularnos la siguiente pregunta de investigación:

¿Hay relación de las características fenotípicas con los rearrreglos cromosómicos encontrados mediante hibridación genómica comparativa en pacientes pediátricos mexicanos con síndrome de Kabuki en Centro Médico Nacional La Raza IMSS?

## **HIPÓTESIS**

Las características fenotípicas sí tienen relación con los rearrreglos cromosómicos encontrados mediante hibridación genómica comparativa en pacientes pediátricos mexicanos con síndrome de Kabuki en Centro Médico Nacional La Raza IMSS.

## **OBJETIVOS**

Objetivo general:

1. Relacionar las características fenotípicas con los rearrreglos cromosómicos encontrados mediante hibridación genómica comparativa en pacientes pediátricos mexicanos con síndrome de Kabuki en Centro Médico Nacional La Raza IMSS.

Objetivos específicos:

1. Conocer el funcionamiento de la técnica de hibridación genómica comparativa como herramienta para el diagnóstico del síndrome de Kabuki.
2. Detectar los rearrreglos cromosómicos en pacientes con síndrome de Kabuki.
3. Identificar características fenotípicas asociadas con los rearrreglos cromosómicos encontrados.

## JUSTIFICACIÓN

En México no existe la suficiente información sobre este síndrome, sólo se encuentran en la literatura reportes de un caso, uno de ellos en 2006, otro en 2010 y el otro en 2013. Ninguno con diagnóstico genético.<sup>18, 19, 20</sup>

El Hospital General “Dr. Gaudencio González Garza” del Centro Médico Nacional La Raza, es una Unidad Médica de Alta Especialidad y centro de referencia nacional de todo tipo de enfermedades. Contamos con pacientes con diagnóstico clínico de síndrome de Kabuki en los que se observa la variación fenotípica documentada en la literatura.

La realización de este trabajo de investigación sería una oportunidad para establecer el diagnóstico genético mediante la técnica de Hibridación Genómica Comparativa (CGH) y detectar la presencia de rearrreglos cromosómicos capaces de explicar la diversidad del fenotipo del SK. Con esto será posible brindar información precisa de la población en nuestro país, a la par de la información de otros países en el mundo.

Una vez publicada esta información, estará dirigida a todos los médicos generales, médicos especialistas como pediatras y neonatólogos o profesionales de la salud en general, para documentar mejor acerca de este síndrome y sea la sospecha clínica mediante las características fenotípicas del paciente, la que incentiven su envío y valoración por el Servicio de Genética para establecer su diagnóstico oportuno.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Tipo de estudio

- Observacional.
- Descriptivo.
- Transversal.

### Universo de estudio

- Pacientes pediátricos con diagnóstico clínico o características fenotípicas de síndrome de Kabuki del Departamento de Genética del Hospital General “Dr. Gaudencio González Garza” del Centro Médico Nacional La Raza desde 2009 a la fecha.

### Criterios de inclusión

- Pacientes de 0 a 18 años con diagnóstico clínico o sugerente de síndrome de Kabuki.
- Pacientes con expediente clínico dentro del Departamento de Genética del Hospital General “Dr. Gaudencio González Garza” del Centro Médico Nacional La Raza.

### Criterios de exclusión

- Pacientes sin consentimiento o asentimiento informado de participación en la investigación.
- Pacientes sin expediente clínico o expediente incompleto.

## **DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO**

Se tomarán en cuenta todos los pacientes pediátricos con diagnóstico clínico de síndrome de Kabuki del Departamento de Genética del Hospital General “Dr. Gaudencio González Garza” del Centro Médico Nacional La Raza desde 2009 a la fecha.

## DEFINICIÓN Y CLASIFICACIÓN DE LAS VARIABLES

Variable independiente: rearrreglos cromosómicos.

Variable dependiente: características fenotípicas de síndrome de Kabuki.

<b>Tabla 2. DEFINICIÓN Y CLASIFICACIÓN DE VARIABLES</b>					
Variable	Tipo de variable	Definición conceptual	Definición operacional	Escala de medición	Fuente de información
Edad	Cuantitativa discreta	Tiempo transcurrido desde el nacimiento de la persona hasta la actualidad	Edad del paciente al momento de la toma de muestra.	Años	Expediente clínico
Sexo	Cualitativa dicotómica	Género fenotípico asignado al paciente desde el nacimiento	Femenino o masculino	Femenino Masculino	Expediente clínico
Cejas arqueadas y tercio externo escaso	Cualitativa dicotómica	Ceja en forma de ángulo en lugar de ser curva, con el tercio externo de ésta con menos folículos pilosos que el resto.	Presencia de la ceja arqueada, con el tercio lateral de la ceja menos poblado.	Sí o No	Exploración física del paciente
Escleróticas azules	Cualitativa dicotómica	Coloración azulada de la membrana esclerótica de los ojos	Presencia de una o ambas escleróticas azules	Sí o No	Exploración física del paciente
Párpado inferior evertido	Cualitativa dicotómica	Borde del párpado inferior mirando hacia afuera en lugar de estar hacia la esclerótica.	Presencia de borde externo del párpado inferior evertido.	Sí o No	Exploración física del paciente
Fisuras palpebrales grandes	Cualitativa dicotómica	Abertura natural que existe entre los párpados se encuentra muy amplia.	La distancia de la comisura interna a la comisura externa es unos milímetros mayor a lo normal para la edad y raza.	Sí o No	Exploración física del paciente
Ptosis palpebral	Cualitativa dicotómica	Caída del párpado superior ocasionando menor agudeza visual.	El descenso del párpado superior es igual o mayor de 2mm puede ser uni o bilateral.	Sí o No	Exploración física del paciente
Estrabismo	Cualitativa dicotómica	Es la desviación del alineamiento de un ojo en relación al otro impidiendo la fijación bifoveolar.	Presencia de desviación de un ojo hacia afuera (exoforia), hacia adentro (endoforia),	Sí o No	Exploración física del paciente



			hacia arriba (hiperforia) o hacia abajo (hipoforia).		
Orejas grandes displásicas	Cualitativa dicotómica	Pabellón auricular con pliegues, localización o implantación anormales.	Presencia de pliegues anormales o implantación por debajo del nivel del canto externo del ojo ipsilateral.	Sí o No	Exploración física del paciente
Raíz nasal ancha	Cualitativa dicotómica	Parte de la nariz que se encuentra entre ambos ojos, presenta amplitud más de lo normal.	Presencia subjetiva de amplitud en la raíz nasal.	Sí o No	Exploración física del paciente
Punta nasal aplanada	Cualitativa dicotómica	Punta de la nariz aplanada.	Presencia subjetiva de punta de la nariz aplanada.	Sí o No	Exploración física del paciente
Dentición anormal	Cualitativa dicotómica	Proceso de desarrollo de los dientes anormal o localización anómala.	Presencia de piezas dentarias anómalas o en lugares distintos a su localización habitual.	Sí o No	Exploración física del paciente
Hipodoncia	Cualitativa dicotómica	Ausencia de uno o varios dientes.	Ausencia de una o varias piezas dentarias.	Sí o No	Exploración física del paciente
Paladar alto	Cualitativa dicotómica	Paladar ojival	Presencia de paladar ojival.	Sí o No	Exploración física del paciente
Paladar hendido	Cualitativa dicotómica	Falta del cierre del paladar durante su desarrollo.	Paladar con defecto de continuidad ya sea en la parte blanda o dura.	Sí o No	Exploración física del paciente
Micrognatia	Cualitativa dicotómica	Mandíbula pequeña	Presencia de mandíbula pequeña de acuerdo al observador	Sí o No	Exploración física del paciente
Labio superior delgado	Cualitativa dicotómica	Labio superior delgado	Labio superior más delgado respecto al inferior	Sí o No	Exploración física del paciente
Labio inferior ancho	Cualitativa dicotómica	Labio inferior ancho	Labio inferior más ancho respecto al superior.	Sí o No	Exploración física del paciente
Nódulos labiales	Cualitativa dicotómica	Zona de abultamiento en los labios.	Presencia de nódulos en cualquiera de los labios.	Sí o No	Exploración física del paciente
Braquidactilia	Cualitativa dicotómica	Dedos cortos	Presencia de uno o más dedos cortos.	Sí o No	Exploración física del paciente
Clinodactilia	Cualitativa dicotómica	Desviación lateral de los dedos en el plano transversal.	Presencia de uno o más dedos desviados en su falange distal.	Sí o No	Exploración física del paciente

Luxación de cadera	Cualitativa dicotómica	Malformación ortopédica donde el fémur se encuentra fuera del acetábulo.	Cabeza del fémur fuera del cuadrante inferomedial de la cadera.	Sí o No	Exploración física del paciente
Laxitud de articulaciones	Cualitativa dicotómica	Aumento exagerado de la movilidad de las articulaciones.	Articulación de la muñeca con flexión más de 90° y extensión a más de 270°.	Sí o No	Exploración física del paciente
Persistencia de almohadillas fetales en yema de los dedos	Cualitativa dicotómica	El aumento de volumen debajo de las yemas de los dedos.	Presencia de almohadillas fetales en uno o más dedos de la mano.	Sí o No	Exploración física del paciente
Microcefalia	Cualitativa dicotómica	El tamaño de la cabeza más pequeño de lo normal	Perímetro cefálico por debajo de 2 DS* para la edad y sexo.	Sí o No	Exploración física del paciente y tablas de la CDC** de PC***
Talla baja	Cualitativa dicotómica	Es la detención del crecimiento dando lugar a una talla más pequeña para la edad y sexo.	Estatura por debajo de 2 DS* de acuerdo a la edad y sexo.	Sí o No	Exploración física del paciente y tablas de la CDC**, 23 de talla.
Malformaciones cardíacas	Cualitativa dicotómica	Malformaciones en la estructura del corazón que están presentes desde el nacimiento.	Presencia de coartación de aorta, defectos obstructivos izquierdos o defectos septales	Sí o No	Expediente clínico.
Malformaciones renales	Cualitativa dicotómica	Malformaciones en la estructura de la vía urinaria que están presentes desde el nacimiento.	Presencia de riñón único, riñón en herradura, ectopia renal, doble sistema colector o hidronefrosis.	Sí o No	Expediente clínico.

\* DS: desviación estándar.

\*\* CDC: Centers for Disease Control and Prevention

\*\*\* PC: perímetro cefálico.

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Se llevará a cabo un análisis bivariado.

Estadística descriptiva: se realizarán medidas de tendencia central y de dispersión para variables descriptores.

## ASPECTOS ÉTICOS

El investigador responsable de este proyecto declara que se respetarán estrictamente los principios contenidos en el código Núremberg, la Declaración de Helsinki, la Enmienda de Tokio, el Informe de Belmont y el Código de Reglamentos Federales de Estados Unidos, así como la Ley General de Salud en México, mismos que incluyen entre otras cosas consideraciones:

1. La solicitud del asentimiento del niño y el consentimiento informado de los padres o tutores explicando los procedimientos, posibles beneficios y riesgos de la investigación, incluyendo la firma de los testigos.
2. Se asegurará la confidencialidad de la identificación del paciente. No se guardará material biológico para estudios no relacionados con el presente protocolo.

Se solicitará el asentimiento verbal o por escrito de participación a todos los niños involucrados y la carta de asentimiento será firmada por los padres o representante legal del niño. A aquellos que porten discapacidad intelectual importante que les impida el entendimiento de la petición sólo se dará carta de consentimiento informado a los padres o representante legal del niño.

Se incluye una copia del asentimiento y consentimiento informado en el apartado de Anexos de este trabajo de investigación.

## **FACTIBILIDAD**

### Recursos humanos:

El Dr. Kenneth Gustav Abimelec Magaña, residente de tercer año de pediatría del Hospital General “Dr. Gaudencio González Garza”, elaboró protocolo de investigación, conjuntó datos para el marco teórico, revisó a pacientes, recopiló datos, los analizó, elaboró discusión y conclusiones.

El Dr. Carlos Yam Ontiveros, médico adscrito al departamento de Genética del Hospital General “Dr. Gaudencio González Garza”, diseñó el protocolo de investigación, revisó pacientes en la consulta, gestionó la realización de las pruebas citogenéticas de CGH, elaboró discusión y conclusiones.

### Recursos físicos y materiales:

Se requirió de una toma de muestra sanguínea y realización de pruebas genéticas especiales como el cariotipo y la CGH, las cuales se hicieron dentro del laboratorio de Genética, con presupuesto ya dispuesto y destinado a este tipo de trabajos de investigación.

Se utilizaron los consultorios de la consulta externa del departamento de Genética para citar y revisar a los pacientes. Se hizo uso de computadoras personales para la elaboración del proyecto en programas de office, así como materiales para impresión del trabajo, presupuesto ofrecido por los investigadores asociados.

## **DIFUSIÓN DE RESULTADOS**

- a) El proyecto se presentará como tesis de postgrado para obtener el título de especialista en Pediatría.
  
- b) Se presentará en congresos y eventos de investigación relacionados con las especialidades relacionadas.

## RESULTADOS

Se realizó un estudio observacional, transversal y descriptivo en el Departamento de Genética de la UMAE Hospital General “Dr. Gaudencio González Garza”, dentro del Centro Médico Nacional La Raza IMSS con pacientes pediátricos con diagnóstico clínico de síndrome de Kabuki, en quienes se les solicitaron diversos estudios citogenéticos incluyendo cariotipo y CGH (Hibridación genómica comparativa) como parte de la búsqueda intencionada de alteraciones cromosómicas para relacionarlas con las características fenotípicas de cada paciente. A continuación se presentan cada uno de los casos estudiados con un resumen breve y el resultado de su cariotipo y CGH.

### Caso 1: CZA

*Femenino de 12 años 10 meses de edad con diagnóstico clínico de Síndrome de Kabuki.*

*Estudio citogenético 46, XX [25]. (Figura 1).*

*Exploración física: Microcefalia, pabellones auriculares con rotación posterior, fisuras palpebrales amplias, arcos superciliares marcados, ptosis palpebral bilateral, columela corta, puente nasal ancho y deprimido, paladar ojival, clinodactilia de quinto dedo de mano derecha, almohadillas en pulpejos de dedos de la mano.*

*Otros datos: antecedente de persistencia de conducto arterioso (PCA) con cierre espontáneo. Hipotiroidismo congénito tratado desde los 2 años de edad con levotiroxina. Retraso global del desarrollo. Telarca 9 años. Infecciones recurrentes de vías respiratorias superiores. Radiografía de columna vertebral normal.*

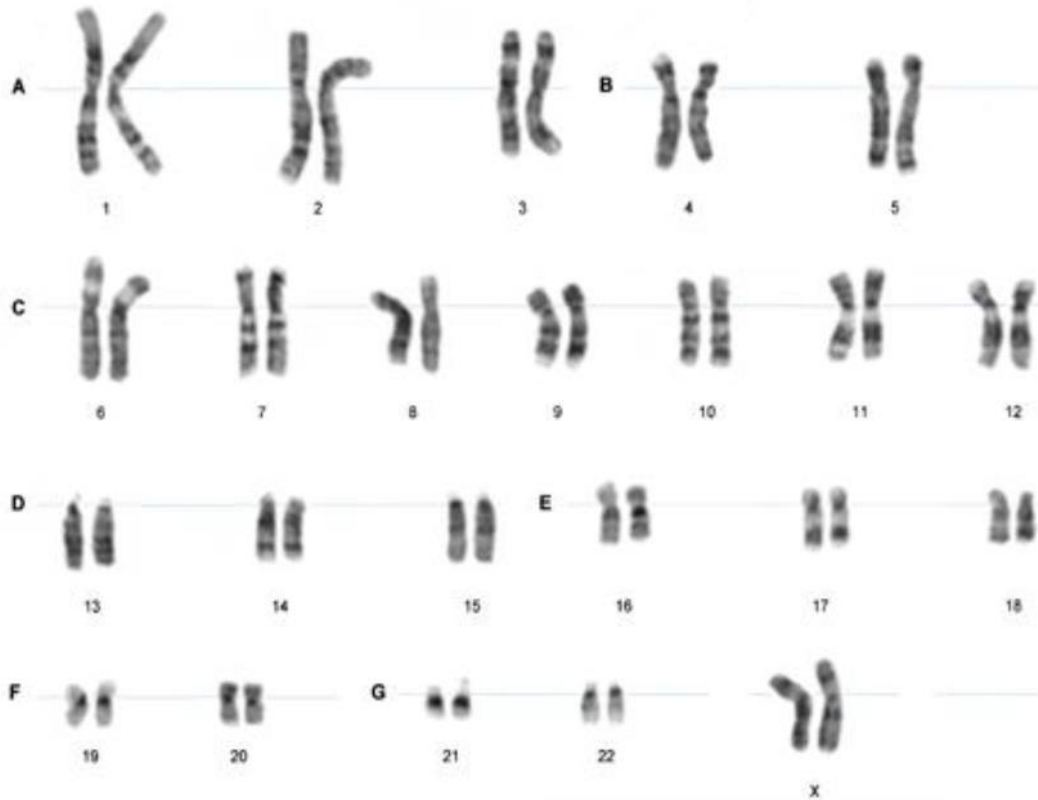


Figura 1. Cariotipo 46, XX correspondiente al paciente CZA.

## Caso 2: BGG

*Femenino de 10 años 1 mes de edad con diagnóstico clínico de Síndrome de Kabuki.*

*Estudio citogenético 46, XX [30] (Figura 2).*

*Exploración física: Microcefalia, fisuras palpebrales amplias, ptosis palpebral bilateral, arcos superciliares marcados, puente nasal ancho, nariz de base ancha, punta nasal plana, hipoplasia medio facial, paladar ojival, pabellones auriculares acopados y con rotación posterior, cuello ancho, persistencia de almohadillas en pulpejos de las manos, hiperlaxitud articular. Una mancha café con leche en región posterior de muslo izquierdo.*

*Otros datos: comunicación interauricular (CIA) tratada con cateterismo a la edad de 1 año 5 meses. Crisis convulsivas tratadas con valproato de magnesio. Retraso del desarrollo. Talarca 10 años. Radiografía de columna vertebral con hemivértebra en T8. Ultrasonido renal con ectopia renal derecha y doble sistema colector izquierdo.*





Figura 2. Cariotipo 46, XX correspondiente al paciente BGG.

### Caso 3: JRJA

*Masculino de 5 años 7 meses de edad con diagnóstico clínico de Síndrome de Kabuki.*

*Estudio citogenético 46, XY [25] (Figura 3).*

*Exploración física: perímetro cefálico en p5-10, talla baja, puente nasal ancho y deprimido, punta nasal plana, ptosis palpebral bilateral, fisuras palpebrales amplias, eversión de tercio externo de párpados inferiores, escleras azul-grisáceas, paladar alto y estrecho, cuello corto, pabellones auriculares de baja implantación con rotación posterior, manos con persistencia de almohadillas en pulpejos, pene limítrofe para la edad.*

*Otros datos: hipotiroidismo congénito tratado con levotiroxina desde los 11 meses de edad. Antecedente de criptorquidia, operado de orquidopexia a los 3 años de edad. Comunicación interventricular con PCA e hipertensión arterial pulmonar (HAP). Epilepsia con tratamiento a base de valproato de magnesio desde los 4 años de edad. Radiografía de columna con escoliosis toracolumbar de convexidad derecha sin defectos vertebrales. Ultrasonido renal normal.*

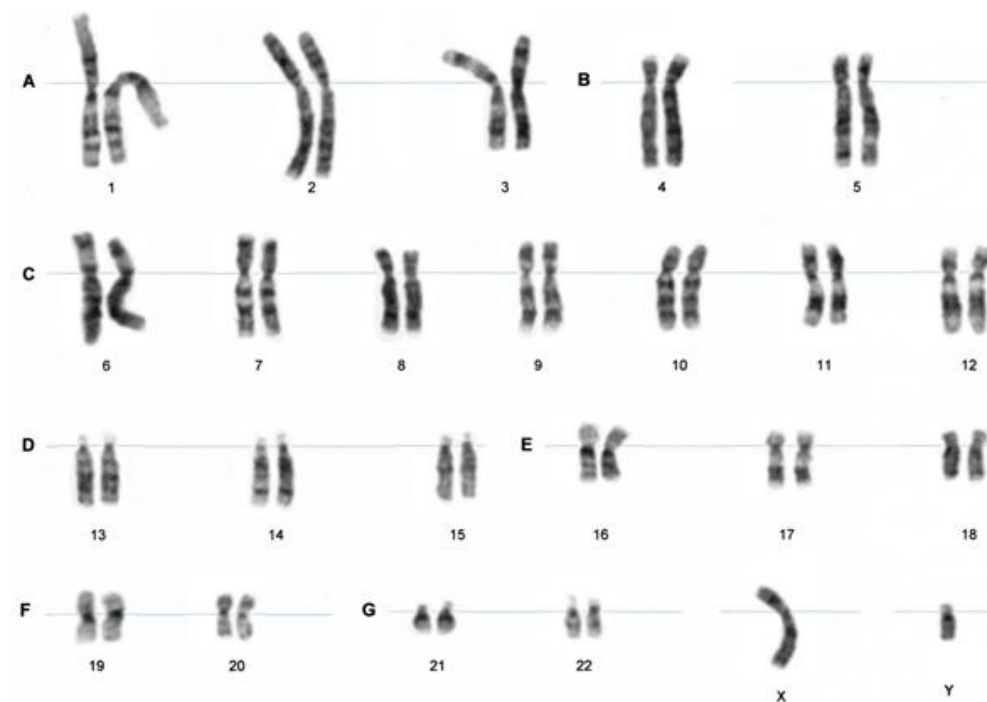


Figura 3. Cariotipo 46, XY correspondiente al paciente JRJA.

**Resultado de CGH:** ish cgh dim(12)(q21qter)

Lo que corresponde citogenéticamente a masculino con disminución en la intensidad de la señal desde 12q21-12qter posterior a CGH cromosómico. Los genes que pueden verse implicados en dicho locus para la variación fenotípica son:

**MYP3:** myopia 3 (high grade, autosomal dominant). Tipo de gen localizado en el locus 12q21-q23, cuya alteración se asocia al desarrollo del padecimiento genético ocular conocido como miopía.

**ATXN7L3B:** ataxin 7 like 3B. Localizado en el locus 12q21.1 que codifica proteínas, cuya delección ocasiona fenotipos de ataxia y neurodesarrollo complejo.

**PAWR:** pro-apoptotic WT1 regulator. El supresor de tumores WT1 reprime y activa la transcripción. La proteína codificada por este gen es una proteína WT1 de interacción que por sí misma funciona como un represor transcripcional. Contiene un dominio de leucina que interactúa con el dominio de unión a ADN de WT1. Esta proteína tiene una regulación positiva durante la apoptosis de las células prostáticas.

**RAB21:** Este gen pertenece a la familia Rab de GTPasas monoméricas, que están implicadas en el control del tráfico de membrana celular. La proteína codificada juega un papel en el tráfico específico de integrinas a través de su asociación con las colas alfa integrina. Como consecuencia, la proteína codificada participa en la regulación de la adhesión celular y la migración. La expresión de este gen se asocia con un mal pronóstico para pacientes con glioma. Este gen está regulado negativamente por el supresor de tumores miR-200b y éste a su vez está regulado negativamente en los tejidos de glioma.

**ALX1:** ALX homeobox 1. La función específica de este gen aún no se ha determinado en los seres humanos; sin embargo, en los roedores, es necesario para la supervivencia de la mesénquima cerebro anterior y también pueden estar involucrados en el desarrollo del cuello uterino. Las mutaciones en el gen del ratón para defectos del tubo neural, como acrania y meroanencefalia.

**KERA:** keratocan. La proteína codificada por este gen es un proteoglicano de sulfato de queratán que está implicado en la transparencia corneal. Los defectos en este gen son una causa de carácter autosómico recesivo córnea plana 2 (CNA2).

#### Caso 4: VRA

*Femenino de 8 años 7 meses de edad con diagnóstico clínico de Síndrome de Kabuki.*

*Estudio citogenético: 46, XX [25] (Figura 4).*

*Exploración física: Microcefalia, puente nasal ancho y deprimido, punta nasal plana a columela corta, hipoplasia medio facial, ptosis palpebral bilateral, arcos superciliares marcados, sinofridia, paladar ojival, pabellones auriculares grandes, cúbito valgo bilateral, persistencia de almohadillas en pulpejos de manos, hiperlaxitud articular. Una mancha café con leche en región abdominal derecha.*

*Otros datos: ano imperforado con tratamiento quirúrgico en periodo neonatal inmediato. Retraso del desarrollo, crisis convulsivas en estudio. Malabsorción intestinal. Sin cardiopatía. Radiografía de columna sin alteraciones vertebrales.*

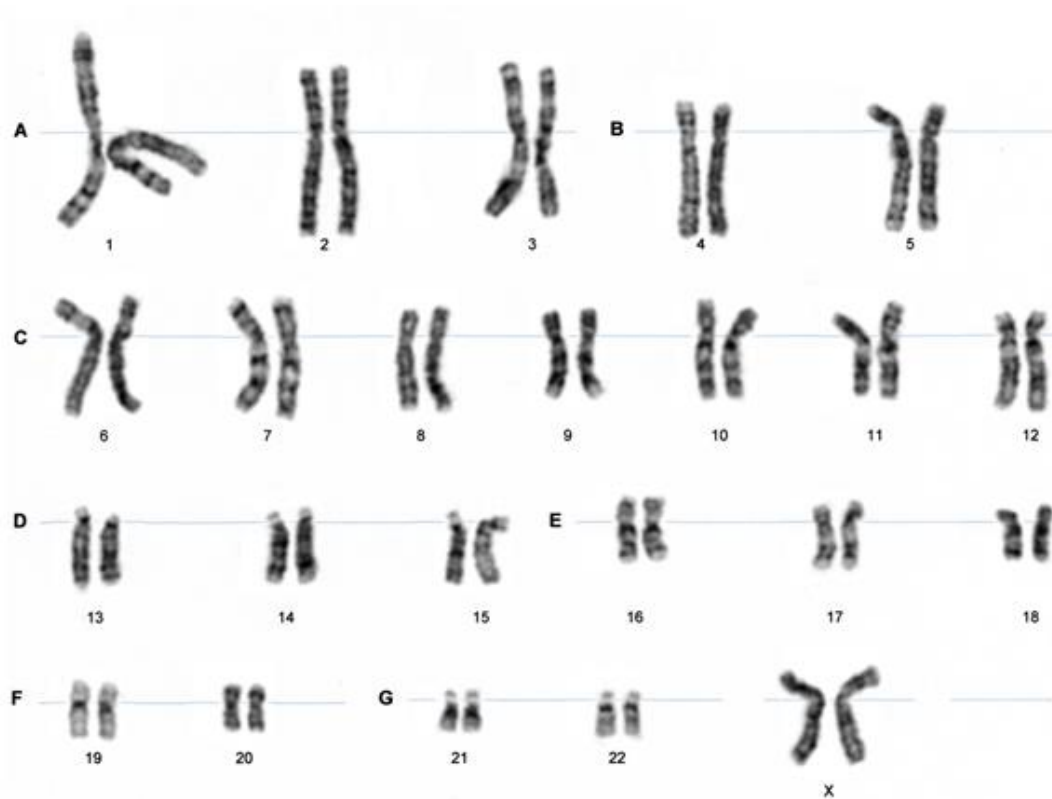


Figura 4. Cariotipo 46, XX correspondiente al paciente VRA.

### Caso 5: LGAI

*Femenino de 9 años de edad con diagnóstico clínico de Síndrome de Kabuki.*

*Estudio citogenético 46, XX [25] (Figura 5).*

*Exploración física: microcefalia, talla baja, puente nasal ancho, punta nasal plana, columela corta, ptosis palpebral bilateral, arcos superciliares marcados, cejas gruesas, escleras azules, pabellones auriculares con rotación posterior, cuello corto, persistencia de almohadillas en pulpejos de las manos, hiperlaxitud articular.*

*Otros datos: presencia de CIA, CIV con HAP. Radiografía de columna con escoliosis torácica de convexidad a la derecha, secundaria a hemivértebra en T5. Ultrasonido renal con hipoplasia renal derecha.*

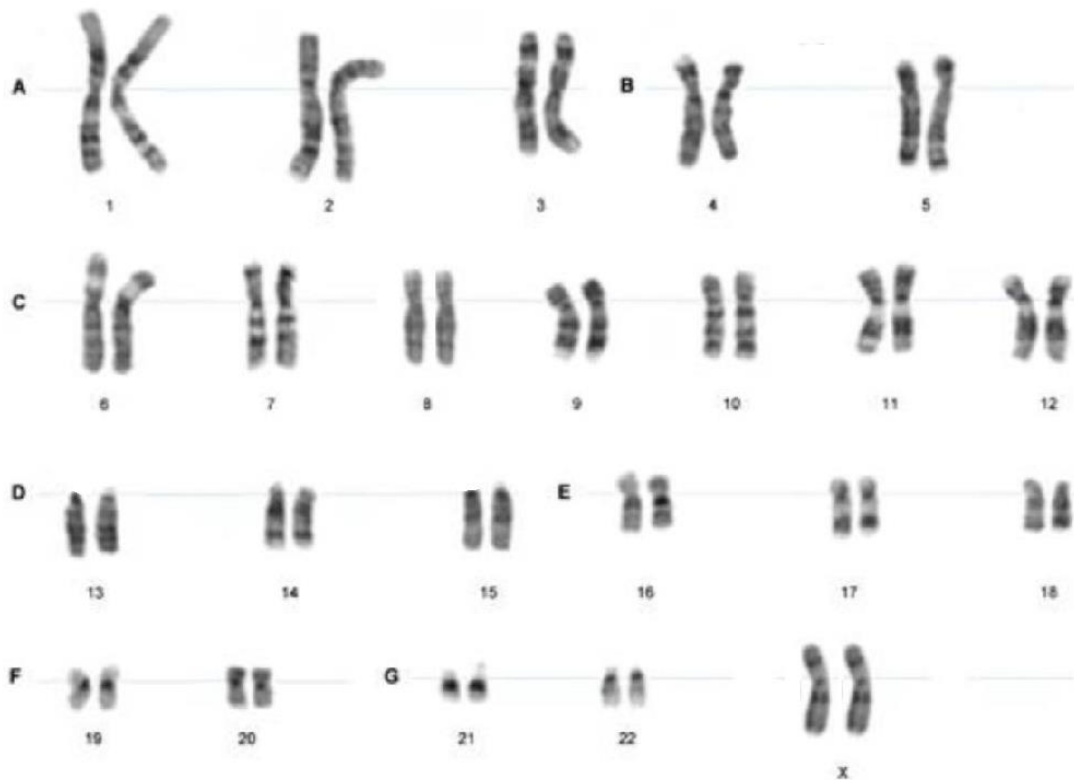


Figura 5. Cariotipo 46, XX correspondiente al paciente LGAI.

**Resultado de CGH:** ish cgh dim(20)(q12)

Lo que corresponde citogenéticamente a femenino con disminución en la intensidad de la señal de 20q12 posterior a CGH cromosómico. Los genes que pueden verse implicados en dicho locus para la variación fenotípica son:

**SLPI:** secretory leukocyte peptidase inhibitor. Este gen codifica un inhibidor que protege los tejidos epiteliales de proteasas de serina. Se encuentra en diversas secreciones incluyendo líquido seminal, moco cervical, y las secreciones bronquiales, y tiene afinidad por la tripsina, elastasa de leucocitos, y catepsina G. Su efecto inhibidor contribuye a la respuesta inmune mediante la protección de las superficies epiteliales del ataque de las enzimas proteolíticas endógenas. Esta proteína antimicrobiana tiene propiedades antibacterianas, antifúngicas y actividad antiviral.

**HDAC2:** histone deacetylase 2. Este producto del gen pertenece a la familia de la histona desacetilasa. Las histonas desacetilasas actúan a través de la formación de grandes complejos multiproteicos, y son responsables de la desacetilación de restos de lisina en las regiones N-terminales de las histonas centrales (H2A, H2B, H3 y H4). Esta proteína forma

complejos represores transcripcionales mediante la asociación con muchas proteínas diferentes, incluyendo YY1, un factor de transcripción de los mamíferos. Por lo tanto, juega un papel importante en la regulación transcripcional, la progresión del ciclo celular y eventos de desarrollo. Empalmes alternativos resultan en múltiples variantes transcripcionales.

**ZHX3:** zinc fingers and homeoboxes 3. Este gen codifica para un miembro la familia génica de zinc fingers y homeoboxes (ZHX). La proteína codificada contiene dos C2H2-type zinc fingers y cinco homeodominios y forma un dímero con sí mismo o con la familia génica de zinc fingers y homeoboxes. En el núcleo, la proteína dimerizada interactúa con la subunidad A del factor de transcripción ubicuo factor nuclear-Y y puede funcionar como un represor transcripcional.

**CD40:** Este gen es un miembro de la superfamilia de receptores de TNF. La proteína codificada es un receptor en las células presentadoras de antígeno del sistema inmune y es esencial para la mediación de una amplia variedad de respuestas inmunes e inflamatorias, incluyendo la conmutación de células T dependiente de la clase de inmunoglobulina, el desarrollo de células B de memoria, y formación de centro germinal. El factor de transcripción AKNA se informa para regular de forma coordinada la expresión de este receptor y su ligando, que puede ser importante para la interacción de células homotípicas. La proteína de adaptación TNFR2 interactúa con este receptor y sirve como un mediador de la transducción de señales. La interacción de este receptor y su ligando es necesaria para la activación microglial inducida por amiloide-beta, y por lo tanto se piensa que es un evento temprano en la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer. Las mutaciones que afectan a este gen son la causa de la inmunodeficiencia autosómica recesiva hiper-IgM tipo 3 (HIGM3). Se han reportado múltiples variantes de la transcripción empalmados alternativamente de este gen que codifica isoformas distintas.

## Caso 6: GMLK

*Femenino de 12 años 9 meses de edad con diagnóstico clínico de Síndrome de Kabuki.*

*Estudio citogenético 46, XX [25] (Figura 6).*

*Exploración física: Microcefalia, talla limítrofe en p3, punta nasal plana, columela corta, hipoplasia medio facial, ptosis palpebrales bilateral, arcos superciliares marcados, hipertriosis frontal, pabellones auriculares grandes, retrognatia, cúbito valgo, persistencia de almohadillas en pulpejos de manos.*

Otros datos: presencia de PCA. Malabsorción intestinal. Retraso global del desarrollo. Telarca 10 años. Radiografía de columna normal. Ultrasonido renal Normal.

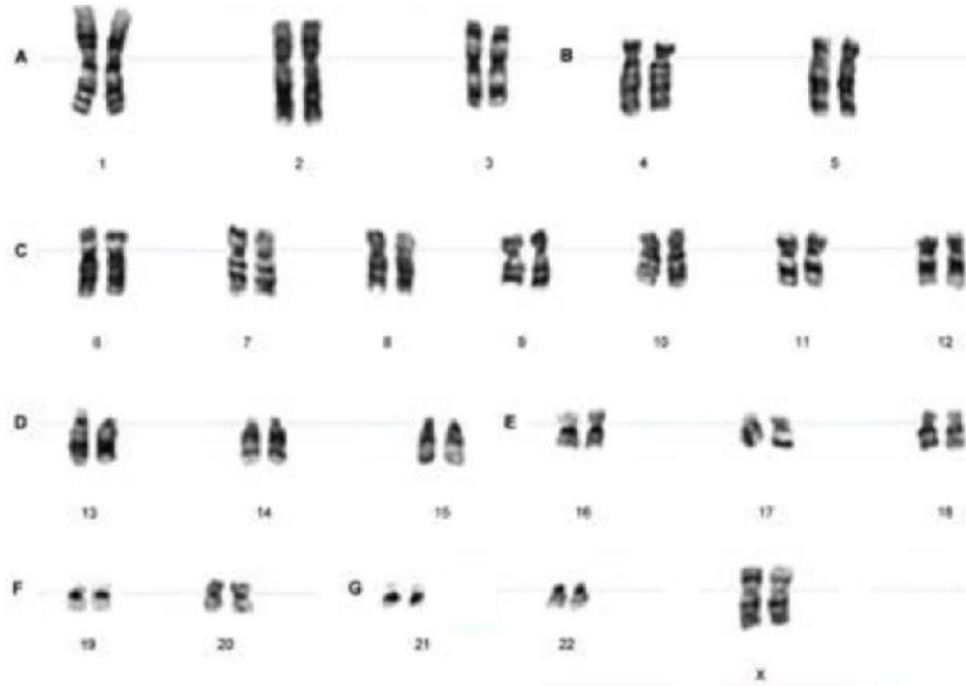


Figura 6. Cariotipo 46, XX correspondiente al paciente GMLK.

**Tabla 3. PACIENTES PARTICIPANTES EN EL ESTUDIO**

PACIENTE	GÉNERO	EDAD	CARIOTIPO	CGH
CZA	FEM	12a 10m	46,XX	ish cgh
BGG	FEM	10a 1m	46,XX	ish cgh
JRJA	MASC	5a 7m	46,XY	ish cgh dim(12)(q21qter)
VRA	FEM	8a 7m	46,XX	ish cgh
LGAI	FEM	9a	46,XX	ish cgh dim(20)(q12)
GMLK	FEM	12a 9m	46,XX	ish cgh

Se estudiaron 6 pacientes (Gráfico 1) con diagnóstico clínico de síndrome de Kabuki, de los cuales corresponden 5 mujeres (83.33%) y un hombre (16.66%), con edades de entre los 5 y 12 años, con una media de 9.3 años y una moda de 12 años (Tabla 3).

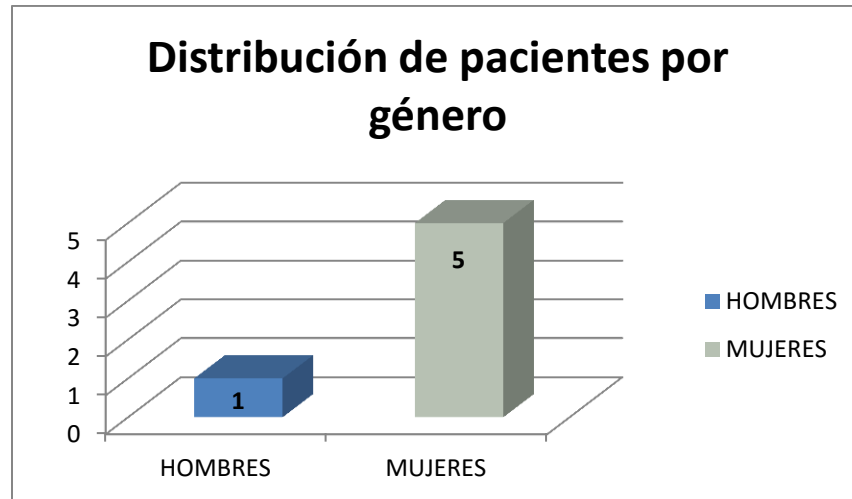


Gráfico 1. Distribución de los pacientes del estudio por género.

En todos los pacientes se realizó una exploración física dirigida en la que se evidenció que las características más frecuentemente compartidas (mostradas en el gráfico 2) fueron la ptosis palpebral, alteración de los pabellones auriculares y en los arcos supraciliares, tales características (Grupo A) se presentaron en todos los pacientes de este estudio (100%). En segundo lugar la presencia de microcefalia, cardiopatía, alteraciones en el puente nasal y las almohadillas en los pulpejos (Grupo B) se corroboró en 5 de los 6 pacientes (83.33%). En tercer lugar, la presencia de columela corta, alteraciones palatinas, alteraciones vertebrales y alteraciones neurológicas como retraso psicomotor o diagnóstico de epilepsia (Grupo C), se presentaron en 4 de los 6 pacientes estudiados (66.66%). Por otra parte, la talla baja, la hipoplasia medio facial, las fisuras palpebrales pequeñas, alteraciones en la anatomía del cuello y la hiperlaxitud articular (Grupo D) estuvieron en la mitad de los casos (50%). Finalmente, sólo la minoría presentó nefropatía, hipotiroidismo, manchas café con leche y malabsorción (Grupo E) reportados en 2 de los pacientes con síndrome de Kabuki (33.33%) y sólo en uno



de ellos se documentó ano imperforado, clinodactilia, retrognatia, eversión del párpado inferior y antecedente de infecciones de vías respiratorias superiores de repetición (Grupo F), correspondiente al 16.66% de los pacientes. Al tener sólo un paciente de género masculino y presentar antecedentes de criptorquidia se considera que el 100% presentó esta alteración.

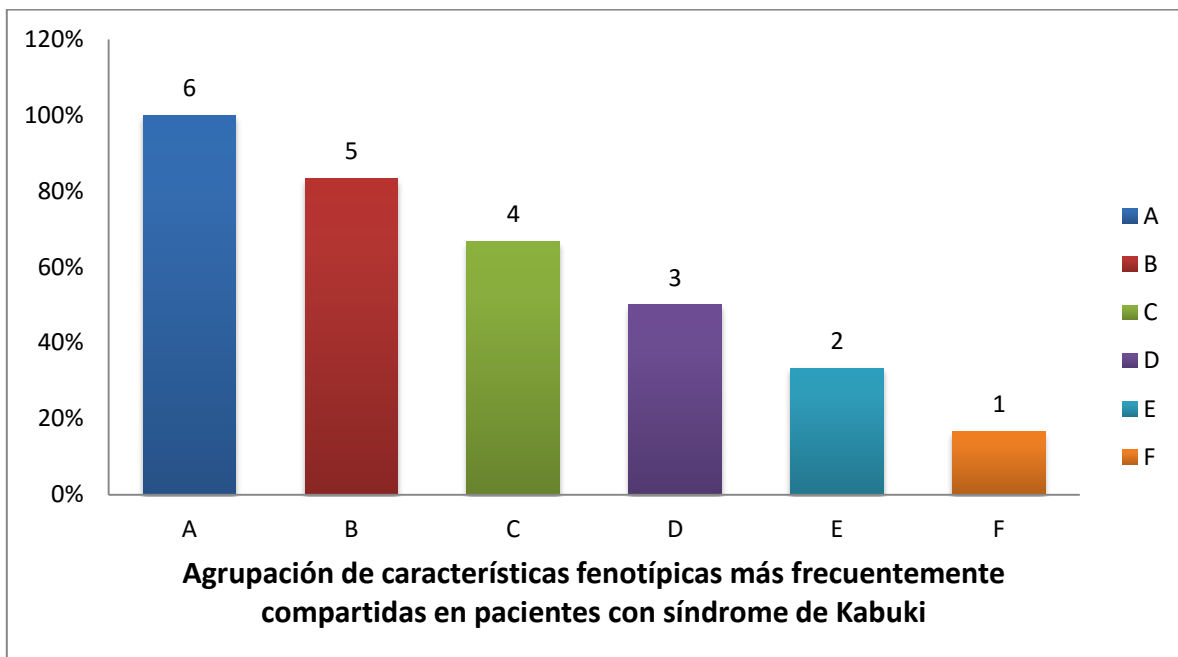


Gráfico 2. Características fenotípicas de los pacientes con síndrome de Kabuki

En ningún paciente se reportaron escleróticas azules, alteraciones dentales, nódulos labiales o luxación de cadera, las cuales son características descritas como parte del espectro clínico del síndrome de Kabuki.

A todos los pacientes se les realizó cariotipo (Gráfico 3), resultando en 83.33% con reporte de 46, XX y el 16.66% con 46, XY. Además se realizó estudio citogenético de CGH encontrándose alterado en dos de éstos (33.33%), uno correspondiente al sexo masculino y otro al femenino (Gráfico 4).



Gráfico 3. Resultados de cariotipo en los pacientes con síndrome de Kabuki

En el primero encontrando disminución en la intensidad de la señal desde 12q21-qter. Los genes implicados en dicho locus para la variación fenotípica fueron: MYP3, ATXN7L3B, PAWR, RAB21, ALX1 y el KERA. En el segundo caso, respectivamente, se encontró disminución en la intensidad de la señal de 20q12. Los genes implicados en dicho locus para la variación fenotípica fueron: SLPI, HDAC2, ZHX3, CD40.

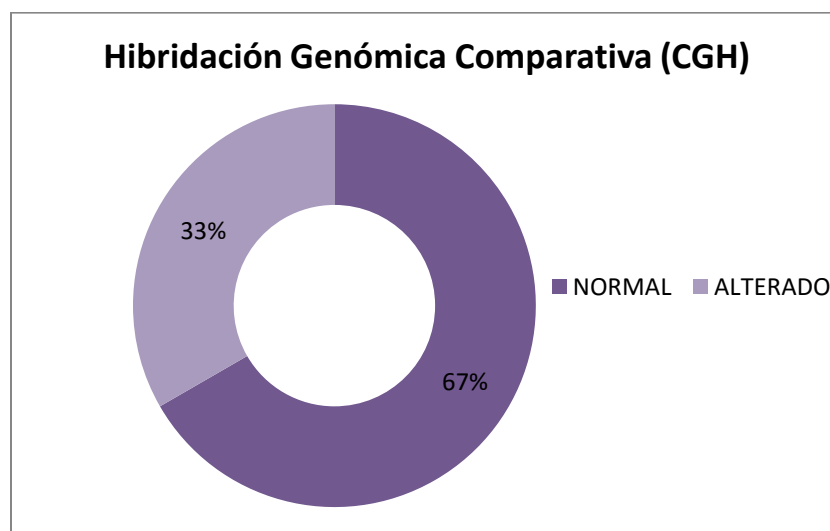


Gráfico 4. Resultados del CGH en pacientes con síndrome de Kabuki

## DISCUSIÓN

Nuestro estudio tuvo por objeto determinar la relación que hay entre las características fenotípicas encontradas en los pacientes con síndrome de Kabuki y las alteraciones cromosómicas encontradas mediante los estudios citogenéticos realizados.

Si bien en la literatura se habla de características clínicas múltiples que van desde alteraciones faciales diversas, hasta hallazgos anormales en extremidades, malformaciones cardiacas y renales, en nuestro estudio se encontró igualmente gran variabilidad de características fenotípicas entre cada uno de los pacientes e incluso dentro de un mismo paciente.

Las características que se repitieron con mayor frecuencia entre los pacientes fueron las alteraciones faciales, posteriormente la presencia de cardiopatía, microcefalia y alteraciones en las extremidades como la presencia de almohadillas fetales en los pulpejos, concordante a lo discutido en nuestro marco teórico.

Como ya se mencionó, la prevalencia del síndrome de Kabuki es baja, siendo estimada en 1 de cada 32,000 nacimientos en la población japonesa y de 1 en 86,000 en Nueva Zelanda y Australia.<sup>4, 5</sup> Aquí en nuestro país, México, se desconoce esta cifra pero se tiene el conocimiento a nivel global de al menos 400 casos reportados.<sup>3, 6, 7.</sup>

Debido a esto, nuestra población de estudio estuvo limitada a sólo 6 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión, de los cuales sólo en 2 se logró detectar alteración en la prueba de CGH, sin embargo, estas alteraciones no fueron correspondientes a las mutaciones que se describen en la literatura (mutación en

---

KMT2D, localizado en el locus 12p13.12; y mutación en KDM6A, localizado en el locus Xp11.3). En nuestro estudio los *loci* implicados fueron 12q21-qter y 20q12.

En cuanto a nuestro objetivo principal del estudio, por el momento no es posible establecer una relación directa entre genotipo-fenotipo, ya que aunque sí se repiten algunas características clínicas en la mayoría de los pacientes, es necesario un mayor número de muestra para transpolar los resultados a la población de estudio.

## CONCLUSIONES

El síndrome de Kabuki es una enfermedad genética rara, con afectación multisistémica que amerita diagnóstico precoz, que generalmente es clínico, para tratar las comorbilidades con las que cursa en pro de mejorar pronóstico y expectativa de vida.

La finalidad de nuestro estudio además de corroborar el diagnóstico clínico con estudios citogenéticos, fue establecer la relación de cierto fenotipo con determinadas alteraciones cromosómicas. Sin embargo, debido al pequeño número de pacientes del presente estudio de investigación por la escasez de casos reportados, fue difícil establecer esta relación.

A pesar de que en algunos se encontraron rearrreglos cromosómicos en ciertos *loci*, no hubo repetición de la misma alteración en otros casos. Lo cual nos lleva a concluir que la muestra fue inadecuada, a pesar de incluir a todos los pacientes con el diagnóstico de Síndrome de Kabuki.

La variabilidad clínica del síndrome es muy amplia y aunado al desconocimiento del tema entre la comunidad médica, se considera que, además, esta enfermedad se encuentra subdiagnosticada.

Se sugiere ampliar el número de muestra para conocer otras variantes genéticas y poder establecer una correlación genotipo-fenotipo, por lo que consideramos que el presente trabajo de investigación es un parteaguas que dará pie para continuar ampliando el conocimiento sobre este síndrome en nuestro país, del que se sabe poco y que muy pocos han escuchado.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Niikawa N., Matsuura N., Fukushima Y., et al. Kabuki make-up syndrome: a syndrome of mental retardation, unusual facies, large and protruding ears, and postnatal growth deficiency; *J Pediatr*; 1981; 99: 565-569.
2. Kuroki Y., Suzuki Y., Chyo H., et al. A new malformation syndrome of long palpebral fissures, large ears, depressed nasal tip, and skeletal anomalies associated with postnatal dwarfism and mental retardation; *J Pediatr* 1981; 99: 570-573.
3. Adam M. P., Hudgins L., Hannibal M., Kabuki Syndrome; *GeneReviews* © 1993 – 2015; 1-27.
4. Bögershausen N. and Wollnik B. Unmasking Kabuki syndrome; *Clin Genet*; 2013; 83: 201-211.
5. Andersen M. S., Menazzi S., Brun P., et al. Diagnóstico clínico en el síndrome de Kabuki: fenotipo y anomalías asociadas en dos casos nuevos; *Arch Argent Pediatr*; 2014; 112(1): e13-e17.
6. Sattur A., Deshmukh P. K., Abraham L., et al. Kabuki Make-up Syndrome - A Case Report with Electromyographic study; *Journal of Clinical and Diagnostic Research*; 2014; Vol-8 (11); ZD03-ZD06.
7. Bokinni Y. Kabuki syndrome revisited; *Journal of Human Genetics*; 2012; 57; 223-227.
8. Dentici M. L., Di Pede A., Lepri F. R., et al. Kabuki syndrome: clinical and molecular diagnosis in the first year of life; *Arch Dis Child*; 2014; 0: 1-7.
9. Arnaud M., Barat-Houari M., Gatinois V., et al. Le syndrome Kabuki: mise au point et revue de la littérature; *Archives de Pédiatrie*; 2015; xxx: 1-8.
10. Micale L., Augello B., Maffeo C., et al. Molecular Analysis, Pathogenic Mechanisms, and Readthrough Therapy on a Large Cohort of Kabuki Syndrome Patients; *Human Mutation*; 2014; Vol. 35, No. 7; 841-850.
11. Miyake N., Mizuno S., Okamoto N., et al. *KDM6A* Point Mutations Cause Kabuki Syndrome; *Human Mutation*; 2013; Vol. 34, No. 1; 108-110.
12. Hoffman J. D., Zhang Y., Greshock J., et al. Array based CGH and FISH fail to confirm duplication of 8p22-p23.1 in association with Kabuki syndrome; *J Med Genet*; 2005; 42; 49-53.
13. Schoumans J., Nordgren A., Ruivenkamp C., et al. Genome-wide screening using array-CGH does not reveal microdeletions/microduplications in children with Kabuki syndrome; *European Journal of Human Genetics*; 2005; 13; 260–263.
14. Cuscó I., del Campo M., Vilardell M., et al. Array-CGH in patients with Kabuki-like phenotype: Identification of two patients with complex

- rearrangements including 2q37 deletions and no other recurrent aberration; BMC Medical Genetics; 2008; 9; 27.
15. Lapierre J. M. and Tachdjian G. Comparative Genomic Hybridization; ENCYCLOPEDIA OF LIFE SCIENCES © 2002, John Wiley & Sons, Ltd. www.els.net
  16. Pinkel D. and Albertson D. Comparative Genomic Hybridization in the Study of Human Disease; ENCYCLOPEDIA OF LIFE SCIENCES © 2002, John Wiley & Sons, Ltd. www.els.net
  17. Barrett M. T., Scheffer A., Ben-Dor A., et al. Comparative genomic hybridization using oligonucleotide microarrays and total genomic DNA. Proceedings of the National Academy of Sciences; 2004; vol. 101; No. 51; 17765-17770.
  18. Aviña-Fierro J. A. and Pérez-Ornelas N. B. Síndrome de Kabuki. Informe de un caso; Acta Pediatr Mex; 2006;27(6); 349-351.
  19. Trigueros-Becerra B. I. and Páez-Graza J. H. Síndrome de Kabuki, informe de un caso en México; Revista Mexicana de Oftalmología; 2010; 84 (3); 176-180.
  20. Valdez Geraldo C. M., García Arias S., Valdez Geraldo B. M., et al. Síndrome de Kabuki o maquillaje del teatro japonés. Análisis de un caso; Revista Salud Quintana Roo; 2013; 6; No. 23; 21 – 24.
  21. Liu S., Hong X., Shen C., et al. Kabuki syndrome: a Chinese case series and systematic review of the spectrum of mutations; BMC Medical Genetics; 2015, 16:26; 1-10.
  22. Morgan A. T., Mei C., Costa A. D., et al. Speech and language in a genotyped cohort of individuals with Kabuki syndrome; Am J Med Genet Part A; 2015; 9999:1-10.
  23. Kuczmarski R. J., Ogden C. L., Guo S. S., et al. 2000 CDC growth charts for the United States: Methods and development; National Center for Health Statistics. Vital Health Stat; 2002; 11(246).

## **ANEXOS**





**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN  
Y POLITICAS DE SALUD  
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD**

**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

PARA PADRES O TUTORES DE NIÑOS PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN

Nombre del estudio:	<b>“Relación de las características fenotípicas con los rearrreglos cromosómicos encontrados mediante CGH en pacientes pediátricos mexicanos con síndrome de Kabuki en CMN La Raza IMSS”</b>
Nombre del paciente:	Silvestre Sánchez Herrejón (Ficticio)
Lugar y fecha:	México, DF a 05 de enero de 2016
Número de registro:	9095 78 1863 3M2001OR
Justificación y objetivo del estudio:	Identificar mutaciones específicas en el genoma para protocolo de investigación.
Procedimientos:	Toma de muestra venosa periférica
Posibles riesgos y molestias:	Dolor, eritema y/o hematoma local
Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio:	Diagnóstico y pronóstico genético
Participación o retiro:	Participación
Privacidad y confidencialidad:	Respetadas mediante el código de ética del protocolo de investigación.

En caso de colección de material biológico (si aplica):

<input type="checkbox"/>
<input checked="" type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>

No autoriza que se tome la muestra.

Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio.

Si autorizo que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros.

Beneficios al término del estudio: \_\_\_\_\_

En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio podrá dirigirse a:

Investigador Responsable:

Dr. Carlos Yam Ontiveros

Colaboradores:

Dr. Kenneth Gustav Abimelec Magaña

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4° piso Bloque “B” de la Unidad de Congresos, Colonia Doctores. México, D.F., CP 06720. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico: [comision.etica@imss.gob.mx](mailto:comision.etica@imss.gob.mx)

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma de ambos padres o tutores o representante legal

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento

Testigo 1

Testigo 2

\_\_\_\_\_  
Nombre, dirección, relación y firma

\_\_\_\_\_  
Nombre, dirección, relación y firma

Este formato constituye una guía que deberá completarse de acuerdo con las características propias de cada protocolo de investigación, sin omitir información relevante del estudio

**Clave: 2810-009-013**



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN  
Y POLITICAS DE SALUD  
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD**

**CARTA DE ASENTIMIENTO**

CARTA DE ASENTIMIENTO DEL NIÑO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN

Nombre del estudio: **“Relación de las características fenotípicas con los rearrreglos cromosómicos encontrados mediante CGH en pacientes pediátricos mexicanos con síndrome de Kabuki en CMN La Raza IMSS”**

Nombre del paciente: \_\_\_\_\_

Lugar y fecha: \_\_\_\_\_

Número de registro: \_\_\_\_\_

Justificación y objetivo del estudio: \_\_\_\_\_

Procedimientos: \_\_\_\_\_

Posibles riesgos y molestias: \_\_\_\_\_

Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio: \_\_\_\_\_

Participación o retiro: \_\_\_\_\_

Privacidad y confidencialidad: \_\_\_\_\_

En caso de colección de material biológico (si aplica):

<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>

No autoriza que se tome la muestra.

Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio.

Si autorizo que se tome la muestra para este estudios y estudios futuros.

Beneficios al término del estudio: \_\_\_\_\_

En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio podrá dirigirse a:

Investigador Responsable: \_\_\_\_\_

Colaboradores: \_\_\_\_\_

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4° piso Bloque “B” de la Unidad de Congresos, Colonia Doctores. México, D.F., CP 06720. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico: [comision.etica@imss.gob.mx](mailto:comision.etica@imss.gob.mx)

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma de ambos padres o tutores o representante legal

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento

Testigo 1

Testigo 2

\_\_\_\_\_  
Nombre, dirección, relación y firma

\_\_\_\_\_  
Nombre, dirección, relación y firma

Este formato constituye una guía que deberá completarse de acuerdo con las características propias de cada protocolo de investigación, sin omitir información relevante del estudio.

**Clave: 2810-009-013**