



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

HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

ANÁLISIS CLÍNICO Y CITOGENÉTICO EN PACIENTES CON ANOMALÍAS DE
LOS CROMOSOMAS 6 Y 13: EXPERIENCIA DE 2009 A 2018 EN EL HOSPITAL
INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ.

PRESENTACIÓN DE UN CASO CLÍNICO

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN:

GENÉTICA MÉDICA

P R E S E N T A

DRA. LINDA GETZEMANI MEDINA VALDEZ

TUTOR: DR. RODRIGO MORENO SALGADO



CIUDAD DE MÉXICO, FEBRERO DE 2020



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

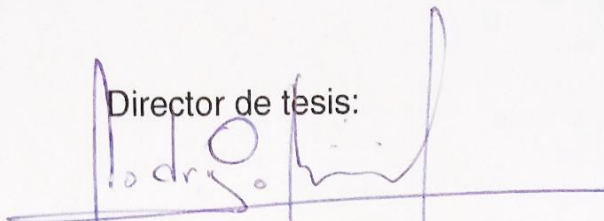
DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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.

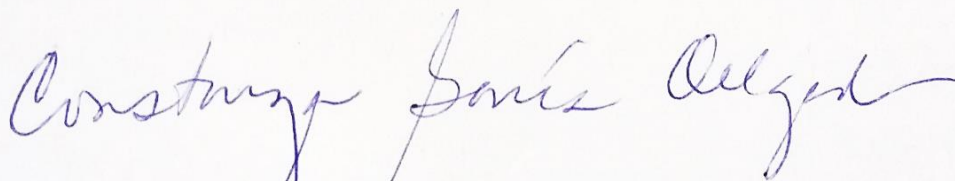
Dr. Sarbelio Moreno Espinosa
Director de Enseñanza y Desarrollo Académico
Hospital infantil de México Federico Gómez

Director de tesis:



Dr. Rodrigo Moreno Salgado
Jefe del Departamento de Genética
Hospital infantil de México Federico Gómez

Asesoras de TESIS:



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



Dra. América Villaseñor Domínguez
Profesor adjunto de la Especialidad de Genética Médica
Hospital infantil de México Federico Gómez

Agradecimientos

Quisiera agradecer en primer lugar a todos aquellos que estuvieron presentes detrás de este proyecto de tesis.

Muy especialmente agradezco a mis padres, han sido los mejores padres que pude tener. Mamá, gracias por enseñarme a ser valiente, amable, fuerte y por apoyarme todos los días de mi vida. Papá, eres mi gran ejemplo a seguir, gracias por ser mi maestro desde niña, siempre he admirado tu trabajo y tu congruencia en la vida. A ambos, los amo inmensamente.

Gracias a mis hermanos, Miguel y Nalle, porque han sido mi inspiración desde niña, los mejores ejemplos a seguir y los mejores hermanos. Gracias por todo el apoyo, consejos e inspiración.

Gracias a mis 4 abuelitos, mis tres estrellas en el cielo. Gracias por iluminar mi camino, por los consejos, por sus palabras, por enseñarme el valor de la vida y como ser una gran mujer. Son el mejor regalo que pudieron darme mis padres.

Gracias a todos mis amigos, en especial a Ame, Sandy, Marisol, Jessy y Roberto por el apoyo y consejos durante estos 3 años. Gracias a mis amigos de la residencia, por todos los consejos, apoyo y enseñanzas.

Muy especialmente, gracias al Hospital y a todos los niños del Infantil de México, por todo el aprendizaje, por abrirme las puertas y hacerme sentir en casa durante 3 años.

Gracias especiales e infinitas al Dr. Rodrigo Moreno, Dra. América Villaseñor, Dra. Constanza García Delgado, Dr. Francisco Flores, Dra. Verónica Morán, Dra. Dora Gilda Mayén y a la maestra en ciencias Alicia Cervantes por ser pilares fundamentales durante mi formación como médico genetista.

Gracias a todos los integrantes del departamento de genética.

INDICE

Resumen

1	Marco teórico.....	8
1.1.	Antecedentes.....	8
1.2.	Estructura de los cromosomas humanos.....	9
1.3.	Clasificación de los cromosomas humanos.....	19
1.4.	Ciclo celular.....	21
1.4.1.	Mitosis.....	24
1.4.2.	Meiosis.....	27
1.5.	Alteraciones numéricas y estructurales de los cromosomas humanos.....	30
1.6.	Técnica de análisis citogenético simple.....	32
1.7.	Técnicas de análisis citogenético con bases moleculares.....	34
1.8.	Abordaje del paciente con cromosomopatía.....	35
1.8.1.	Indicaciones de cariotipo.....	35
1.9.	Síndrome del anillo cromosómico.....	36
1.10	Características del cromosoma 13.....	36
1.10.1	Trisomía 13.....	37
1.10.2	Anillo del cromosoma 13.....	37
1.11.	Características del cromosoma 6.....	38
1.11.1.	Síndrome de delección 6p.....	38
2	Planteamiento del problema.....	39
3	Justificación.....	40
4	Objetivos.....	41
4.1	Objetivo principal.....	41
4.2	Objetivos particulares.....	41
5	Hipótesis.....	42
6	Material y métodos.....	42
6.1	Tipo de estudio.....	42
6.2	Metodología del análisis estadístico.....	42
6.3	Metodología del análisis clínico y citogenético.....	43
6.4	Criterios de selección.....	44

7	Resultado y discusión del análisis estadístico.....	45
8	Presentación de caso clínico.....	46
9	Discusión de caso clínico.....	56
10	Conclusiones.....	60

Bibliografía

Anexos

Resumen

Las alteraciones numéricas y estructurales de los cromosomas pueden ocasionar alteraciones del desarrollo entre ellas talla baja, retraso del desarrollo psicomotor, dismorfias menores y discapacidad intelectual, por lo que los pacientes con estas características clínicas requieren evaluación por medio de análisis citogenético para descartar aberraciones cromosómicas. Entre los cromosomas de interés por el efecto que sus alteraciones tienen en el fenotipo se encuentran el cromosoma 6 y el cromosoma 13, este último presenta gran variedad fenotípica que va desde retinoblastoma hasta fenotipos complejos que incluyen malformaciones múltiples como el síndrome de Patau; por otra parte en el cromosoma 6 se ha descrito el síndrome de deleción del brazo corto del cromosoma 6 que ha sido poco descrito en la literatura. En esta tesis se describe un caso de una paciente con síndrome de deleción 6p y anillo del cromosoma 13. **Objetivo principal:** Analizar las características clínicas y citogenéticas de una muestra de pacientes con anomalías numéricas y estructurales del cromosoma 6 y/o del cromosoma 13 diagnosticados en el periodo de enero de 2009 a diciembre de 2018 y analizar clínica y citogenéticamente a una paciente con deleción 6p y anillo del cromosoma 13. **Justificación:** Este trabajo nos permitirá conocer el tipo y la frecuencia de las alteraciones del cromosoma 6 y 13 para determinar las alteraciones clínicas más frecuentes y características asociadas a estos cromosomas. Además, aportaremos conocimiento nuevo sobre el síndrome de deleción 6p y anillo del cromosoma 13. **Material y métodos:** Este trabajo se dividió en dos partes la primera fue el análisis de la frecuencia y el tipo de alteraciones de los cromosomas 6 y 13 identificadas en el departamento de genética del Hospital Infantil de México Federico Gómez de 2009 a 2018. La segunda parte corresponde al estudio clínico y citogenético de una paciente que presenta un síndrome de deleción 6p y anillo del cromosoma 13. **Resultados:** El número total de estudios citogenéticos con reporte de resultado fue de 6,406. Se identificaron 7 casos correspondientes a alteraciones en el cromosoma 6 y 75 casos corresponden a alteraciones en el cromosoma 13. El 14% de las alteraciones en el cromosoma 6 corresponde a alteraciones numéricas y el 86% a alteraciones estructurales. De los 75 casos que corresponden a alteraciones en el

cromosoma 13, el 54.6% presentan alteraciones numéricas y 45.4% presentan alteraciones estructurales. Se identificaron 8 pacientes con trisomía 13 que corresponde al 10.6% de los pacientes con alteración en el cromosoma 13 y corresponde al 0.12 % del total de muestras con resultado. Se revisaron los expedientes clínicos de los pacientes identificados de acuerdo a los criterios de selección y se identificó una paciente con síndrome de deleción 6p y anillo del cromosoma 13 con resultado de cariotipo en sangre periférica con bandas GTG: 46,XX,der(6)t(6;13)(p23;q14)r(13)(p12q14)[25]. Se complementó estudio con FISH con resultado: 46,XX,der(6) t(6;13)(p23;q14)r(13)(p12q14) .ish der(6)t(6;13)(6PTEL48-,D13S327+,6QTEL54+)r(13)(13q14+,D13S327). Se tomó muestra de sangre periférica para cariotipo a la madre con resultado normal. Con los estudios realizados se determinó los puntos de ruptura, la cantidad de material perdido y se estableció la relación fenotipo-genotipo, comparando los hallazgos con los descritos en la literatura. **Discusión:** La paciente presenta una monosomía 6p23-pter derivada de un rearrreglo complejo por una translocación (6;13) no recíproca, con formación de un anillo en el derivado del cromosoma 13. No fue posible establecer si el rearrreglo ocurrió *de novo* debido a que el padre está fuera del núcleo familiar. Las deleciones terminales de la región 6p23-pter son poco frecuentes, las manifestaciones clínicas asociadas son discapacidad intelectual (DI), hipoplasia medio facial, hipertelorismo, defecto en el desarrollo de la cámara ocular anterior, hipoacusia y cardiopatía, mismas que presentó nuestra paciente. Si bien la paciente se presenta un anillo del cromosoma 13, no hay pérdida de material cromosómico y tampoco se observó inestabilidad del anillo, por lo que su presencia no modifica el fenotipo. Se citó a la consulta externa a la paciente y familiares para explicar el procedimiento del estudio del caso clínico, resultados de estudios y se brindó asesoramiento genético. **Conclusión:** Nuestra paciente presenta un síndrome por monosomía 6p23-pter derivado de un rearrreglo cromosómico complejo que incluyó la formación de un anillo. El fenotipo de la paciente es similar a los casos reportados de monosomía 6p23-pter.

1. Marco Teórico

1.1 Antecedentes

“Antes pensábamos que nuestro futuro estaba en las estrellas. Ahora sabemos que está en nuestros genes” (J. H. Watson y F. Crick, 1953).

Desde la antigüedad el cultivo de plantas, la domesticación de animales y la manipulación de parejas de ganado para mejorar la descendencia aportaron evidencia de que los humanos se interesaban en el valor de los caracteres heredados (Petermann, H. I., 2017).

El término genética, deriva de la raíz griega *gen*, que significa “llegar a ser”. La genética es la ciencia que estudia la transmisión de la información hereditaria de una generación a otra. Por otra parte, el ser humano está formado por millones de células, las células fueron descritas por primera vez por Robert Hooke en 1665 usando un microscopio de luz, sin embargo fue hasta 1838 que Schleiden y Schwann sugirieron que las células con núcleos eran las unidades fundamentales de la vida y en 1855 Virchow formuló la hipótesis de que se pueden formar nuevas células sólo por la división de las células existentes (Strachan, T.R., 2011). En 1859, Charles Darwin publicó “El origen de las especies”, proponiendo la evolución por selección natural, y en 1865 Gregorio Mendel publicó "*Experimentos en la hibridación de las plantas*" en donde propuso los principios de la herencia y los conceptos de dominante y recesivo para explicar cómo una característica puede ser reprimida en una generación pero aparecer en la siguiente generación (Petermann, H. I., 2017). Fue hasta 1869 que Miescher estudió extractos de ácidos nucleicos y acuñó el término nucleínas. Entre 1879 y 1882, Flemming observó pequeños hilos dentro del núcleo de las células que parecían dividirse, que denominó cromatina debido a la afinidad por teñirse. A fines del siglo XIX son identificados los cromosomas y se reconocen dos tipos de división celular: mitosis y meiosis (Strachan, T.R., 2011).

1.2 Estructura de los cromosomas humanos

La vida depende de la capacidad de las células para almacenar, recuperar y traducir las instrucciones genéticas requeridas para crear y mantener vivo un organismo (Aguda, B.D., 2015). Esta información se transmite de una célula a sus células hijas en la división celular (mitosis) y de generación en generación a través de células reproductivas (meiosis). Nuestra información genética se encuentra guardada en el ácido desoxirribonucleico (DNA) y determinará las características de cada individuo (Strachan, T.R., 2011).

Cada molécula de DNA consiste en dos cadenas de polinucleótidos, cada una de estas cadenas está compuesta de cuatro tipos diferentes de nucleótidos; los nucleótidos están formados por tres componentes químicos: un fosfato (PO₄), un azúcar (desoxirribosa) y una base nitrogenada, que puede ser purina (adenina o guanina) o pirimidina (timina o citosina) (Travers, A., 2015).

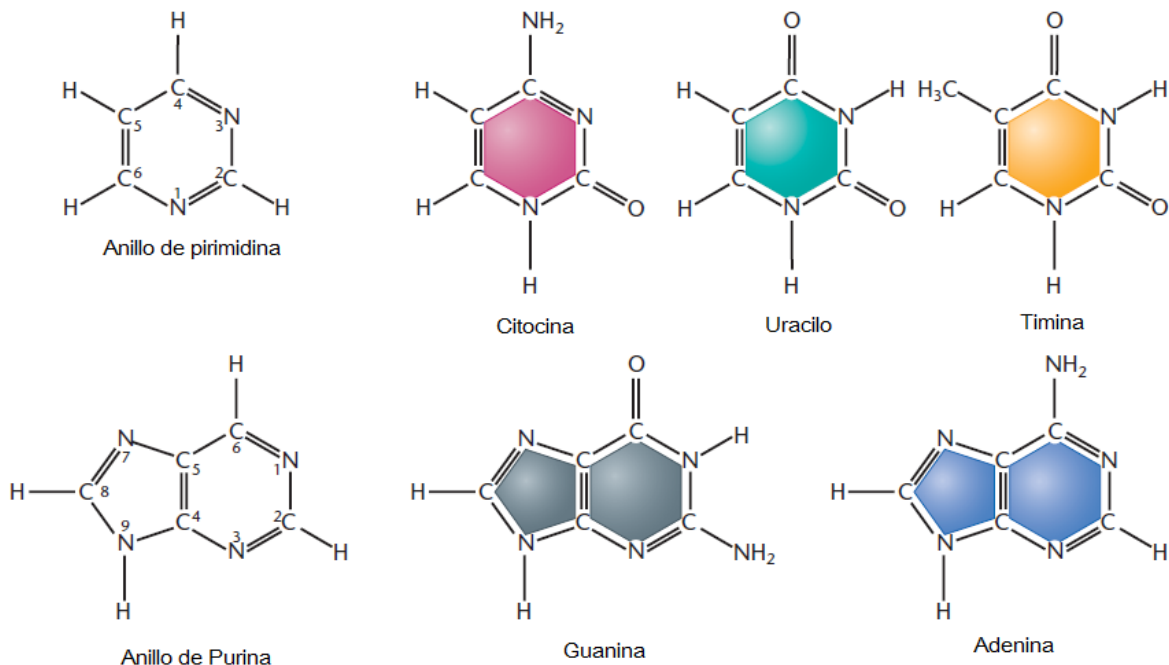


Figura 1. Estructura básica de las bases nitrogenadas. Modificado de: Concepts of genetics. Klung.W.S., 2013.

Las bases nitrogenadas pueden formar puentes de hidrógeno en donde una guanina puede unirse con una citosina por 3 puentes de hidrogeno y una adenina puede unirse a una timina por 2 puentes de hidrogeno, este tipo de apareamiento entre bases nitrogenadas se denomina “Watson y Crick” (Watson, J. D., 2014).

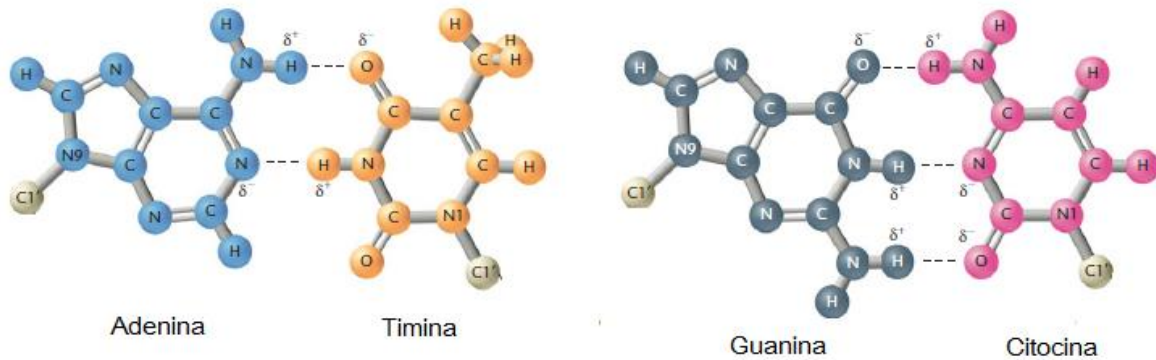


Figura 2. Apareamiento de Watson y Crick. Modificado de: Concepts of genetics. Klung.W.S., 2013.

Las dos cadenas de DNA se mantienen juntas por medio de puentes de hidrógeno que unen a las bases nitrogenadas (y que da estabilidad a la estructura del DNA), a su vez los nucleótidos se mantiene unidos por enlaces fosfodiéster (Klung, W. S., 2013). Cada cadena presenta un extremo 5´y un extremo 3´y estos dos extremos se emplean para describir la dirección en la que se ordenan los nucleótidos; además las dos cadenas se encuentran dispuestas en forma antiparalela y entrelazadas formando un alfa hélice derecha que tiene casi diez pares de bases por vuelta. Ésta disposición genera dos surcos que corren a lo largo de la hélice, se denominan surcos mayor y menor ya que uno de los surcos es más ancho que el otro (Watson, J. D., 2014; Campbell, M. K., 2016).

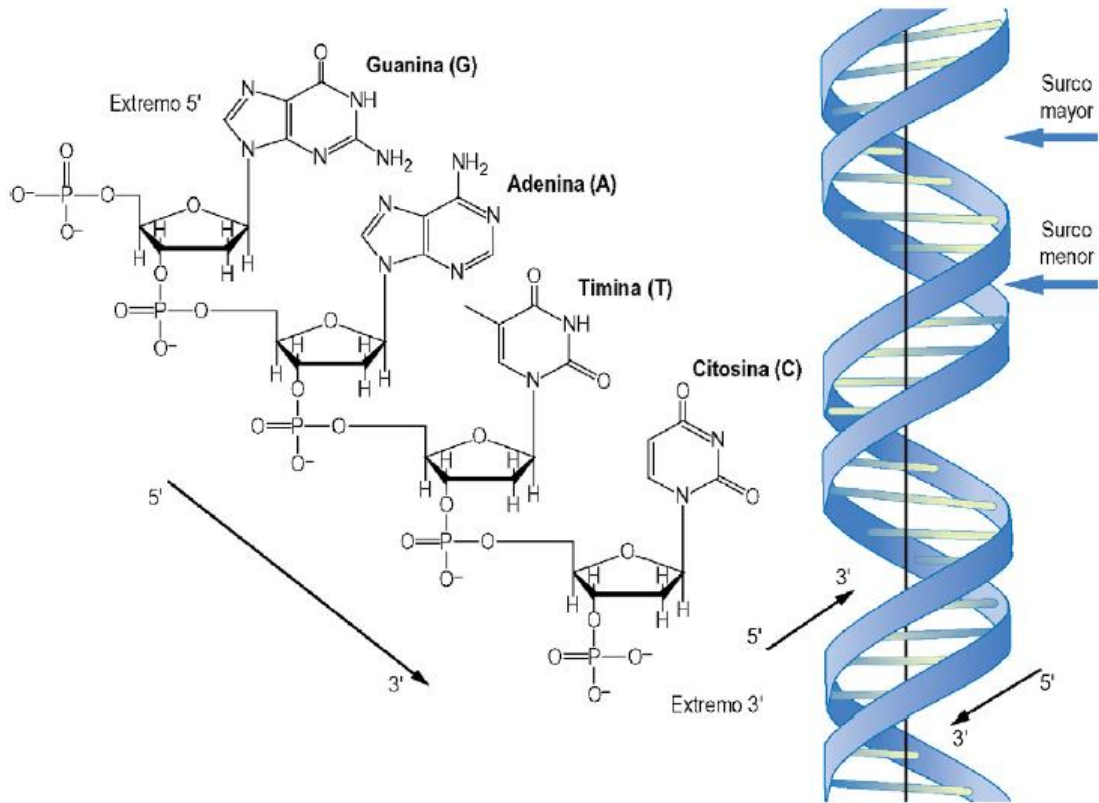


Figura 3. Estructura del DNA. Modificado de: Bioquímica Médica. John W.B., 2011.

El DNA se encuentra asociado a proteínas (histonas) en el núcleo de cada célula, a esto se le conoce como cromatina. La cromatina ayuda a empaquetar el DNA en varios niveles (Chambers, E. V., 2013). El primer nivel de compactación se conoce como nucleosoma, que es la subunidad repetitiva básica estructural y funcional de la cromatina, consta del enrollamiento de 146 nucleótidos de la doble hélice que se enrollan con 1.7 vueltas alrededor de un núcleo proteico de 8 histonas (pares de H2A, H2B, H3 y H4) (Doenecke, D., 2014). Cada nucleosoma tiene una novena histona (H1) que previene que se deslice o gire sobre el DNA. Una cadena con muchos nucleosomas da la apariencia de un collar de perlas que tiene un diámetro de 10 nanómetros, por este motivo a este nivel de compactación se conoce como fibra de 10 nanómetros. 6 nucleosomas en forma helicoidal dan origen a la fibra de 30 nanómetros de diámetro que se denomina solenoide (Lewin, B., 2008). Entre cada nucleosoma hay una cantidad variable de pares de bases que oscila entre 15 y 55. Una cadena de nucleosomas semeja un “collar de perlas” con un diámetro de

10 nanómetros, esta conformación de cromatina se denomina “fibra de 10nm”. Se requieren 6 nucleosomas que se ordenan en forma helicoidal que se ordenan en forma helicoidal para dar origen a una fibra de 30 nanómetros (Lewin, B., 2008). Las fibras de 30 nanómetros forman asas, que se forman por la interacción de proteínas no histonas las cuales a su vez forman una matriz proteica que va a delimitar regiones de cromatina transcripcionalmente activa e inactiva. La matriz proteica contiene varias proteínas como topoisomerasas, cohesinas y condensinas. Las asas de la fibra de 30 nm forma a su vez un filamento de 840 nm de diámetro constituido por rosetas constituidas por 18 asas, estos filamentos se pueden distinguir al microscopio electrónico y se conocen como cromosomas (Lupski, J.R., 2006; Lewin,B., 2008).

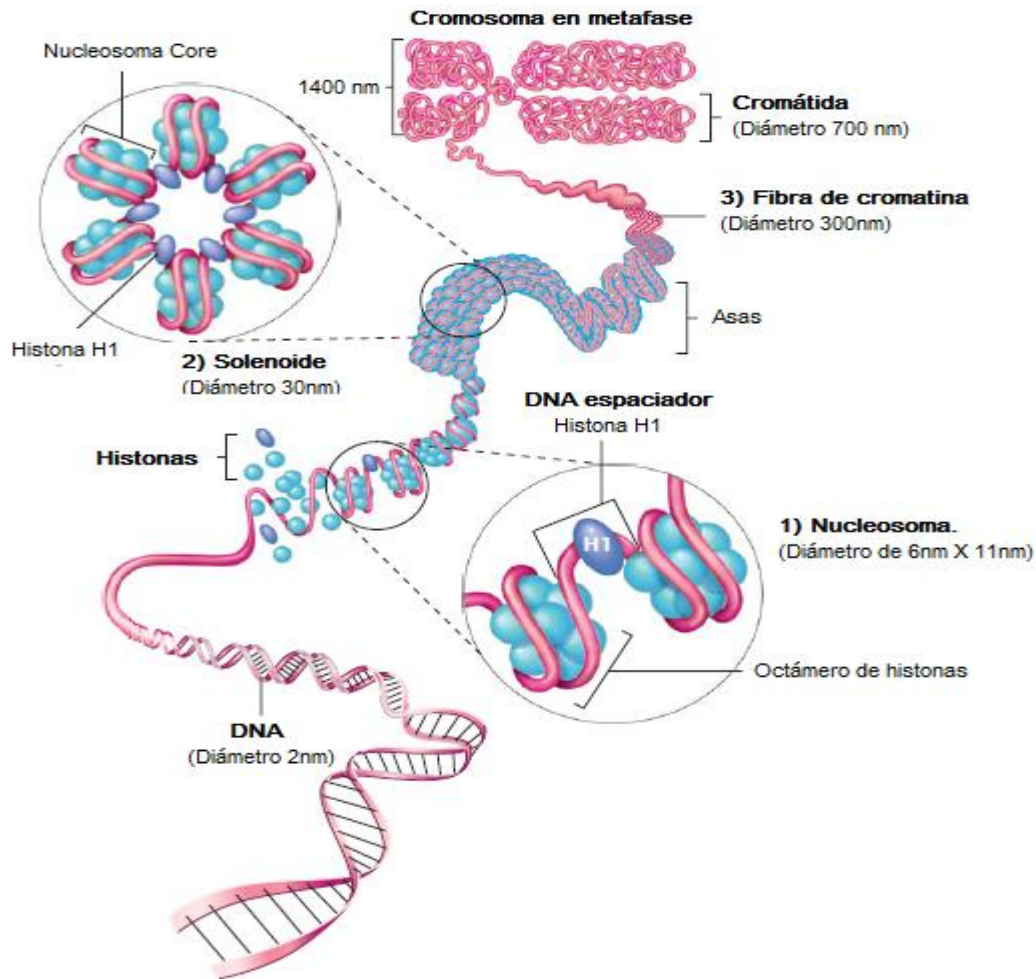


Figura 4. Empaquetamiento de la cromatina. Modificado de: Concepts of genetics.

Modificado de Klung.W.S., 2013.

Para que la información del DNA pueda expresarse o no en este nivel de compactación la cromatina se encuentra en estado relajado o compactada. La heterocromatina (*hetero*: diferente) es una cromatina más condensada con genes transcripcionalmente inactivos, a su vez se divide en constitutiva (siempre se encuentra condensada a pesar y no contiene genes para proteínas) y facultativa (puede comportarse como heterocromatina o eucromatina dependiendo del ciclo celular). La eucromatina (*eu*: verdadero) se encuentra menos condensada, tiene más concentración de genes activos y a menudo se encuentra en transcripción activa (Eissenberg, J. C., 2001).

Los cromosomas son entidades dinámicas cuya apariencia varía con el estado del ciclo celular, se encuentran en el núcleo de las células eucariontes, y se denominan así por su capacidad de teñirse con algunos colorantes (*chromos*: color; *soma*: cuerpo) (Gersen, S. L., 2013). Su forma condensada se observa en fase M del ciclo celular y durante la fase S se encuentran dispersos y no pueden ser distinguidos al microscopio (Aguda, B.D., 2015).

Los gametos (óvulos y espermatozoide) tienen un número haploide (n) de cromosomas que corresponde a 23. Las células somáticas de un individuo tiene un número diploide ($2n$) de cromosomas, en total son 46 cromosomas, éstos encuentran organizados en 23 pares, 22 de ellos son cromosomas autosómicos, el último es el par sexual que determina el género del individuo, cada uno de estos cromosomas proviene de uno de los progenitores (Gersen, S. L., 2013).

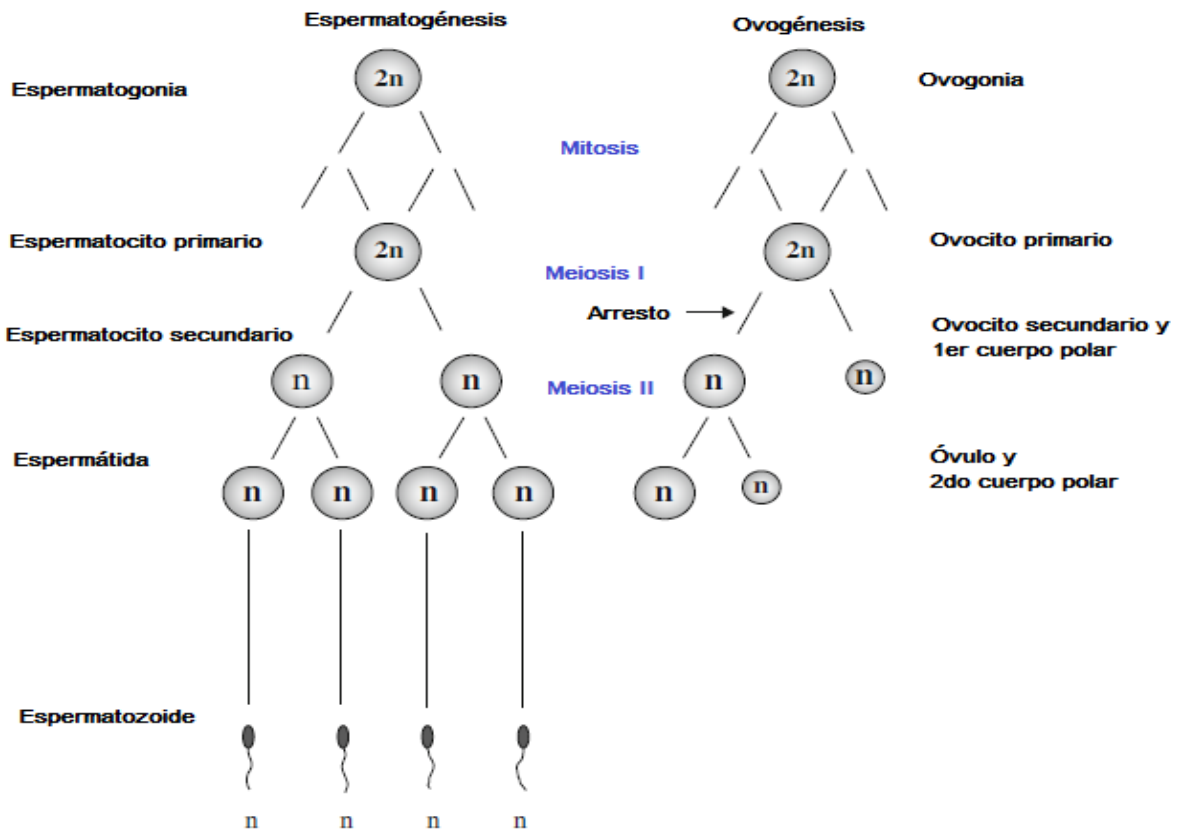


Figura 5. Ovogénesis y espermatogénesis. Modificado de Gersen, S. L., et al.(2013).

Un cromosoma consta de dos brazos o cromátides unidos por un centrómero o constricción primaria, y en los extremos se encuentran los telómeros (Ilustración 6) (Strachan, T.R., 2011).

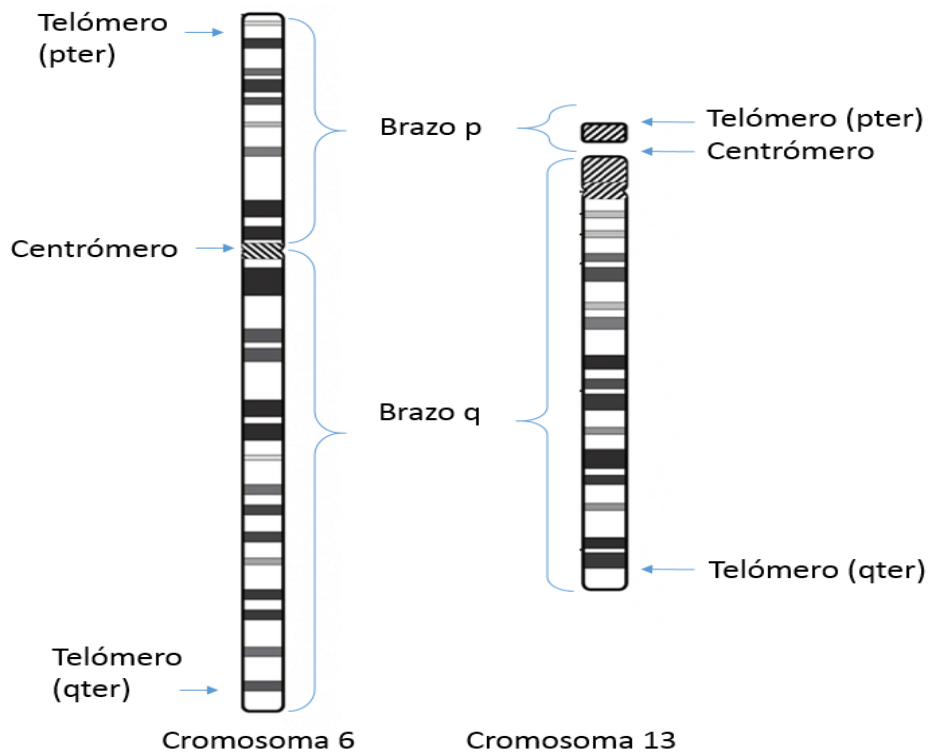


Ilustración 1. Idiograma de los cromosomas 6 y 13.

El centrómero es indispensable para una adecuada segregación durante la división celular, sus funciones son: permitir la interacción entre la cromatina y el citoesqueleto durante la división celular; permitir la unión de las cromátidas hermanas hasta su migración en la anafase; asegurar el movimiento de los cromosomas durante la anafase; y regula el ciclo celular. Las secuencias de los centrómeros, consisten en DNA alfa satélite que son secuencias repetidas en tándem de 171 pb, no codificantes para proteínas y en general no contiene genes transcripcionalmente activos (Gohard, F. Z., 2014).

Durante la mitosis en la profase tardía, en cada centrómero se forma un cinetocoro que controla el ensamblado y desensamblado de los microtúbulos del huso mitótico que por medio de proteínas realiza el transporte del ecuador a los polos opuestos en la célula. El cinetocoro tiene una estructura trilaminar, que consta en: una capa externa en donde se anclan los microtúbulos; una capa media que está formada por heterocromatina constitutiva, cohesinas, entre otras proteínas; y una capa interna (Musacchio, A., & Desai, A., 2017).

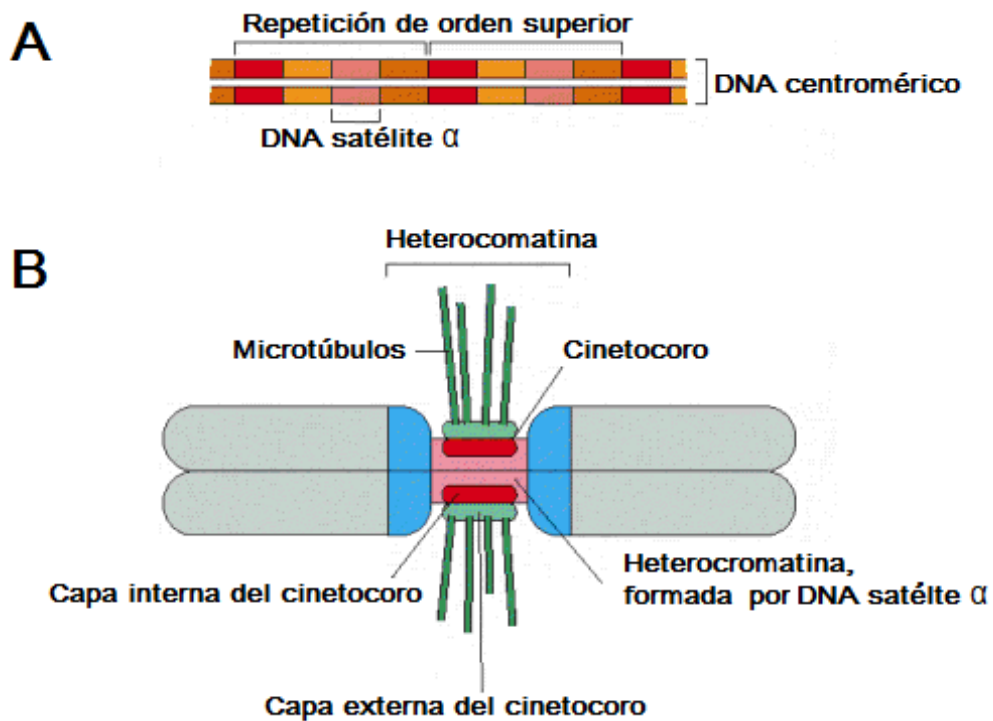


Figura 6. Estructura de un centrómero humano. A) Se muestra la organización de secuencias de DNA satélite alfa. B) Se muestra estructura de un cromosoma completo que muestra partes fundamentales del centrómero. Modificado de: Alberts B, The cell (2002).

La proteína CENP-A o proteína del centrómero A es una variante de la histona H3, que es remplazada por CENP-A en los nucleosomas centroméricos, e interactúa con CENP-C quien a su vez forma la capa interna del cinetocoro; por lo tanto sin CENP-A no hay cinetocoro o un centrómero funcional (Romero, F., 2016). La proteína CENP-B se une a una secuencia específica de 171 pb, se encuentra en el DNA alfa satélite del centrómero, está presente en cromosomas activos como inactivos. CENP-I, CENP-E son proteínas motoras derivadas de dineínas que permiten el movimiento de los cromosomas (Gohard, F. Z., 2014; Lui, S., 2014).

Las proteínas INCENP (inner centromere proteins) junto con borealina, survivina y la enzima aurora participan en la alineación de los cromosomas en la placa ecuatorial y la correcta segregación cromosómica (Perea-Resa, C., & Blower, 2018)

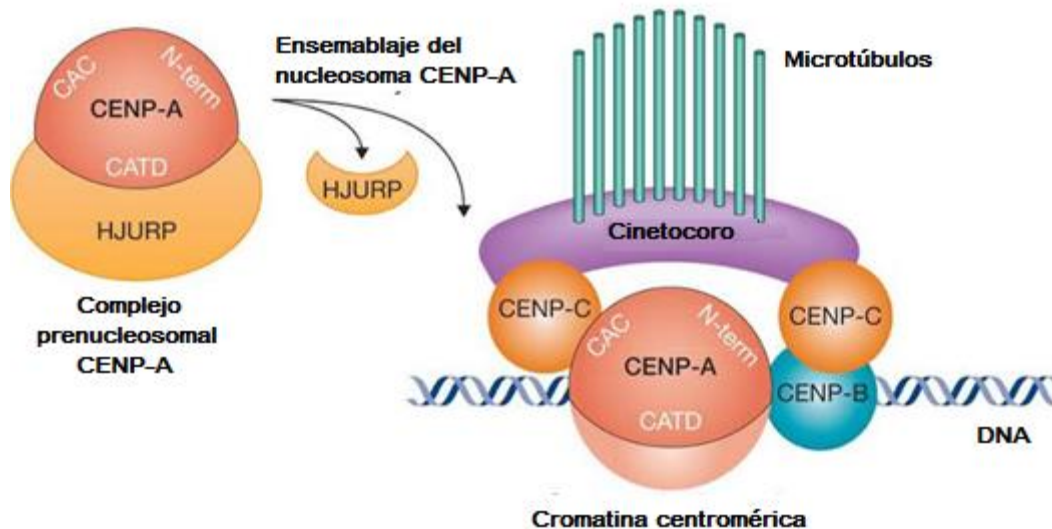


Figura 7. Se observa la interacción de proteínas CENP. Modificado de: Alberts B, The cell (2002).

Los telómeros están constituidos por secuencias conservadas evolutivamente en 5'-TTAGGG-3', contiene de 500 a 3000 repetidos, son secuencias microsatélites. El extremo 3' se alarga formando una estructura de triple hélice para "esconder" y "proteger" el telómero, es protegido también por la proteína POT1, mientras ésta esté presente la telomerasa no podrá actuar (Heidenreich, B., & Kumar, R. 2017). Las funciones del telómero son: proteger el extremo de la molécula del DNA (de nucleasas y recombinasas), mantener el tamaño de las moléculas del DNA, permitir a la célula un número mínimo de divisiones y regular el ciclo celular (Strachan, T.R., 2011). Las secuencias que se encuentran debajo de los telómeros o regiones subtelo méricas son secuencias minisatélites, hipervariables y cromosoma específicos que sirven como amortiguadores si se llegaron a perder los telómeros. Las proteínas TRF1 y TRF2 regulan la actividad de la telomerasa y junto con POT1 se conoce como complejo de Shelterina (Raffa, G. D., 2015).

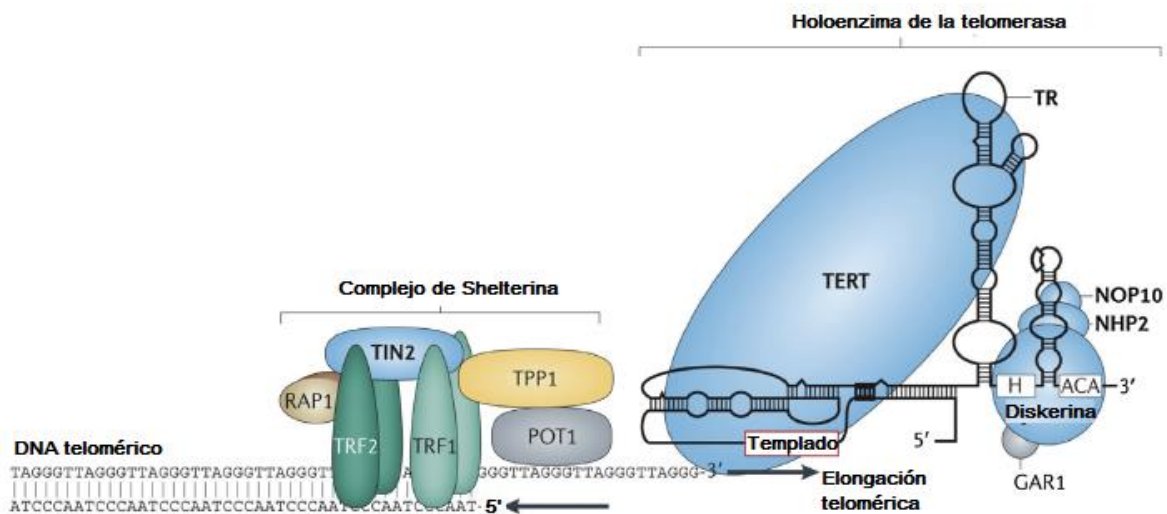


Figura 8. Estructura de un telómero. Se observa el complejo de Shelterina, esencial para la protección de los telómeros y para regular el alargamiento. El complejo enzimático de la telomerasa comprende la transcriptasa inversa (TERT) y el componente de RNA esencial (TERC), éste contiene un motivo que se une a la proteína diskarina. El complejo diskarina además contiene proteínas NHP2, NOP10 y GAR1. Modificado de Heidenreich, B., & Kumar, R. 2017.

1.3 Clasificación de los cromosomas humanos

Antes del desarrollo de las técnicas de bandeo, los cromosomas humanos se clasificaron de acuerdo a la posición del centrómero, se identificó el brazo corto (p) y el brazo largo (q). Acorde a esto se clasifican en metacéntrico, submetacéntrico y acrocéntrico (ISCN, 2016).

- **Metacéntricos:** El centrómero está situado cerca de la mitad de los brazos del cromosoma.
- **Submetacéntricos:** El centrómero se encuentra proximal a uno de sus extremos, dando como resultado un brazo largo y corto.
- **Acrocéntricos:** El centrómero está situado muy cerca del extremo de un brazo del cromosoma. En los brazos cortos presentan una constricción secundaria formando un adelgazamiento que forma el tallo y terminan con una región denominada satélite (heterocromatina). En el tallo, se encuentran los genes de RNA ribosomal que durante la interfase forman el nucléolo por lo que se denominan regiones organizadoras nucleolares (NOR) (Gersen, S. L., 2013).

Localización	Denominación	Forma en metafase	Forma en anafase
Central	Metacéntrico		
Entre el centro y el extremo	Submetacéntrico		
Próximo al extremo	Acrocéntrico		
En el extremo	Telocéntrico		

Figura 9. Clasificación de los cromosomas de acuerdo a la ubicación del centrómero.

En la conferencia de Londres en 1963, se clasificó a los cromosomas en 7 grupos de acuerdo a su tamaño y posición del centrómero.

Tabla 1. Tipos de cromosomas y su correspondiente grupo. Modificado de Gersen, S.L., 2013)

Tipo de cromosoma	Grupo y cromosoma
<p>Metacéntricos <i>(El centrómero se encuentra cerca de la mitad del cromosoma con una relación de brazo largo a brazo corto de 1:1 a 1:3)</i></p>	<p>A: 1,2,3 E: 16 F: 19 y 20</p>
<p>Submetacéntricos <i>(El centrómero se encuentra cercano a un extremo del cromosoma respecto al otro extremo, relación brazo largo a brazo corto de 1:1,3 a 1:7)</i></p>	<p>B: 4 y 5 C: 6,7,8,9,10,11,12,X E: 17 y 18</p>
<p>Acrocéntricos <i>(Centrómero situado cerca del extremo del cromosoma con una relación brazo largo a brazo corto >1:7). E, cromosoma Y no tiene satélites.</i></p>	<p>D: 13,14 y 15 G: 21,22, Y</p>

1.4 Ciclo celular

De acuerdo a la teoría celular establecida por el biólogo alemán Rudolf Virchoff en el siglo XIX “las células sólo provienen de células”. Las células existentes se dividen a través de una serie ordenada de pasos denominados ciclo celular; en él la célula aumenta su tamaño, el número de componentes intracelulares (proteínas y organelos), duplica su material genético y finalmente se divide. Consta de 2 fases principales: interfase y la fase M o de división (mitosis/ meiosis). La interfase consta de una fase G1 (Gap 1), S (síntesis), y G2 (Gap 2). Durante el ciclo celular existen puntos de control estrictos que regulan el paso de una fase a otra (Hunt, T., 2011).

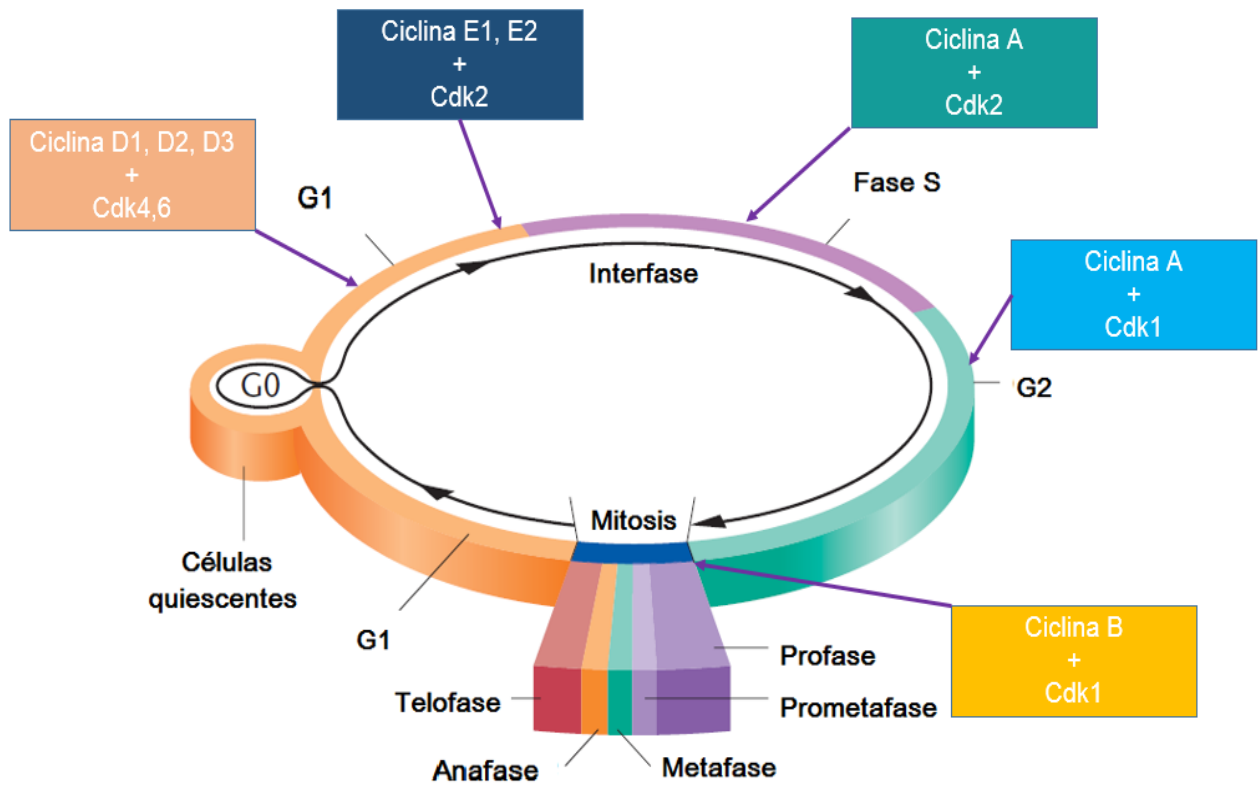


Figura 10. Fases del ciclo celular. Modificado de Klung.W.S., 2013.

En la fase G1 es una etapa en donde los organelos y el tamaño celular se duplican, existe síntesis de RNA y proteína. En esta fase se encuentra el punto de restricción y el primer punto de control. Casi al final de G1, se encuentra el punto de restricción, se conoce así puesto que si la célula logra pasar este punto se encuentra “comprometida” a entrar al ciclo celular, en este punto se comprueba a competencia proliferativa de la célula y que no haya daño al DNA. El paso a través de este punto se da por los complejos cdk4 y cdk6-ciclina D, que seran el factor de transcripción E2F de la proteína Rb (proteína del retinoblastoma) por medio de fosforilación de Rb. E2F estimula la síntesis de cdk2 y ciclina E que son necesarios para el progreso de G1 a S, por lo tanto Rb se inactiva más y disminuye a su vez la concentración de p27. La inactivación Rb es conservada durante todo el ciclo celular (Aguda, B.D., 2015). Posterior al punto de restricción se encuentra el primer punto de control, participan el complejo cdk2-ciclina E, que como se mencionó en el punto de restricción se encarga de inactivar a Rb y favorecer a E2F para permitir la síntesis del DNA durante la fase S. p53 (que se encuentra unido a Mdm2) y p21 se encargan de inhibir este punto de control. Si existe una lesión en el DNA, p53 se separa de Mdm2, y al aumentar la concentración de p53 se estimula la síntesis de p21 que se une al complejo cdk2- ciclina E, este complejo se inhibe y no hay paso a la fase S (Strachan, T.R., 2011; Aguda, B.D., 2015).

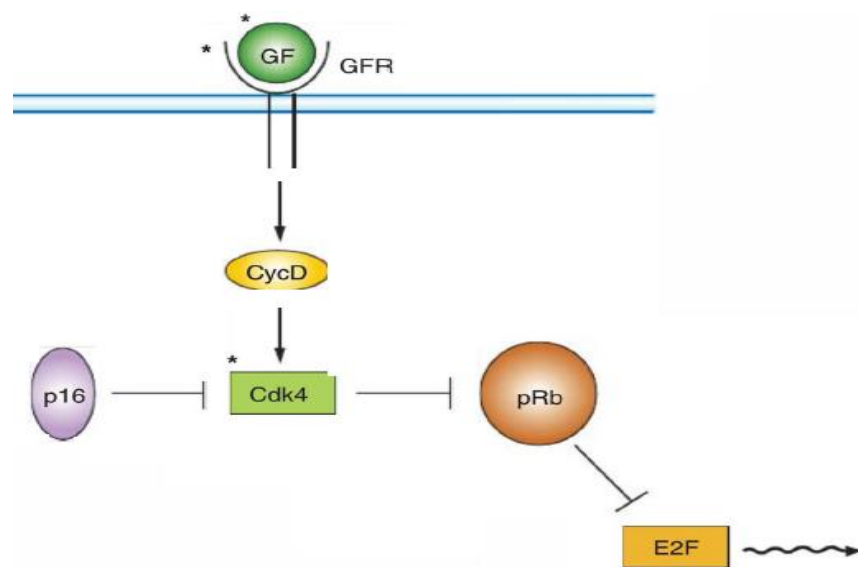


Figura 11. Punto de restricción. Modula el paso de G1 a S. Modificado de Klung.W.S., 2013.

Durante la fase de síntesis (S), la célula duplica su material genético, para brindarle una copia completa del genoma a cada una de sus células hijas; la replicación inicia en sitios específicos de los cromosomas (orígenes de replicación), aproximadamente existen 25 sitios por cromosoma. La fase S no tiene punto de control, sin embargo para la síntesis de DNA es indispensable la presencia de cdk2-ciclina A (Strachan, T.R., 2011)

En la fase G2, la célula continúa creciendo, realizando síntesis de proteínas y RNA. Al final de G2 se encuentra el segundo punto de control, en donde participa el complejo cdk1-ciclina A y B, se conoce también como factor promotor de la mitosis. En este punto se verifica una adecuada replicación y reparación del DNA, así como que existan todos los componentes necesarios para ensamblar el aparato mitótico y la cantidad necesaria de ATP para poder entrar a mitosis. También actúa p53 que detecta alteraciones en el DNA y desencadena la activación de p21 encargada de inhibir cualquier complejo cdk1, 2, 4 y 6. Por lo tanto, en caso que no existan las condiciones necesarias, G2 se alarga para lograr realizarlas, y en caso de no lograr reparar daño al DNA la célula entra a apoptosis (Strachan, T.R., 2011; Aguda, B.D., 2015).

Cuando ya no se requiere la formación más células, éstas entran en un estado denominado G0, en el cual abandonan el ciclo celular y entran en un periodo de latencia, si estas células reciben el estímulo adecuado abandonan el estado G0 y entran a G1 (Strachan, T.R., 2011).

1.4.1 Mitosis

En esta fase se reparte a las células hijas el material genético duplicado, a través de la segregación de los cromosomas. La fase M para su estudio se divide en: Profase: En esta etapa los cromosomas (constituidos por dos cromátidas hermanas) se condensan en el núcleo y se hacen visibles, mientras que en el citoplasma se comienza a ensamblar el huso mitótico entre los centrosomas. El complejo cdk1-ciclina B participa en la degradación de la envoltura nuclear, este complejo fosforila las láminas nucleares y desestabiliza sus interacciones y por lo tanto se degrada. Los centrómeros de cada cromosoma se asocian a las proteínas que conforman los cinetocoros, junto con el CPC (complejo pasajero de los cromosomas) y las cinasas Aurora B y PLK1. Los centriolos migran a los polos opuestos de la célula para formar el huso. Metafase: Cromosomas alcanza su estado máximo de condensación y se encuentra en el ecuador del huso mitótico formando la placa metafásica. Anafase: Se produce la separación de las cromátidas hermanas, debido a que el complejo APC (complejo promotor de anafase) ubiquitina a la securina y libera la proteína separasa para degradar a la cohesina de los centrómeros. La separación de las cromátidas hermanas dan lugar a dos cromosomas hijos que migran hacia polos opuestos de la célula. Telofase: Ambos juegos de cromosomas llegan a los polos de la célula y adoptan una estructura menos densa, se forma posteriormente la envoltura nuclear. Citocinesis: Finalmente la célula se divide mediante el anillo contráctil de actina y miosina produciendo dos células hijas cada una con un juego completo de cromosomas (Strachan, T.R., 2011; Lewin, B., 2008).

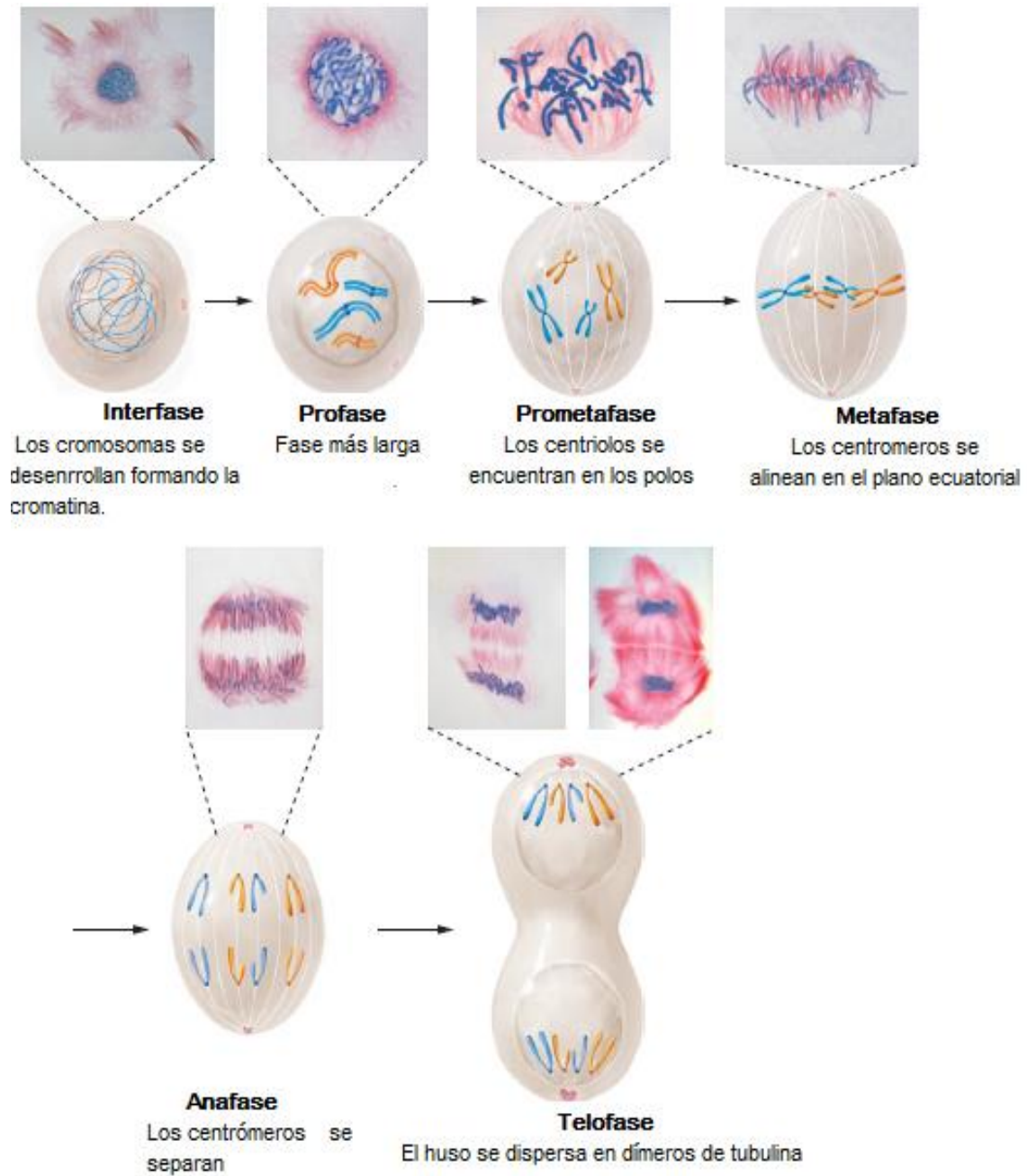


Figura 12. Representación de Mitosis en una célula 4n. Se describe en cada fase algunos pasos importantes durante esta etapa. Modificado de Klung.W.S., 2013.

Entre metafase y anafase, se encuentra el tercer punto de control, que también es conocido como punto de control del uso mitótico; se encarga de verificar que las cromátides hermanas se encuentren unidas por cohesinas en el cinetocoro, que permanezcan unidas al huso mitótico, con la finalidad de asegurar su adecuada segregación. Si se detecta que alguno de los cinetocoros no se encuentra unido, se activa al conjunto APC-cdc20 que inhibe la liberación de la separasa impidiendo que las cromátides hermanas se separen (Strachan, T.R., 2011; Lewin, B., 2008).

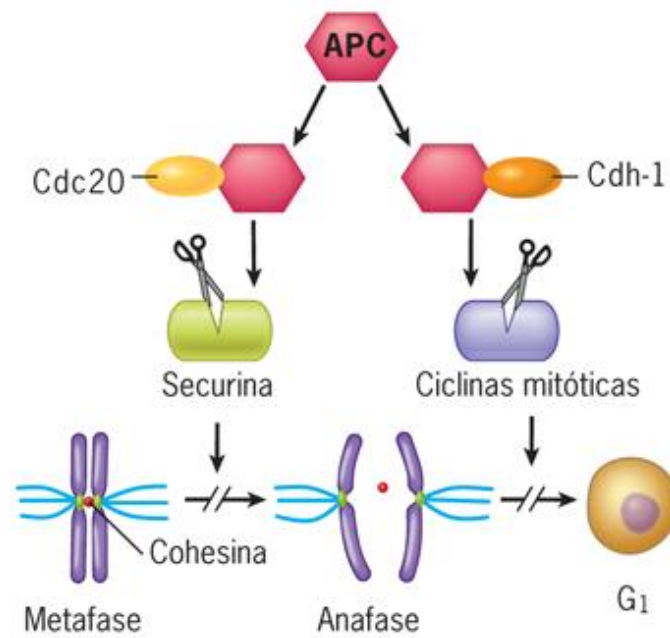


Figura 13. Representación del complejo APC-cdc20. Modificado de Mendelsohn, J., et al.2015.

1.4.2 Meiosis

Si sólo existiera la mitosis, nuestros hermanos, padres u otros individuos seríamos copia uno del otro, sólo alguna mutación ocasional produciría alguna variabilidad genética. El paso de la evolución depende de la cantidad de variación genética presente, por medio de la combinación de la información genética de los padres (Cha, R. S., 2014). La meiosis es un proceso de división de células germinales que genera gametos femeninos y masculinos haploides (n) a partir de células diploides ($2n$). Consiste en dos divisiones celulares, que generan reducción de la cantidad de información genética, recombinación cromosómica y segregación al azar de los cromosomas de origen materno y paterno. Al igual que la mitosis, la meiosis es precedida por un estado de interfase que incluye las fases G1, S y G2. Se divide en dos fases diferentes: la meiosis I y la meiosis II, cada una de ellas tiene una división celular (Strachan, T.R., 2011).

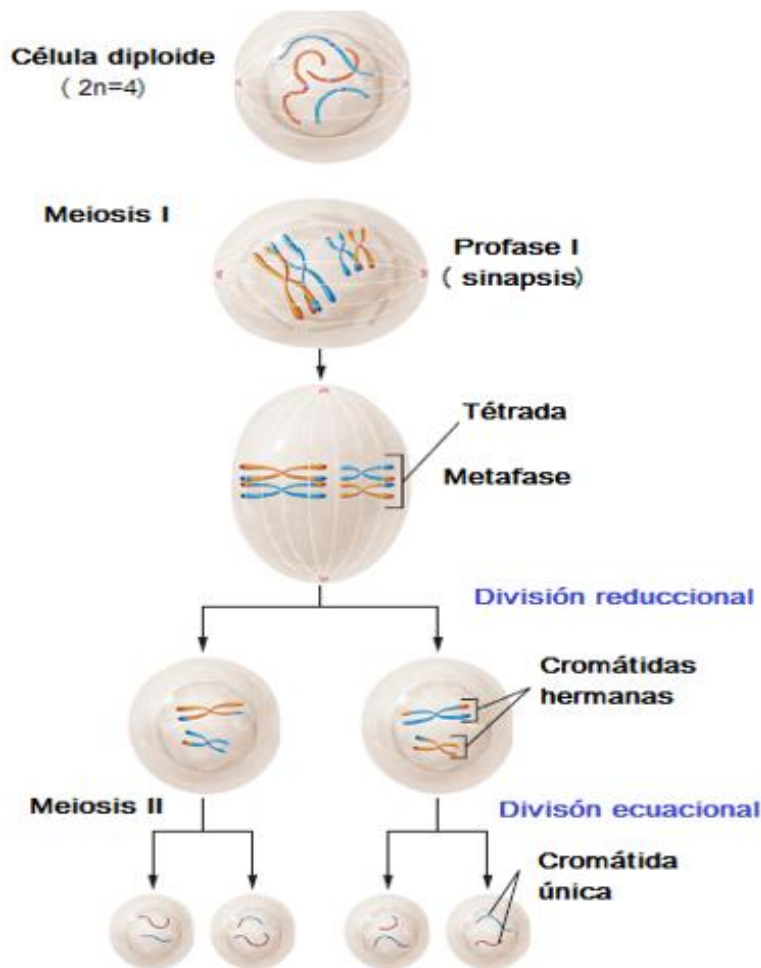


Figura 14. Esquema de Meiosis. Modificado de Klung.W.S., 2013.

La primera división meiótica, se conoce como división reduccional porque el número de cromosomas por célula se reduce a la mitad, debido a la segregación de cromosomas homólogos por medio de la degradación de las cohesinas las cuales se encuentran en los centrómeros. La profase, en 5 etapas: leptoteno, cigoteno, paquiteno, diploteno y diacinesis.

En Leptoteno los cromosomas se condensan y se hacen visibles, cada cromosoma tiene un par de cromátidas hermanas (de la replicación durante la fase S premeiótica) unidas por cohesinas REC8, en la cara interna de los cromosomas se forma un banda de soporte denominado elemento axial o lateral, que se encuentra formado por proteínas del complejo sinaptonémico tipo 2 y 3 (SYCP2 y SYCP3). La recombinación inicia cuando la proteína SPO11 genera rupturas de doble cadena en el DNA. Durante cigoteno los cromosomas homólogos se alinean y se aparean por medio de la adicción de la proteína del complejo sinaptonémico tipo 1 (SYCP1) y se genera el complejo sinaptonémico cuya formación inicia en los telómeros y avanza hacia el centrómero. En paquiteno, los satélites de los cromosomas acrocéntricos se condensan, el tallo desaparece y se asocian con el resto del cromosoma. En diploteno se hacen visibles los quiasmas que son los puntos de contacto en los diferentes lugares de las cromátidas homólogas. La cohesina Rad21 mantiene unidas a las cromátidas para el intercambio de material; en la meiosis femenina la célula entra en esta etapa en un arresto prolongado. En diacinesis el huso meiótico se ensambla y los cromosomas se separan para su segregación y desaparece el nucléolo, la membrana celular se rompe y se inicia el movimiento hacia la placa metafásica.

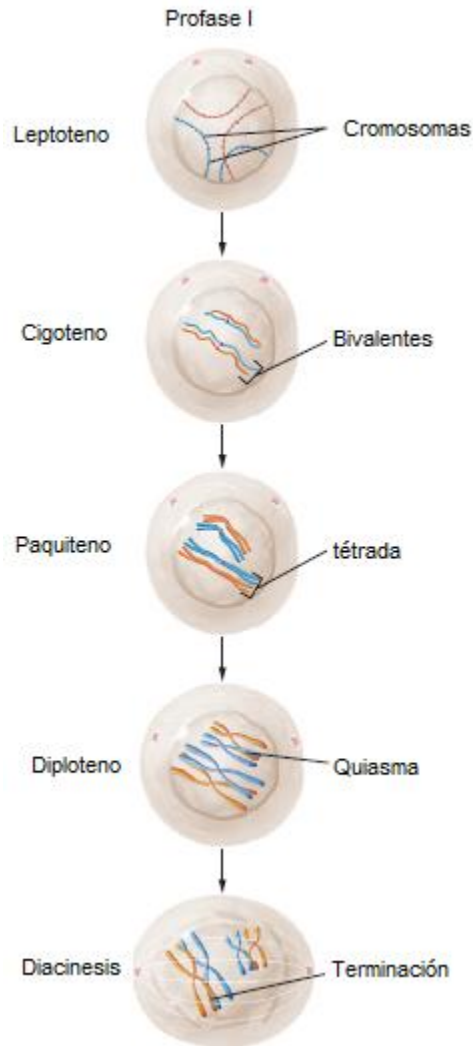


Figura 15. Representación de Profase I. Modificado de Klung.W.S., 2013.

En la metafase de meiosis I cada cromosoma homólogo se encuentra unido al huso meiótico de polos opuestos. En anafase se separan los cromosomas homólogos por la disolución de los quiasmas y la pérdida de las cohesinas entre los brazos de cromátidas hermanas. Por último en telofase puede formarse o no la envoltura nuclear. La segunda división meiótica (división ecuacional), genera cuatro células hijas haploides. En esta fase no hay fase S, y en la anafase II las cromátidas de cada cromosoma migran hacia polos opuestos. (Strachan, T.R., 2011; Cha, R. S., 2014).

1.5 Alteraciones numéricas y estructurales de los cromosomas

Las aberraciones cromosómicas son alteraciones en la estructura o número de cromosomas, se clasifican por este motivo en numéricas y estructurales (Strachan, T.R., 2011).

Las alteraciones numéricas se clasifican de acuerdo a si son múltiplos o no del número haploide. Entre ellas se encuentran: Poliploidías y aneuploidías (Gardner, J. R., 2012).

La aneuploidía es la ganancia o pérdida de cromosomas individuales, ocurre por un fenómeno de no disyunción de cromosomas homólogos en meiosis I o la no separación de cromátides hermanas en meiosis II o en mitosis (si es en meiosis genera gametos disómicos y nulisómicos y si es en mitosis genera trisomías y monosomías). La mayoría se genera en meiosis I materna (Gardner, J. R., 2012).

Se le denomina poliploidía cuando el número de cromosomas es múltiplo exacto del número haploide y excede el número diploide. La triploidía es la poliploidía más frecuente ocurre en 7.5% de todos los abortos espontáneos. Los mecanismos citogenéticos que llevan a la triploidía son: 1) Cuando dos espermatozoides secundarios fecundan un ovocito secundario que expulsa de manera correcta un segundo cuerpo polar o también llamado diandria (mecanismo más frecuente de formación de triploidía); 2) Cuando un espermatozoide diploide fecunda un ovocito, también llamado diandria, la cantidad de espermatozoides diploides es de hasta 10%; y 3) Cuando un espermatozoide haploide normal fertiliza a un óvulo con doble contribución génica, debido a que incorpora su segundo cuerpo polar al núcleo, se le conoce como diginia (Gardner, J. R., 2012; Gersen, S. L., 2013).

Las alteraciones estructurales se deben a la interrupción o reubicación en una posición deferente a la normal del material genético de un cromosoma, que puede originar exceso o pérdida de material cromosómico. Se clasifican en deleciones, duplicaciones, inversiones, translocaciones, anillos e isocromosomas.

En las deleciones existe pérdida de material cromosómico y se diferencian en terminales (pérdida de un extremo de uno de los brazos cromosómicos y la subsecuente regeneración telomérica) (Weischenfeldt, J., 2013).

Las duplicaciones representan ganancia de material cromosómico, cuando la ganancia se encuentra contigua al segmento se le conoce como duplicación en tándem; pueden generarse por una recombinación desigual, causan monosomías y trisomías parciales, se subdividen en intersticiales (dentro de uno de los brazo de un cromosoma) y terminales (pérdida en un extremos de un brazo) (Gardner, J. R., 2012)

Las inversiones son rearrreglos intracromosómicos que requieren 2 puntos de ruptura en el mismo cromosoma, se dividen en pericéntricas (el punto de ruptura está por arriba y otro por abajo del centrómero) y paracéntricas (punto de ruptura están en un mismo brazo del cromosoma) (Hellen, E. H., 2015).

Las Translocaciones se deben al intercambio de 2 segmentos cromosómicos entre dos o más cromosomas, pueden ser balanceadas o desbalanceadas con respecto a la cantidad de material genético involucrado (Weischenfeldt, J., 2013).

Los anillos son cromosomas circulares que se originan por la pérdida de los extremos terminales en ambos brazos y la subsecuente reunión de los segmentos rotos, se clasifican en céntrico (cuando contiene centrómero) y acéntrico (si no tiene centrómero); pueden formarse con la fusión de los telómeros sin pérdida de regiones subteloméricas y por consiguiente los pacientes no presentan anormalidades clínicas (Gardner, J. R., 2012).

Los isocromosomas se refiere a un cromosoma que muestra una imagen en espejo de dos brazos cromosómicos iguales a ambos lados del centrómero, puede provocar una tetrasomía del brazo cromosómico involucrado y monosomía del brazo faltante; se produce por ruptura y fusión de las cromátides hermanas de un

cromosoma duplicado, involucrando el centrómero o la división horizontal del centrómero, puede ser isodicéntrico (2 centrómeros) o monocéntrico (un centrómero), pseudodicéntrico (tiene dos centrómeros pero uno está inactivo) (Gardner, J. R., 2012).

1.6. Técnicas de análisis citogenético simple

El cariotipo es una técnica de citogenética convencional que permite con diferentes técnicas de tinción y bandeo observar diferentes regiones en los cromosomas. El nivel de resolución de esta técnica se considera de alta resolución al observar 800 bandas y estándar de 450- 550 bandas. Con esta técnica se puede determinar el número de cromosomas y determinar si existen alteraciones estructurales de entre 3-5 megabases (ISCN, 2016). Las células que más se utilizan son linfocitos de sangre periférica debido a que es fácil su obtención y cultivo, sin embargo se puede realizar en otros tejidos como médula ósea, mucosa oral, fibroblastos, líquido amniótico y vellosidades coriales (Gersen, S. L., 2013). Existen diferentes técnicas de bandeo para determinar un patrón específico de bandas que se describen en la tabla 2.

Tabla 2. Técnicas de bandeo. Recuperado de Gersen, S. L., 2013).

Técnica de Bandas	Características
QFQ	La mostaza de quinacrina reacciona con el DNA. Fluorescentes: segmentos de ADN ricos en AT. Es altamente carcinogénico
GTG	Método más frecuente de tinción. La tripsina degrada proteínas y proteínas no histonas del DNA. El colorante Giemsa se une a los grupos fosfatos del DNA. Se genera un patrón de bandeo particular para cada cromosoma. Bandas oscuras: Predominio de AT. Bandas claras: Predominio de GC.
RHG	Se realiza un tratamiento térmico selectivo en buffers de diversa naturaleza, seguida por una coloración de cromosomas con Giemsa. El patrón de bandeo depende de la desnaturalización en cada región del cromosoma. Las regiones R positivas: ricas en Guanina-Citosina. Es útil para teñir los extremos distales de los cromosomas.
TGH	Se realiza con tratamiento térmico, seguida por una coloración de cromosomas con Giemsa. Bandas positivas: Tiñe regiones teloméricas
CBG	Se realiza un tratamiento con sales y posteriormente se agrega coloración Giemsa. Identifica la heterocromatina constitutiva que contiene DNA satélite localizado en centrómeros, brazos largos del cromosoma 1,9,16 y Y.
NOR	Las regiones organizadoras se localizan en tallos o constricciones secundarias de los brazos cortos de los cromosomas acrocéntricos. Identifica alteraciones en cromosomas acrocéntricos.

1.7 Técnicas de análisis citogenético con bases moleculares

Con la introducción de métodos de biología molecular se permitió la identificación de las alteraciones cromosómicas no identificables por cariotipo.

- **Análisis por hibridación *in situ* con fluorescencia (FISH)**
Este método tiene como objetivo, determinar si una secuencia de DNA específica (sonda) tiene un complemento con DNA blanco. Si hay hibridación la sonda se adhiere al DNA blanco y se identifica una señal por medio de fluorescencia. Si en el DNA blanco no se encuentra esta secuencia específica, la sonda no emite fluorescencia. Se utiliza para identificar ganancias o pérdida cromosómicas no visibles por cariotipo convencional, caracterizar aberraciones cromosómicas o identificar cromosomas marcadores. A su vez existen diferentes sondas que nos ayudan a identificar cada aberración cromosómica como: sondas centrómero específicas, sondas de pintado cromosómico completo, sondas de secuencia única (Gersen, S. L., 2013).
- **Análisis por hibridación genómica comparativa (CGH)**
En esta técnica permite analizar el genoma de un individuo y un genoma de referencia marcados con dos fluorocromos diferentes entre sí (rojo: control; verde: paciente). Ambos genomas se hibridan competitivamente con cromosomas en metafase, ambas fluorescencias son detectadas y analizadas digitalmente. Con este método se identifican ganancias o pérdidas de segmentos cromosómicos de 10 a 20 Mb, sin embargo no detecta aberraciones balanceadas (Gersen, S. L., 2013).
- **Análisis por hibridación genómica comparativa por microarreglo (aCGH)**
Esta técnica se basa en un principio por CGH convencional, sin embargo los cromosomas en metafase se sustituyen por fragmentos específicos de DNA clonados de 100-200kb. La relación entre los dos genomas marcados se compara. Sirve para detectar alteraciones pequeñas de 45Kb a 1Mb, pero no detecta alteraciones balanceadas (Gersen, S. L., 2013).

1.8 Abordaje del paciente con cromosomopatía

Las alteraciones cromosómicas pueden ocasionar alteraciones del desarrollo como malformaciones congénitas, talla baja, retraso del desarrollo psicomotor y discapacidad intelectual, por lo que los pacientes con estas características clínicas requieren de la evaluación con análisis citogenético.

1.8.1 Indicaciones de cariotipo

Tabla 3. Indicaciones de cariotipo por grupo de edad. Modificado de Delgado, 2012.

Periodo	Indicaciones
Prenatal	Edad mayor de 35 años Ansiedad materna Triple marcador alterado Oligohidramnios- polihidramnios Retraso de crecimiento intrauterino Arteria umbilical única Sospecha ecográfica de cromosomopatía Alteración cromosómica balanceada en algún progenitor
Neonatal	2 o más malformaciones mayores aisladas Presencia de 3 o más malformaciones menores Recién nacido con rasgos dismórficos Recién nacido con genitales ambiguos Óbito de causa desconocida Muerte neonatal de causa inexplicable
Lactancia	Dificultades para el aprendizaje Sospecha de cromosomopatía Retraso del desarrollo psicomotor
Preescolar- escolar	Trastornos del crecimiento Retraso del desarrollo psicomotor Sospecha de cromosomopatía
Adolescencia	Ginecomastia Falta del desarrollo puberal Amenorrea Retraso mental Sospecha de cromosomopatía
Adultos	Padres de niños con anomalías cromosómicas estructurales Abortos de repetición (2 o más abortos) Infertilidad de origen desconocido Diagnóstico prenatal
Todas las edades	Procesos malignos Control de trasplantes de médula ósea

1.9 Síndrome del anillo cromosómico

Los cromosomas en anillo surgen después de una ruptura y su posterior unión en ambos brazos del cromosoma. Los fenotipos asociados con los cromosomas en anillo son muy variables debido a la pérdida de material genético o bien a la inestabilidad del cromosoma, a este fenotipo se le conoce como síndrome del anillo cromosómico. Correlaciones genotipo-fenotipo precisas para cromosomas en anillo puede no ser posible ya que los factores varían dependiendo del grado de eliminación en la formación del anillo, la inestabilidad del anillo y el nivel de mosaicismo. Aunque los cromosomas en anillo usualmente surgen como eventos de novo, se ha descrito la transmisión familiar de anillos del portador a la descendencia (Gardner, R. J., 2011).

1.10 Características del cromosoma 13

El cromosoma 13 es un cromosoma acrocéntrico, que contiene el 3,6% de la información genética. El brazo p está compuesto de heterocromatina constitutiva, el brazo q está compuesto de eucromatina. Contiene aproximadamente 384 genes, entre los más importantes se encuentran *BRCA2*: Predisposición a cáncer de mama de aparición temprana, *RB1*: Retinoblastoma, *ATP7B*: Enfermedad de Wilson (Dunham, A., 2006). La tinción del cromosoma con Giemsa produce el patrón de bandas característico que se muestra en la figura 16.

Se encuentra implicado en aberraciones cromosómicas frecuentes como trisomía completa o síndrome de Patau, monosomías y trisomías parciales de 13q.

1.10.1 Trisomía 13 o Síndrome de Patau

El síndrome de Patau o trisomía 13 se debe a presencia de un cromosoma 13 adicional. Su frecuencia es de 1 en 12 000 a 20 000 recién nacidos vivos y sus principales características clínicas son: restricción del crecimiento intrauterino, al nacimiento presenta microcefalia, aplasia cutis congénita, holoprosencefalia, hipotelorismo, ausencia de huesos nasales, microftalmia, labio paladar hendido cardiopatía congénita, polidactilia postaxial, entre otras. Generalmente estos pacientes tienen mal pronóstico (Merritt J., 2013).

1.10.2 Síndrome del anillo del cromosoma 13

El cromosoma 13 en anillo es una condición genética rara con una incidencia de 1 en 58,000 en nacidos vivos. Las principales características clínicas de los pacientes con cromosoma 13 de anillo incluyen crecimiento y retraso del desarrollo, microcefalia, dismorfias faciales características, genitales ambiguos, atresia anal, malformaciones oculares, retinoblastoma y anomalías en manos y pies. La gravedad del fenotipo depende de la cantidad de material genético perdido durante la formación del cromosoma del anillo (Su, P., 2013; Çakmaklı, S., 2017)

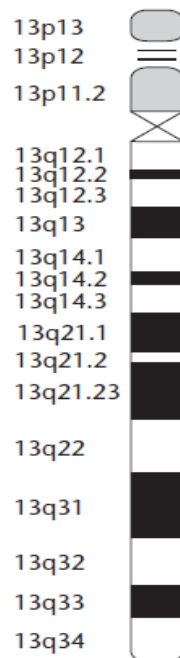


Figura 16. Ideograma del cromosoma 13.

1.11 Características del cromosoma 6

El cromosoma 6 es un cromosoma metacéntrico que constituye aproximadamente el 6% del genoma humano, contiene aproximadamente 1000 genes. El brazo corto que representa aproximadamente el 35% de la longitud total del cromosoma. En la siguiente figura muestra un ideograma del cromosoma 6 (Müller-Myhsok, B., 2006)

1.11.1 Síndrome de delección 6p

Las deleciones terminales de la región 6p23-pter son poco frecuentes, las manifestaciones clínicas asociadas dependen del tipo de delección presentada. En el caso de las deleciones terminales con puntos de ruptura dentro de la región 6p24-pter resulta clínicamente en discapacidad intelectual, defectos del desarrollo anterior de la cámara ocular, pérdida de la audición, hipertelorismo, hipoplasia medio facial y pabellones auriculares de baja implantación. Deleciones intersticiales con puntos de corte dentro de la región 6p22-p24 se caracterizan clínicamente por discapacidad intelectual, cuello corto, manos cortas, malformaciones congénitas en sistema nervioso central, riñón y corazón. La mayoría de los casos de delección 6p se deben a la segregación de translocaciones balanceadas o deleciones *de novo* (Caignec, C. L., 2005)

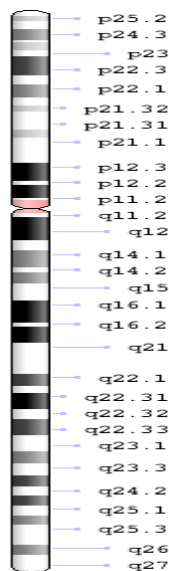


Figura 17. Ideograma del cromosoma 6.

2. Planteamiento del problema

El Hospital Infantil de México Federico Gómez es un centro de referencia de tercer nivel de atención de problemas de salud pediátricos, entre sus principales causas de solicitud de atención son las malformaciones congénitas y las cromosomopatías. Las alteraciones estructurales y numéricas de los cromosomas pueden ocasionar alteraciones del desarrollo entre ellas talla baja y retraso del desarrollo psicomotor así como discapacidad intelectual, por lo que los pacientes con estas características clínicas requieren de la evaluación por análisis citogenético para descartar aberraciones cromosómicas. Entre los cromosomas de interés por el efecto que sus alteraciones tienen en el fenotipo se encuentran el cromosoma 6 y el cromosoma 13, este último presenta gran variedad fenotípica que va desde retinoblastoma hasta fenotipos complejos que incluyen malformaciones múltiples como el síndrome de Patau. Lo que nos lleva a la siguiente pregunta de investigación:

Pregunta de investigación

¿Cuáles son y cuál es la frecuencia de las alteraciones de los cromosomas 6 y 13 y cuál es la relación fenotipo-genotipo que presenta una muestra de pacientes del Hospital Infantil de México Federico Gómez de 2009-2018?

3. Justificación

El Hospital Infantil de México Federico Gómez es un centro de referencia a nivel nacional, en donde se atienden pacientes con manifestaciones clínicas que pueden estar relacionadas con cromosomopatías, entre ellas los cromosomas 6 y 13 se asocian a problemas del desarrollo y/o síndromes característicos, los cuales son muy poco frecuentes. No conocemos la estadística de cuántos pacientes en nuestra Institución presentaron alguna alteración en los cromosomas 6 y 13 en el periodo de 2009 a 2018. Este trabajo nos permitirá conocer el tipo y la frecuencia de estas alteraciones para determinar las alteraciones clínicas más frecuentes y características asociadas a estos cromosomas. Algunos de los pacientes identificados podrían beneficiarse con estudios moleculares que complementen su diagnóstico y su asesoramiento genético. Además, aportaremos conocimiento nuevo de la relación fenotipo-genotipo de las alteraciones en el cromosoma 6 y 13 en nuestra población.

4. Objetivos

4.1 Objetivo principal

Analizar las características clínicas y citogenéticas de una muestra de pacientes con anomalías numéricas y estructurales del cromosoma 6 y/o del cromosoma 13 diagnosticados en el periodo de enero de 2009 a diciembre de 2018 y analizar clínica y citogenéticamente a un paciente con delección 6p y anillo del cromosoma 13.

4.2 Objetivos particulares

- Determinar el tipo y la frecuencia de las alteraciones numéricas y estructurales de los cromosomas 6 y 13 diagnosticadas por técnica de bandas GTG entre 2009 y 2018. .
- Establecer la relación fenotipo-genotipo en los pacientes estudiados.
- Comparar nuestros hallazgos con los descritos en la literatura.
- Analizar clínica y con citogenética molecular a una paciente con síndrome de delección 6p y anillo del cromosoma 13.

5. Hipótesis

Esta tesis no requiere hipótesis al tratarse de una descripción de casos.

6. Material y métodos

Este trabajo está dividido en dos partes: La primera de ellas se refiere al análisis estadístico de las alteraciones de los cromosomas 6 y/o 13 diagnosticados por cariotipo con bandas GTG en el Departamento de Genética del Hospital Infantil de México Federico Gómez en el periodo 2009-2018. La segunda parte es el análisis fenotipo- genotipo de una paciente con síndrome de delección 6p y anillo del cromosoma 13

6.1 Tipo de estudio

Observacional, descriptivo, transversal, ambilectivo.

6.2 Metodología del análisis estadístico

Se revisaron las libretas de reporte de resultados de cariotipo con bandas GTG realizado en el Laboratorio de citogenética del departamento de Genética del Hospital Infantil de México Federico Gómez entre 2009 y 2018. Los resultados fueron analizados por porcentajes de acuerdo al número de estudios totales realizados en el periodo en este laboratorio. Se identificaron aquellos pacientes con alteraciones en los cromosomas 6 y/o 13 y se clasificaron de acuerdo al tipo de alteración cromosómica identificada.

6.3 Metodología del análisis clínico y citogenético

Se revisaron los expedientes clínicos de los pacientes identificados de acuerdo a los criterios de selección del estudio. Se identificó una paciente con síndrome de deleción 6p y anillo del cromosoma 13, se realizó el análisis descriptivo de las características clínicas y se complementó con un estudio citogenético molecular para determinar la cantidad de material perdido y establecer así la relación fenotipo-genotipo, comparando los hallazgos con los descritos en la literatura.

Se citó a la consulta externa a la paciente y familiares para explicar el procedimiento del estudio del caso clínico. Para complementar abordaje, previo consentimiento informado, se tomó de muestra de sangre periférica para cariotipo a la madre y estudios de citogenética molecular a la paciente.

6.4 Criterios de selección

- Criterios de inclusión
 - Reporte de resultados de cariotipo con bandas GTG
 - Reportes de cariotipo del periodo 2009-2018 con alteraciones numéricas y/o estructurales del cromosoma 6 y/o 13.
 - Fórmula cromosómica legible
 - Que exista expediente clínico disponible.
 - De los pacientes identificados con resultado con alteración del cromosoma 6 y/o13 que sea posible realizar otras pruebas citogenéticas.

- Criterios de exclusión
 - Resultados de cariotipo normal o con alteraciones numéricas o estructurales en otros cromosomas,
 - Reportes con duda diagnóstica.

- Criterios de eliminación
 - Reportes de resultados ambiguos o que no se cuente con el reporte escrito.
 - Pacientes en quienes no sea posible recabar los datos clínicos del expediente.
 - Pacientes en quienes no puedan realizarse pruebas especiales para caracterizar la aberración cromosómica.
 - Pacientes que no deseen participar en el estudio.
 - Muestras que no cumplan con los requisitos para los estudios requeridos.

7. Resultado y discusión del análisis estadístico

Durante análisis de las libretas de reporte de resultados en el periodo de enero de 2009 a diciembre 2018 el total de muestras para estudio citogenético (cariotipo y FISH) fue de 7,504. En el 14.63% que representan 1,098 estudios, no fue posible obtener crecimiento o resultado debido a diversos factores. El número total de estudios citogenéticos con resultado fue de 6,406.

Tabla 4. Pacientes con alteraciones en el cromosoma 6

Caso	Diagnóstico de envío	Resultado de cariotipo
1	Probable cromosomopatía	46,XX,t(6;12)(q13;q13)[25]
2	Pareja con dos abortos	mos 46,XY,t (6;12)(p12;p12) [19]/46,XY [31]
3	cariotipo previo anormal	46,XY,t(6;11)(q23;q23)[25]
4	Trisomía 21, cardiopatía congénita	47,XY,t(6;12)(q23;q12),+21 [25]
5	Madre del hijo con cromosomopatía	46, XX, t(6;12)(q23;q12) [25]
6	Displasia del desarrollo de la cadera bilateral, dismorfias menores	46,XX,der(6)t(6;13)(p23;q14),r(13)(p12q14)
7	Estenosis pulmonar, sepsis nosocomial	46,XY,del(6)(q23q25.1) [25]

Se identificaron 7 casos correspondientes a alteraciones en cromosoma 6 y 75 casos corresponden a alteraciones en el cromosoma 13.

De los 7 casos correspondientes a alteraciones en el cromosoma 6, uno de ellos corresponde a alteraciones numéricas (14%) y 6 a alteraciones estructurales (86%). La alteración numérica identificada corresponde a una trisomía del cromosoma 21 y las alteraciones estructurales más frecuente corresponde a translocaciones balanceadas.

De los 75 casos que corresponden a alteraciones en el cromosoma 13, 41 casos presentan alteraciones numéricas (54.6%) y 34 presenta alteraciones estructurales (45.4%). Durante este periodo se identificaron 8 pacientes con trisomía 13 que corresponde al 10.6% de los pacientes con alteración en el cromosoma 13 y corresponde 0.12 % del total de muestras con resultado realizadas durante este periodo. De los 82 pacientes con alteración en los cromosomas 6 y 13, 1 caso presentó alteración en ambos los cromosomas.

8. Presentación de caso clínico

Femenino de 3 años 3 meses de edad referida al Hospital Infantil de México a los 10 meses de edad por cariotipo anormal y retraso en el desarrollo psicomotor.

Antecedentes heredofamiliares

Producto de la gesta 1. Madre 24 años, originaria de Chiapas, aparentemente sana. Padre de 52 años, originario de Veracruz, aparentemente sano. 15 medios hermanos por rama paterna, aparentemente sanos. Niegan consanguinidad.

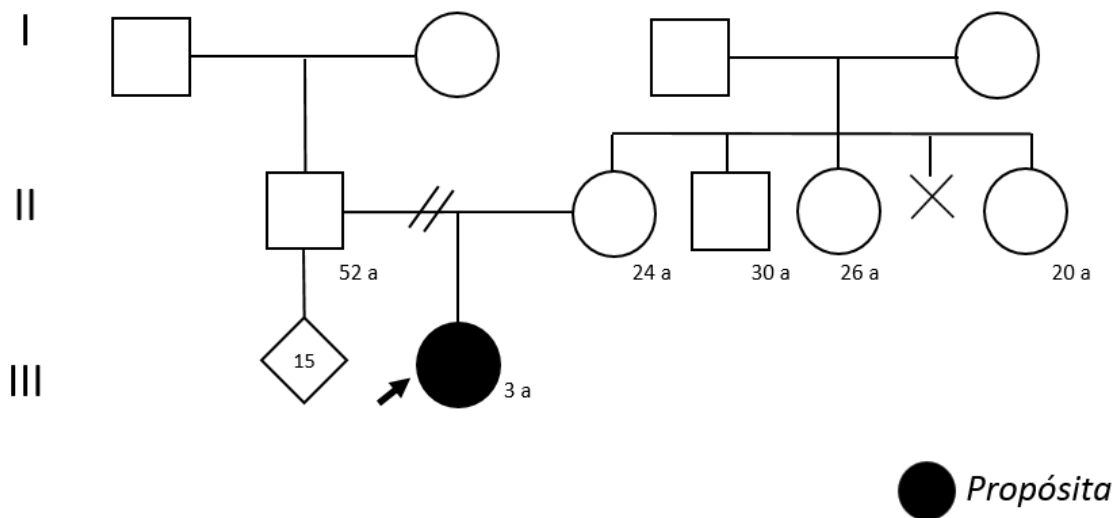


Figura 18. Árbol genealógico del propósisita

Antecedentes perinatales

Embarazo normoevolutivo, adecuado control prenatal. Se realizó 10 ultrasonidos perinatales, al quinto mes de embarazo se detectó acortamiento de miembros pélvicos. Fue obtenida a término por vía abdominal por presentación pélvica, peso 2600 grs (<p10), talla 47cm (p10), Apgar: No recordó. Se detectó al nacimiento pie equino varo derecho y displasia de desarrollo de cadera bilateral.

Antecedentes personales patológicos

Postoperada de osteotomía periacetabular (OPA) para corrección para displasia de cadera bilateral en diciembre del 2014. Desarrollo psicomotor: Fijación de la mirada: 3 meses, sonrisa social: 3 meses, sostén cefálico: 4 meses, sedestación 10 meses. Balbuceos: 10 meses, el resto la madre no lo recuerda.

Exploración física

Paciente femenino de edad aparente menor a la cronológica, peso 12Kg (p5), talla 89 cm (p5). Braquicefalia, fontanela anterior 3x2cm, normotensa. Frente amplia, frontal prominente, implantación folicular anterior alta. Cejas arqueadas, pobladas, hipertelorismo, telecanto y epicanto interno bilateral. Puente nasal ancho/plano, dorso recto, punta bulbosa. Filtrum borrado, comisuras labiales descendentes, labio superior delgado y labio inferior evertido, paladar íntegro, micrognatia. Pabellones auriculares de implantación baja con hélix antevertido y hoyuelos. Cuello cilíndrico. Tórax con soplo sistólico. Abdomen, blando, sin visceromegalias. Displasia de desarrollo de cadera bilateral. Genitales externos fenotípicamente femeninos. Extremidades inferiores con acortamiento de fémur.



Figura 19. Características faciales de la paciente a los 3 años de edad. Vista frontal: se muestra frente amplia e hipertelorismo.



Figura 20. Características faciales de la paciente a los 3 años de edad. Perfil lateral derecho: Nótese pabellón auricular dismórfico y de implantación baja.



Figura 21. Características faciales de la paciente a los 3 años de edad. Nótese el hipertelorismo y la tendencia a mantener la boca abierta.



Figura 22. Perfil de cuerpo completo de la paciente. Se aprecia la displasia del desarrollo de cadera.

Valorada en el departamento de genética a los 9 meses, se inició estudio por displasia del desarrollo de cadera bilateral, probable displasia ósea y retraso del desarrollo psicomotor. Actualmente no realiza deambulación y forma frases de dos palabras.

Como parte del abordaje inicial se solicitó valoración por el servicio de cardiología, oftalmología, potenciales evocados auditivos de tronco cerebral (PEATC), neurología con solicitud de resonancia magnética y ortopedia. Paciente con indicación de toma de cariotipo en sangre periférica con bandas CTG.

El estudio por resonancia magnética de cráneo mostró asimetría interhemisférica, hipoplasia de cuerpo calloso y aumento de cisterna magna. Se diagnosticó embriotoxón posterior bilateral, hipermetropía y atrofia óptica leve; audición normal bilateral y persistencia del conducto arterioso de 4x7x10mm.

Resultados del estudio cromosómico y molecular

El resultado del cariotipo de sangre periférica con bandas GTG fue: 46,XX,der(6)t(6;13)(p23;q14)r(13)(p12q14)[25]. El cariotipo materno fue normal, el padre no acudió a realizarse estudio.

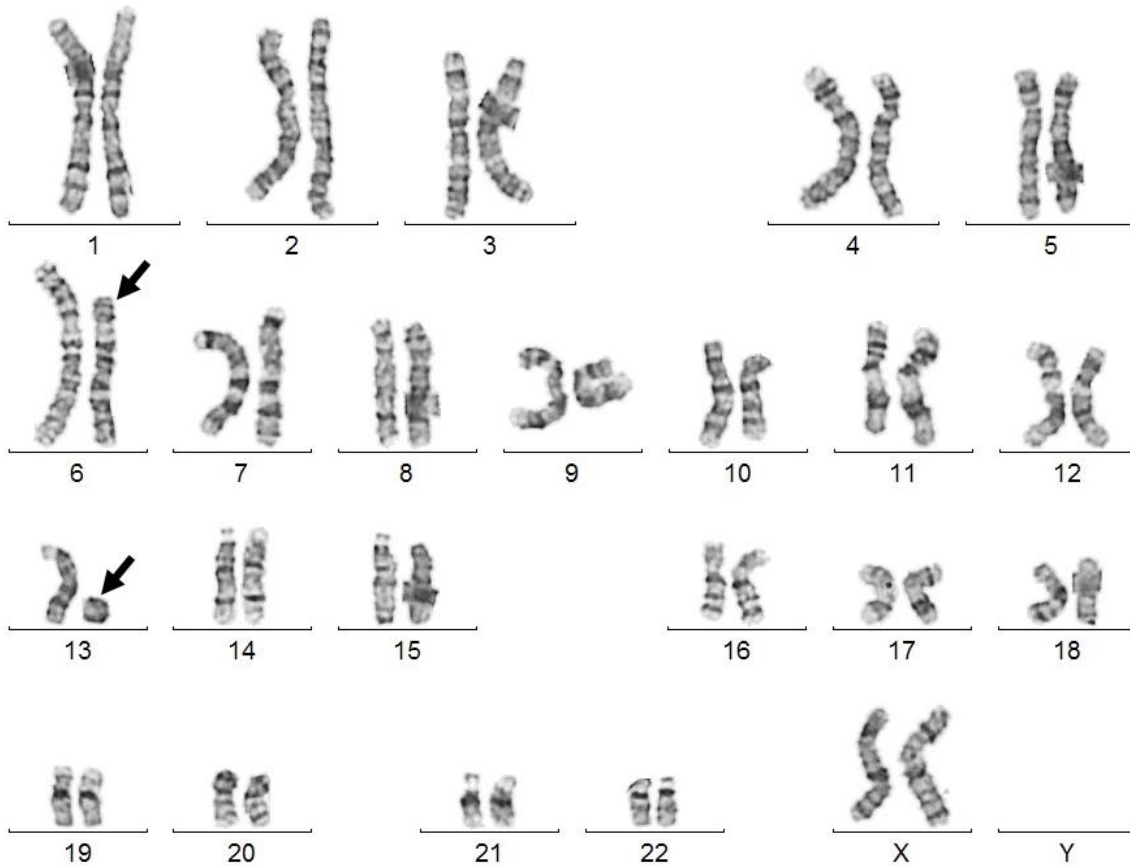


Figura 23. Cariotipo de la paciente. Las flechas señalan el cromosoma derivado formado por la translocación entre el cromosoma 6 y 13 que derivó en una deleción 6p, y el cromosoma 13 en anillo.

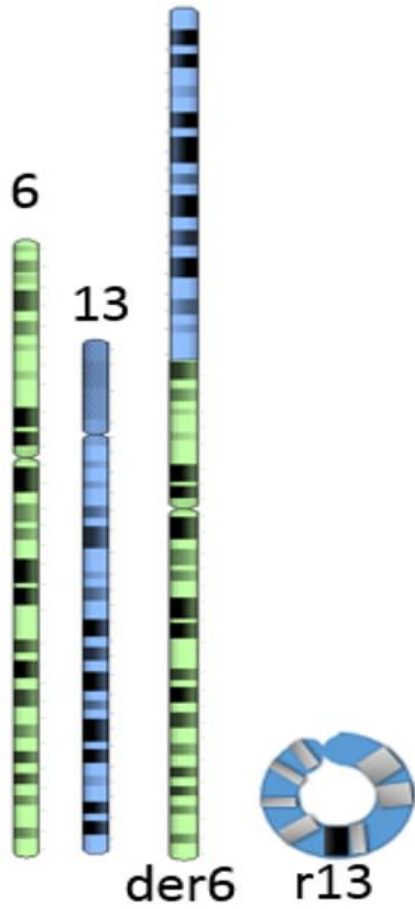


Figura 24. Ideograma de los cromosomas 6 y 13. El cromosoma 6 se representa de color verde y el cromosoma 13 de color azul. Se ejemplifica la translocación (6;13) que deriva en la deleción 6p y la formación del anillo del cromosoma 13.

Debido al resultado del cariotipo, se decidió realizar con la misma muestra estudio de FISH en la *propósito* con la finalidad de identificar por este método de estudio los puntos de ruptura. Se utilizó la mezcla 6 ToTelVysion, Vysis, Abbott Park III, USA que mostró: 46,XX,der(6)t(6;13)(p23;q14)r(13)(p12q14).ish der(6)t(6;13)(6PTEL48-,D13S327+,6QTEL54+) r(13)(13q14+,D13S327-). El análisis confirmó la ausencia de la región 6p, la presencia del segmento del cromosoma 13 en el cromosoma 6 y la presencia del anillo del cromosoma 13.

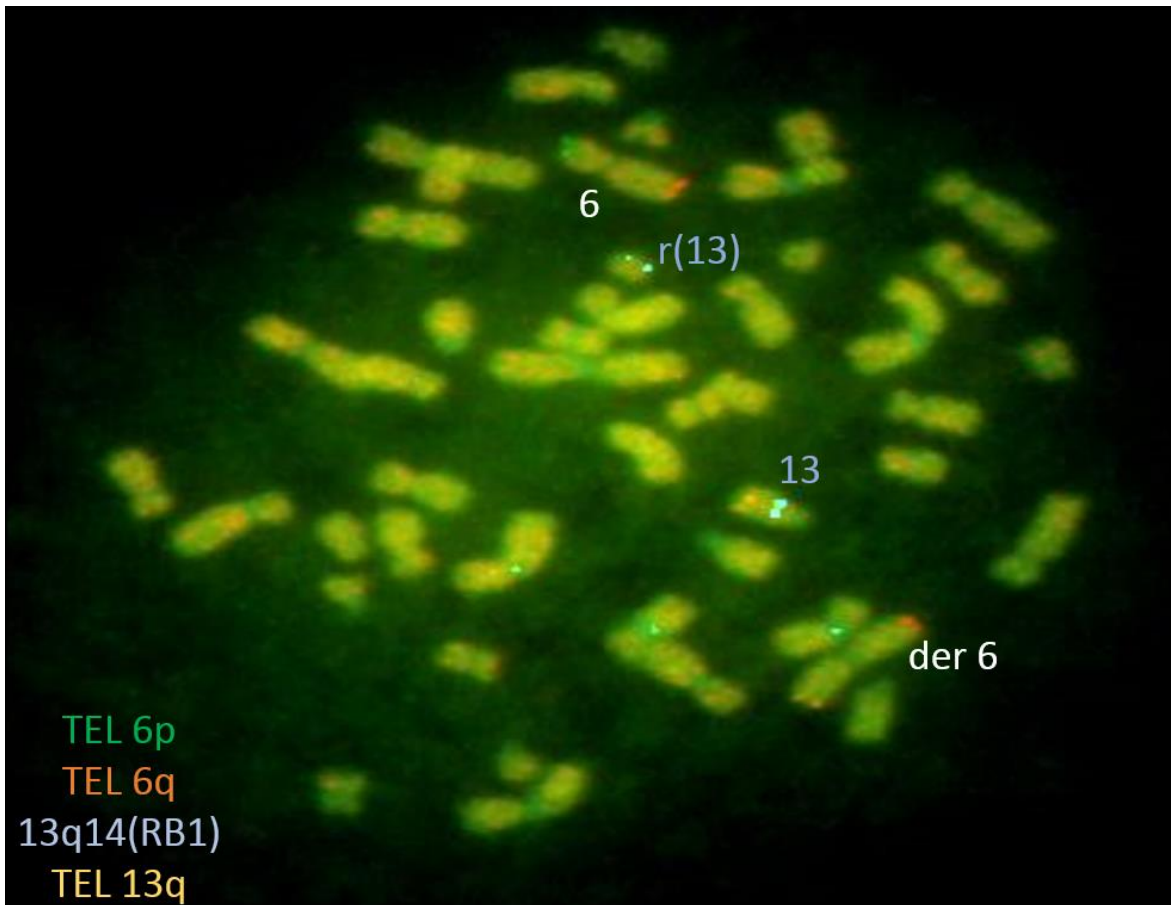


Figura 25. FISH en metafase. Se observa las señales *aqua* que corresponden a la región 13q14; la señal *verde* corresponde al telómero del brazo corto del cromosoma 6; la señal *naranja* corresponde al telómero del brazo largo del cromosoma 6.

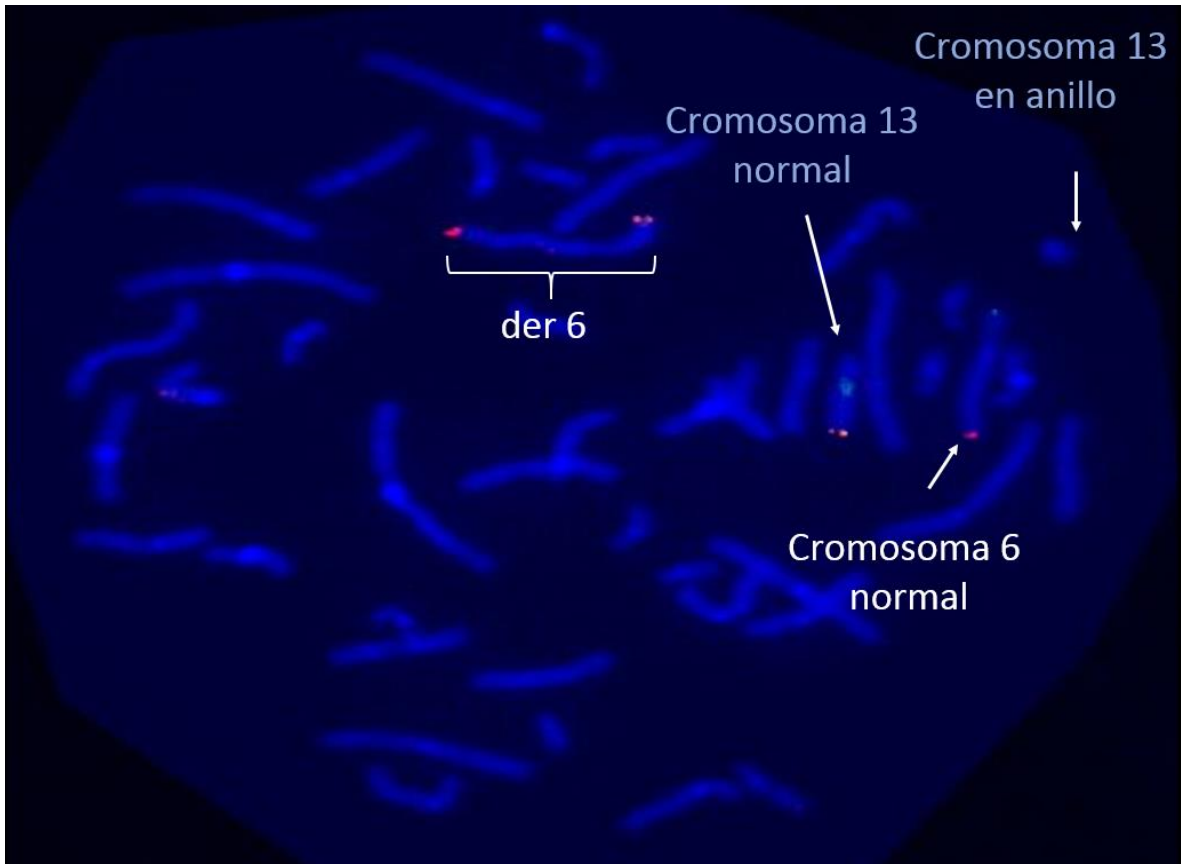


Figura 26. FISH en metafase. Se confirma la deleción (ausencia de la señal) en el derivado del cromosoma 6.

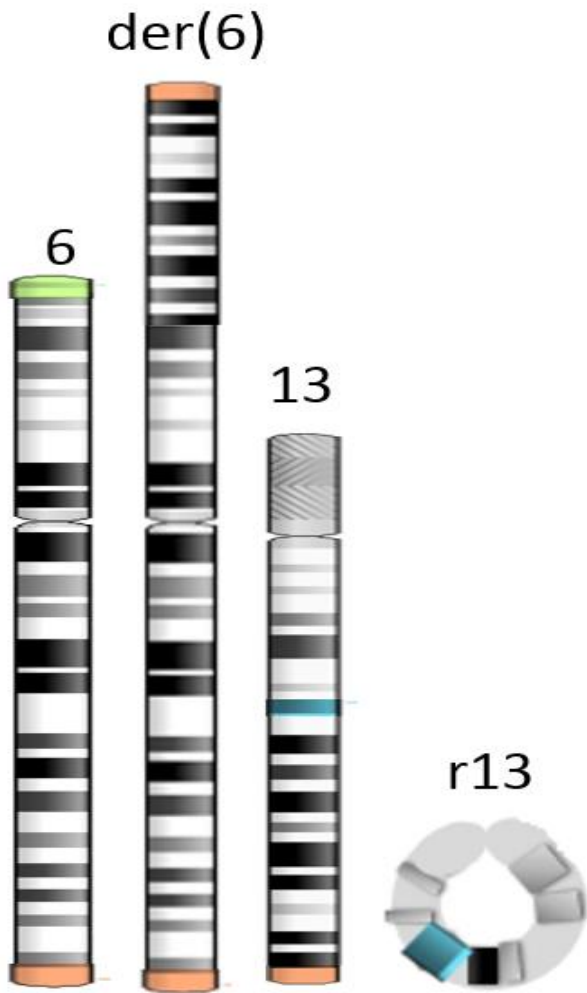


Figura 27. Ideograma de los cromosomas 6 y 13 normales, der (6)t(6;13) y del anillo del cromosoma 13. Se muestran los colores de las sondas subtelo méricas empleadas en el FISH.

9. Discusión de caso clínico

La paciente presenta una monosomía 6p23-pter derivada de un rearrreglo complejo por t(6;13) no recíproca, con formación de un anillo en el derivado del cromosoma 13. No fue posible establecer si el rearrreglo ocurrió *de novo* debido a que el padre se encuentra fuera del núcleo familiar.

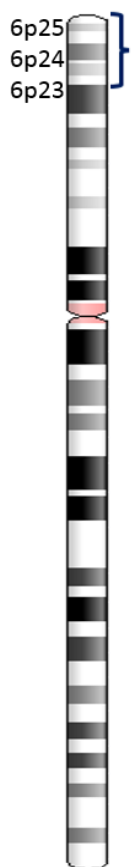
En el brazo corto del cromosoma 6, se localizan numerosos genes importantes en la morfogénesis como *FOXC1*, que es miembro de la familia de genes homeobox, asociado con malformaciones en la cámara anterior del ojo, anomalía de Rieger, anomalía de Axenfeld, hipoplasia del iris opacidad corneal, coloboma del iris, glaucoma y malformación de Dandy-Walker (Müller-Myhsok, B., & Ziegler, A.,2006). Nuestra paciente presenta embriotoxón posterior bilateral, reportado hasta el momento en 4 pacientes con delección 6p23-pter (se resume el fenotipo descrito en la literatura de este síndrome en la tabla 4).

El gen *F13A1* con locus en 6p25-p24, se relaciona con deficiencia del factor XIIIa, sin embargo, hasta el momento nuestra paciente no cuenta con manifestaciones clínicas ni datos de laboratorio que no hagan sospechar esta alteración.

De acuerdo a la revisión de la literatura, existen tres genes candidatos para hipoacusia: *DFNA13* (6p21.3), *DFNA21* y *DFNA31* (Caignec et al.,2005), esto llama la atención debido que hasta el momento nuestra paciente no presenta dicha característica.

El gen EDN-1 (6p24.1) se relaciona con alteración del desarrollo renal (Chen, et al., 2004). Se realizó en nuestra paciente ultrasonido renal al conocer dicha manifestación, sin embargo el reporte del ultrasonido es normal.

En la siguiente figura se muestra los genes relacionados con el fenotipo de la deleción 6p23-pter.



Localización	Gen	Alteración	OMIM
6p25	<i>FOXC1</i>	iridogoniodisgenesis ; Disgenesia del segmento anterior; anomalía de Rieger; Anomalía de Axenfeld; hipoplasia del iris; glaucoma	601090
6p25-p23	<i>IRF4</i>	Mieloma múltiple	601900
6p25-p24	<i>F13A1</i>	Deficiencia de factor de coagulación XIII	134570
6p24.3	<i>OFC1</i>	Hendidura orofacial-1	119530
6p24	<i>DSP</i>	Síndrome de pelo lanoso - hiperqueratosis palmoplantar - miocardiopatía dilatada	125647
6p24.1	<i>EDN-1</i>	Desarrollo renal	131240
6p24-p23	<i>GCNT2</i>	Catarata; antígeno I (grupo sanguíneo)	600429
6p24-p21	<i>DFNA13, DFNA21, DFNA31</i>	Hipoacusia	601868, 607017 y 608645
6p23	<i>DEK</i>	Leucemia no linfocítica	125264
6p23	<i>SCZD3</i>	Esquizofrenia	600511
6p23	<i>ATX1/SCAI</i>	Ataxia espinocerebelosa 1	601556

Figura 28. Genes relacionados con el fenotipo de la deleción 6p23- pter.

Los cromosomas en anillo surgen después de una ruptura y su posterior unión en ambos brazos del cromosoma. El cromosoma 13 en anillo es una condición genética rara con una incidencia de 1 en 58,000 en nacidos vivos (Çakmaklı, S., 2017). Las principales características clínicas de los pacientes con cromosoma 13 de anillo son retraso del crecimiento y del desarrollo, microcefalia, dismorfias faciales características, genitales ambiguos, malformaciones oculares, retinoblastoma (en algunos casos). Los fenotipos asociados con los cromosomas en anillo son muy variables debido a la pérdida de material genético o bien a la inestabilidad del cromosoma. La gravedad del fenotipo depende de la cantidad de material genético perdido durante la formación del cromosoma del anillo; si bien la paciente presenta un anillo del cromosoma 13, no hay pérdida de material cromosómico y tampoco se observó inestabilidad del anillo, por lo que su presencia no modifica el fenotipo.

Tabla 5. Principales hallazgos clínicos en el síndrome por delección 6p terminal.

		Propósita	Mirza et al., 2004 ⁴				Chen et al., 2004 ²		Lin et al., 2005 ⁵				Le Caignec et al., 2005 ¹	
			P1	P2	P3	P4	P1	P1	P2	P3	P4	P1	P2	
Punto de ruptura		6p23	6p25.2	6p25	6p25	6p24.3	6p24	6p24	6p25	6p25	6p24	6p25	6p25	
Método de estudio		C/ F	C/ F	C/ F	C/ F	C/ F	C/ F	C/ F	C	C/ F	C	C/ F	C/ F	
Género		F	M	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	
Edad (años)		3	5	2	13	1	5	2	2	3	4	2	15	
Alteraciones del SNC	Hipotonía	+	+	+	+	+	+	+	+	NR	+	NR	NR	
	RDMP	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	
	DI	NA	+	-	+	+	+	NA	NA	NA	+	+	+	
	Dificultad en el lenguaje	+	+	+	-	-	+	+	NR	+	+	+	NR	
	Dandy- Walker	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	
	Malformación cuerpo caloso	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	
Alteraciones oculares	Hipertelorismo	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	
	Anormalidades en la retina	-	NR	NR	+	-	NR	-	-	NR	NR	NR	NR	
	Embriotoxon posterior	+	+	NR	NR	-	NR	-	+	+	-	+	+	
	Defectos de refracción	+	NR	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	
	Hipoplasia del iris	-	NR	NR	NR	-	NR	-	-	+	NR	+	+	
	Alteración en cornea	-	NR	NR	+	+	NR	-	-	NR	NR	+	+	
	Sinequias iridocorneales	-	NR	NR	NR	-	NR	-	-	+	NR	NR	+	
	Estrabismo	+	+	+	+	-	NR	-	+	NR	+	NR	+	
Glaucoma	-	-	NR	NR	-	NR	-	-	-	NR	NR	NR		
Oídos	PABI	+	+	NR	-	-	NR	+	-	-	NR	+	+	
	Hipoacusia	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	
Nariz	Puente nasal ancho/plano	+	+	-	-	-	+	+	+	+	NR	+	+	
Cavidad oral y filtrum	Filtrum borrado	+	NR	NR	-	NR	NR	+	NR	NR	NR	+	+	
	Labio inferior evertido	+	NR	+	NR	NR	NR	+	+	+	NR	NR	+	
Tórax y abdomen	Alteraciones cardíacas	+	Ao	PCA/FOP	-	CIV	-	TF	TF	PCA/FOP	PCA	-	-	
	Alteraciones renales	-	-	-	-	-	-	+	-	NR	-	NR	NR	
Extremidades	Alteraciones en extremidades	+	+	+	+	NR	+	NR	NR	NR	+	+	NR	
	Displasia de cadera	+	NR	-	+	NR	+	NR	NR	NR	NR	NR	NR	

C: Cariotipo; F: FISH; F: Femenino; M; Masculino; NR: No reportado; +; Presente; -: Ausente; DI: Discapacidad intelectual; RDMP: Retraso en el desarrollo psicomotor; PABI: Pabellones auriculares de baja implantación; Ao; Válvula aórtica; PCA: Persistencia del conducto arterioso; FOP: Foramen oval permeable; CIV: Comunicación interauricular; TF: Tetralogía de Fallot.

10. Conclusión

Las deleciones terminales de la región 6p23-pter son poco frecuentes, las manifestaciones clínicas asociadas incluyen discapacidad intelectual (DI), hipoplasia medio facial, hipertelorismo, defecto en el desarrollo de la cámara ocular anterior, hipoacusia, pabellones auriculares de implantación baja, cardiopatías y alteraciones en las extremidades. La mayoría de los casos se deben a la segregación de translocaciones balanceadas o deleciones *de novo*. Los rearrreglos cromosómicos complejos son el resultado de tres o más rupturas en uno o varios cromosomas. Los cromosomas en anillo derivados de rearrreglos cromosómicos complejos son poco frecuentes, suelen ser inestables y modificar el fenotipo. En esta tesis se describió una paciente con deleción 6p y anillo del cromosoma 13 derivado de una translocación desbalanceada.

La paciente presenta una monosomía 6p23-pter derivada de un rearrreglo complejo por t(6;13) no recíproca con formación de un anillo en el derivado del cromosoma 13. No fue posible establecer si el rearrreglo ocurrió *de novo* debido a que el padre se encuentra fuera del núcleo familiar.

El fenotipo de la paciente es similar a los casos reportados en la literatura de monosomía 6p23-pter, el cual es poco frecuente. Numerosos genes importantes en la morfogénesis se han descrito en el brazo corto del cromosoma 6. *FOXC1* (6p25) es miembro de la familia de genes *homeobox*; mutaciones en este gen se ha asociado con malformaciones en la cámara anterior del ojo, anomalía de Rieger, anomalía de Axenfeld, hipoplasia del iris opacidad corneal, coloboma del iris glaucoma y malformación de Dandy-Walker. Se ha propuesto 3 genes candidatos para el desarrollo de hipoacusia presentes en 6p: *DFNA13* (6p21.3), *DFNA21* y *DFNA31*; *EDN-1* (6p24.1) gen de endotelina 1, parece estar relacionado con alteración en el desarrollo renal. Si bien la paciente presenta un r(13), no hay pérdida de material cromosómico y tampoco se observó inestabilidad del anillo, por lo que su presencia no modifica el fenotipo.

11. Bibliografía

- Aguda, B. D. (2015). Cell Cycle Control: The Restriction Point. ELS, 1-5.
- Alberts B, Johnson A, Lewis J, y col. Biología molecular de la célula. 4ª edición. Nueva York: Garland Science; 2002.
- Caignec, C. L., Mas, P. D., Vincent, M., Bocéno, M., Bourrouillou, G., Rival, J., & David, A. (2004). Subtelomeric 6p deletion: Clinical, FISH, and array CGH characterization of two cases. American Journal of Medical Genetics Part A, 132A (2), 175-180.
- Çakmaklı, S., Çankaya, T., Gürsoy, S., Koç, A., Kırbıyık, Ö, Kılıçarslan, Ö A., Bozkaya, Ö G. (2017). Two Cases with Ring Chromosome 13 at either End of the Phenotypic Spectrum. Cytogenetic and Genome Research, 153(4), 175-180.
- Campbell, M. K., & Farrell, S. O. (2016). Bioquímica. México: Cengage Learning.
- Cha, R. S., & Hartsuiker, E. (2014). Meiosis. ELS.
- Chambers, E. V., & Semple, C. A. (2013). Chromatin Structure and Human Genome Evolution. ELS.
- Delgado, A. R. (2012). Asesoramiento genético en la práctica médica. Madrid: Médica Panamericana.
- Doenecke, D. (2014). Histones: Gene Organisation and Post-translational Modification. ELS. doi:10.1002/9780470015902.a0001154.pub2
- Dunham, A. (2006). Chromosome 13. Encyclopedia of Life Sciences.
- Eissenberg, J. C., & Elgin, S. (2001). Heterochromatin and Euchromatin. Encyclopedia of Life Sciences.
- Gardner, R. J., Sutherland, G. R., & Shaffer, L. G. (2012). Chromosome abnormalities and genetic counselling. New York: Oxford University Press.
- Gardner, R., Sutherland, G. R., & Shaffer, L. G. (2011). Autosomal ring chromosomes. Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling, 201-211.
- Gersen, S. L., & Keagle, M. B. (2013). The Principles of Clinical Cytogenetics. New York, NY: Springer New York.
- Gohard, F. H., Zhiteneva, A. A., & Earnshaw, W. C. (2014). Centromeres. ELS.
- Hellen, E. H. (2015). Inversions and Evolution of the Human Genome. ELS, 1-6.

- Heidenreich, B., & Kumar, R. (2017). TERT promoter mutations in telomere biology. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 771, 15-31.
- Hunt, T., Nasmyth, K., & Novak, B. (2011). The cell cycle. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 366(1584), 3494-3497.
- Klug, W. S., Cummings, M. R., Spencer, C. A., & Palladino, M. A. (2013). *Conceptos de genética*. Madrid: Pearson Educación.
- Lewin, B. (2008). *Genes IX*. México: McGraw-Hill.
- Liu, S. (2014). *Kinetochores: Structure, Function and Evolution*. ELS.
- Lupski, J. R., & Stankiewicz, P. T. (2006). *Genomic Disorders*. New York: Humana Press.
- McGowan-Jordan, J., Simons, A., & Schmid, M. (2016). *ISCN: An international system for human cytogenomic nomenclature (2016)*. Basel: Karger.
- Mendelsohn, J. (2015). *The molecular basis of cancer*. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders.
- Merritt, J. (2013). Patau Syndrome (Trisomy 13). *Brenner's Encyclopedia of Genetics*, 236-237.
- Müller-Myhsok, B., & Ziegler, A. (2006). Chromosome 6. *Encyclopedia of Life Sciences*.
- Musacchio, A., & Desai, A. (2017). A Molecular View of Kinetochores Assembly and Function. *Biology*, 6(4), 5.
- Perea-Resa, C., & Blower, MD (2018). Centromere Biology: Transcription Goes on Stage. *Biología Molecular y Celular*, 38 (18).
- Petermann, H. I., Harper, P. S., & Doetz, S. (2017). *History of Human Genetics: Aspects of Its Development and Global Perspectives*. Cham: Springer International Publishing.
- Raffa, G. D., & Cenci, G. (2015). Telomere. *ELS*, 1-6.
- Romeo, F., Falbo, L., & Costanzo, V. (2016). Replication, checkpoint suppression and structure of centromeric DNA. *Nucleus*, 7(6), 540-546.
- Strachan, T., Read, A. P., & Strachan, T. (2011). *Human molecular genetics*. New York: Garland Science.

- Su, P., Chen, C., Su, Y., Chen, S., Lin, L., & Chen, J. (2013). Case Report Smallest critical region for microcephaly in a patient with mosaic ring chromosome 13. *Genetics and Molecular Research*, 12(2), 1311-1317.
- Travers, A., & Muskhelishvili, G. (2015). DNA structure and function. *FEBS Journal*, 282(12), 2279-2295.
- Watson, J. D. (2014). *Molecular biology of the gene*. Boston: Pearson.
- Weischenfeldt, J., Symmons, O., Spitz, F., & Korbel, J. O. (2013). Phenotypic impact of genomic structural variation: Insights from and for human disease. *Nature Reviews Genetics*, 14(2), 125-138.
- Caignec, C. L., Mas, P. D., Vincent, M., Bocéno, M., Bourrouillou, G., Rival, J., & David, A. (2004). Subtelomeric 6p deletion: Clinical, FISH, and array CGH characterization of two cases. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 132A(2), 175-180.
- Chen, K. M., Cherry, A. M., Hahn, J. S., & Enns, G. M. (2004). Mild developmental delay in terminal chromosome 6p deletion. *American Journal of Medical Genetics*, 129A(2), 201-205.
- Mirza, G., Williams, R. R., Mohammed, S., Clark, R., Newbury-Ecob, R., Baldinger, S., Ragoussis, J. (2004). Refined genotype–phenotype correlations in cases of chromosome 6p deletion syndromes. *European Journal of Human Genetics*, 12(9), 718-728.
- Lin, R. J., Cherry, A. M., Chen, K. C., Lyons, M., Hoyme, H. E., & Hudgins, L. (2005). Terminal deletion of 6p results in a recognizable phenotype. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 136A(2), 162-168.

Anexos

Anexo 1. Técnica de cariotipo con bandas GTG en sangre periférica

TOMA DE MUESTRA

Material

Jeringa de 3ml

Heparina sódica de 1,000 UI

Equipo

Campana de flujo laminar

Método

1. Con método previo de asepsia y con uso de guantes, preparar jeringa de dentro de la campana de flujo laminar. Tomar con una aguja diferente heparina y heparinizar las paredes de la jeringa, así como la aguja de la jeringa que se usará, dejar 0.1ml de heparina.
2. Firma de consentimiento del procedimiento a realizar por parte de los padres o representante legal.
3. Tomar 2 mililitros de sangre periférica, obtenida por punción directa y etiquetar la muestra con nombre y número de cariotipo asignado por el laboratorio de genética.
4. Registrar la muestra en la libreta de primer contacto del laboratorio.

REALIZACIÓN DE CARIOTIPO

Material

- Tubos de ensayo Falcon desechables
- Solución amortiguadora de fosfatos pH 7.4
- Solución amortiguadora de fosfatos pH 6.8
- Tripsina
- Colorantes Wrigth y Giemsa
- Cubre objetos
- Guantes
- Jarras Coplin
- Vaso de precipitados

- Pipeta graduada, pipeta de transferencia, pipeta Pasteur
- Probeta graduada
- Resina Entellán

Equipo

- Microscopio
- Cronómetro
- Pinzas punta roma

Preparación de soluciones y método

1. Tomar 1.5ml de sangre periférica, de la muestra previamente obtenida.
2. Agregar 700µl de muestra en 2 tubos de ensayo Falcon, cada tubo se etiqueta con leyenda "A" y "B".
3. Agregar 5ml de medio de cultivo PB-MAX (RPMI 1640, fitohemaglutinina, suero bovino fetal, estreptomycin, penicilina y L- glutamina).
4. Incubar por 72 horas de 37-37.5°C.
5. Agregar a las 72 horas 20µl de colchicina al 2% a cada tubo, agitar levemente e incubar 30 minutos a 37-37.5°C.
6. Centrifugar a 2,500 rpm durante 10 minutos
7. Retirar el sobrenadante con pipeta y resuspender el contenido agitando en el vórtex.
8. Agregar solución hipotónica (cloruro de potasio) para completar un volumen de 12ml.
9. Incubar durante 30 minutos a 37-37.5°C.
10. Centrifugar a 2,500 rpm durante 10 minutos
11. Con pipeta retirar el sobrenadante y durante la agitación agregar gota a gota solución de Carnoy (metanol/ ácido acético, relación 3:1) hasta completar un volumen de 8 ml.
12. Centrifugar y retirar el sobrenadante. Llevar a un volumen de 8 ml para el primer lavado.

13. Centrifugar y retirar el sobrenadante. Llevar a un volumen de 6 ml para el segundo lavado.
14. Gotear el cultivo en una laminilla de vidrio y observar calidad y cantidad de metafases obtenidas.
15. Incubar las laminillas obtenidas en una estufa de 60°C durante 24 horas.
16. Para realizar digestión, introducir durante 10-30 segundos una laminilla en el primer Coplin.
17. Enjuagar laminilla en el segundo Coplin para realizar actividad.
18. Sumergir la laminilla en un Coplin con tinción Wrigth durante 2 minutos y retirar.
19. Sumergir la laminilla en un siguiente Coplin con tinción Giemsa durante 2 minutos.
20. Sumergir y enjuagar la laminilla en un vaso de precipitados.
21. Secar y montar con 3 gotas de entellán y un cubreobjetos.
22. Revisar calidad de bandas y dejar reposar a temperatura ambiente.

Técnica modificada de Freshney RI. Specialized Techniques. In: Culture of animal cells. A manual of basic technique and specialized applications. Wiley-Blackwii; 2010. Pp517-529.


Anexo 2. Técnica de FISH (Hibridación *in situ* con fluorescencia)

La toma de muestra y la técnica para este estudio es la misma del cariotipo hasta la preparación de laminillas. Se realiza con mezcla 6 ToTelVysion, Vysis, Abbott Park III, USA; con sondas específicas de la región 13q14, y telómeros del brazo largo y corto del cromosoma 6 y región telomérica del brazo largo del cromosoma 13.

Método

1. Es necesario un ambiente de humedad en rango de 50-60% a 24-25°C.
2. Resuspender el botón con solución fijadora para obtener una concentración de metafases adecuada.
3. Gotear sobre una laminilla pre- lavada (FISHER Brand TM) el material celular dependiendo de la cantidad de sonda que se hibridará.
4. Comprobar la calidad de material celular en un microscopio de contraste de fase. Los cromosomas se muestran en color gris y deben estar libres de citoplasma. Se procede con la maduración de la muestra
5. Incubar las preparaciones celulares a 37°C en 2X SSC por 30 minutos, posteriormente deshidratar en etanol al 70%, 85% y 100% por dos minutos cada uno. Dejar secar y se procede a la co-desnaturalización.
6. Las sondas que fueron previamente mezcladas en el amortiguador, se colocan sobre la laminilla madura en el área de mejor calidad y cantidad celular. Colocar un cubreobjetos de 22x22 mm y sellar con cemento de goma. Se realiza en el *HyBryte* a 71°C durante 2 minutos la co-desnaturalización, vigilar la temperatura y tiempo de desnaturalización. Continuar con la hibridación.
7. Colocar las laminillas en una cámara húmeda a 37°C durante 16-24 horas.
8. Después de 24 horas, retirar el sellador y el cubreobjetos. Lavar las laminillas en 40 ml de SSCX/NP-40 al 0.3% a 73°C durante 2 minutos y posteriormente en 40 ml de SSCX/NP-40 al 0.1% a temperatura ambiente durante 1 minuto. Dejar secar la laminilla al aire y en la oscuridad. Agregar contratinción con 8 µl de DAPI/*Antifade*. Colocar cubreobjetos y sellar con cemento de goma para analizar en microscopio de epifluorescencia (Olympus TM) con filtros (Chroma TM).

Anexo 3. Consentimiento de toma de muestra de sangre periférica para cariotipo.

 Hospital de la Mujer y del Niño de la Familia	FORMATO DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACION HIM-LC-PR.01-RE.01
CUBICULO No. <input type="text"/>	FECHA <input type="text"/> / <input type="text"/> / <input type="text"/>
NOMBRE DEL PACIENTE _____ Sexo <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F 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.	
Yo _____ de _____ años de edad. Reconozco que se me explicó y entendí el procedimiento para realizar los exámenes, estoy enterado de los beneficios, sé de los riesgos y las probables complicaciones que se me pueden presentar. Consciente de que se busca un beneficio, doy mi consentimiento sin obligación y por decisión propia para que los exámenes se efectúen así mismo para realizar la atención de contingencias y urgencias derivadas del acto autorizado, con base al principio de libertad prescripta.	
FIRMA DEL PACIENTE O SU REPRESENTANTE LEGAL _____	
TESTIGO FAMILIAR (Nombre y Firma) _____	
TESTIGO SUPERVISOR (Nombre y Firma) _____	
NOMBRE Y FIRMA DEL FLEBOTOMISTA _____	
Este consentimiento deberá 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 4. Carta de consentimiento informado para fotografías.



HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO
FEDERICO GÓMEZ
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 MÉXICO

EB 6908-0017

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 Docto/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 turno 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