



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

Análisis epidemiológico de la incidencia de anomalías del cromosoma 18 en un hospital de tercer nivel de la Ciudad de México en el periodo de 1980 a 2018

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

**PRESENTA**

**ESTEFANÍA MEJÍA CAUICH**

**DIRECTOR DE TESIS**

**M. en C. Alicia Beatriz Cervantes Peredo**



Ciudad Universitaria, CD. MX.

2019



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** Alicia Beatriz Cervantes Peredo

**VOCAL:** Francisco Javier Plasencia de la Parra

**SECRETARIO:** Nancy Monroy Jaramillo

**1er. SUPLENTE:** Alberto Ortega Vázquez

**2do. SUPLENTE:** Javier Axosco Marin

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

Servicio de Genética, Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga

**ASESOR DEL TEMA:**

---

M. en C. Alicia Beatriz Cervantes Peredo

**SUPERVISOR TÉCNICO:**

---

M. en C. Laura Gómez Laguna

**SUSTENTANTE:**

---

Estefanía Mejía Cauich

## INDICE

|  |    |
|--|----|
| 1. ANTECEDENTES  | 8  |
| 1.1 HISTORIA DE LA CITOGENÉTICA  | 8  |
| 1.1.1 Citogenética clásica   | 10 |
| 1.1.2 Citogenética molecular   | 13 |
| 1.2 ABERRACIONES CROMOSÓMICAS  | 19 |
| 1.2.1 Aberraciones numéricas y mecanismos de producción                                | 19 |
| 1.2.2 Aberraciones estructurales y mecanismos de producción                            | 25 |
| 1.3 CARACTERÍSTICAS DEL CROMOSOMA 18 Y LOS SÍNDROMES<br>SECUNDARIOS A SUS ABERRACIONES | 33 |
| 1.3.1 Características del cromosoma 18   | 33 |
| 1.3.2 Síndromes asociados a aberraciones del cromosoma 18                              | 34 |
| 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA  | 39 |
| 3. OBJETIVO  | 40 |
| 3.1 Objetivos particulares   | 40 |
| 4. HIPÓTESIS DE TRABAJO  | 40 |
| 5. MATERIALES Y MÉTODOS  | 41 |
| 6. RESULTADOS  | 42 |
| 7. DISCUSIÓN   | 54 |
| 8. CONCLUSIONES  | 67 |
| 9. REFERENCIAS   | 68 |
| ANEXO I. Técnica de Cariotipo con Bandas GTG   | 74 |
| ANEXO II. Técnica de Hibridación <i>in situ</i> Fluorescente                           | 77 |

## INDICE DE FIGURAS:

|   |    |
|---|----|
| Figura 1. 46 cromosomas en metafase obtenidos de cultivo de fibroblastos de pulmón de embrión humano.   | 8  |
| Figura 2. Cariograma 46,XY con bandas GTG de un individuo masculino normal.   | 12 |
| Figura 3. Fundamento de la técnica de Hibridación <i>in situ</i> Fluorescente.  | 15 |
| Figura 4. Fundamento de microarreglos de CGH.   | 18 |
| Figura 5. Esquema de la estructura de la cohesina meiótica humana y su apertura.  | 23 |
| Figura 6. Segregación normal y anormal en meiosis I materna.  | 24 |
| Figura 7. Esquema de los rearrreglos cromosómicos estructurales.  | 27 |
| Figura 8. Segregaciones cromosómicas 2:2 posibles posteriores a la formación de una cruz de paquiteno en un portador de una translocación recíproca balanceada.   | 28 |
| Figura 9. Recombinación y segregación en una inversión pericentromérica del cromosoma 18.   | 32 |
| Figura 10. Distribución de genes codificantes y no codificantes, pseudogenes y secuencias CG presentes en el cromosoma 18 en relación con un ideograma del cromosoma con bandas GTG.                                    | 34 |
| Figura 11. Número de pacientes de primera vez, estudios de cariotipo solicitados, cariotipos reportados y cariotipos cuyo resultado presentó anomalías en el Servicio de Genética, agrupado por décadas de 1980 a 2018. | 42 |
| Figura 12. Gráfica que presenta las principales causas de solicitud de un cariotipo en el periodo 1980 a 2018.  | 44 |
| Figura 13. Cariograma con bandas GTG 47,XX,+18 de un paciente femenino con trisomía 18.   | 47 |
| Figura 14. FISH 47,XX,+18.nuc.ish (CEP18x3) en un núcleo en interfase de linfocito de sangre periférica de paciente femenina con trisomía 18.   | 48 |

|   |    |
|---|----|
| Figura 15. Cariograma 46,XX,del(18)(p11.2) con bandas GTG que corresponde a un paciente femenino con una deleción distal del brazo corto del cromosoma 18.  | 49 |
| Figura 16. Cariograma con bandas GTG: 46,XX,del(18)(p11) de un paciente femenino con una deleción casi completa del brazo corto del cromosoma 18.   | 50 |
| Figura 17. Cariograma 46,XY,t(8;18)(p10;q10) con bandas GTG, correspondiente a un individuo masculino con una translocación de brazos completos entre los cromosomas 8 y 18, aparentemente balanceada.                                    | 51 |
| Figura 18. Cariograma 47,XX,+mar con bandas GTG correspondiente a un paciente femenino que presenta un cromosoma marcador supernumerario.   | 52 |
| Figura 19. FISH en metafase de un cromosoma marcador supernumerario 47,XX,+mar.ish i(18)(p10)   | 53 |
| Figura 20. Esquema del tetravalente que se debe formar durante la profase I entre los cromosomas derivativos como resultado de la traslocación de brazos completos entre los cromosomas 8 y 18, y los productos de las segregaciones 2:2. | 62 |
| Figura 21. Técnica de cultivo y cosecha de linfocitos para cariotipo utilizada en el Servicio de Genética, HGMEL.   | 75 |
| Figura 22. Técnica de tinción de bandas GTG utilizada en el Servicio de Genética, HGMEL.  | 76 |

## INDICE DE TABLAS

|  |    |
|--|----|
| Tabla 1. Clasificación de los cromosomas humanos   | 11 |
| Tabla 2. Compilación de datos por año de 1980 a 2018 del número de pacientes que acuden por primera vez a consulta al Servicio de Genética HGMEI, el número de cariotipos solicitados, estudios reportados y casos que presentaron aberraciones y el porcentaje que representan respecto a la fila superior. | 43 |
| Tabla 3. Registro de atención a pacientes en el Laboratorio de Citogenética del HGMEI.   | 44 |
| Tabla 4. Casos con anomalías del cromosoma 18 ordenados por sexo y tipo de anomalía detectados en el periodo de 39 años, ordenados en pacientes masculinos (M) y femeninos (F), en paréntesis se muestra el porcentaje del total.  | 45 |
| Tabla 5: Aberraciones del cromosoma 18 identificadas en el periodo de 2007-2018, edad, y motivo de solicitud de cariotipo, ordenados en pacientes masculinos (M) y femeninos (F), en paréntesis se muestra el porcentaje del total.  | 46 |
| Tabla 6. Comparación entre series internacionales y nacionales en otras unidades de tercer nivel de los datos obtenidos en este trabajo.   | 56 |

## RESUMEN:

**Introducción:** Las cromosomopatías, enfermedades derivadas de una aberración numérica o estructural en los cromosomas de un individuo, se presentan en 2-3% de los neonatos y son una causa importante de morbimortalidad. El cariotipo con bandas GTG es la herramienta diagnóstica más utilizada en nuestro país para la identificación de alteraciones cromosómicas por su costo bajo y accesibilidad. El cromosoma 18 es el segundo autosoma con menor cantidad de genes, entre las anomalías reportadas para este cromosoma se encuentran la trisomía 18, la monosomía parcial de su brazo corto o del brazo largo, anillos, inversiones y tetrasomía 18p, además de ser uno de los cromosomas implicados con mayor frecuencia en translocaciones balanceadas.

**Objetivo:** Identificar las alteraciones del cromosoma 18 reportadas en los resultados de los cariotipos con bandas GTG realizados en el laboratorio de citogenética del Servicio de Genética del Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga (HGMEI) durante el periodo comprendido del 1 de enero de 1980 al 31 de diciembre de 2018.

**Resultados:** Durante los 39 años compilados se presentaron 32 648 pacientes de primera vez. A 9 467 (29.0%) de los pacientes de primera vez se les solicitó un estudio cromosómico, se reportaron 7 781 cariotipos y en 25.3% (1 969 casos) se detectaron anomalías cromosómicas numéricas o estructurales. La principal causa de solicitud del estudio fue retraso psicomotor con o sin discapacidad intelectual, seguido de alteraciones en el desarrollo sexual. Las anomalías del cromosoma 18 representaron el 2.4% (48 casos) de todas las aberraciones detectadas, siendo la más frecuente la trisomía del cromosoma 18 con una relación mujer:hombre 2:1, seguida de la delección 18p. No se reportaron inversiones o anillos de este cromosoma.

**Discusión:** En el periodo 1980-2018 se detectaron 27 casos con trisomía 18 pura y 6 casos en mosaico con una línea normal, siendo la anomalía más frecuente, la detección de trisomía 18 en mosaico fue mayor que la reportada en la literatura. La relación mujer:hombre no concuerda con la literatura presentando más casos masculinos de los esperados, si bien para el subperiodo 2007-2018 la tendencia se revirtió. La delección del brazo corto es la segunda de las anomalías del cromosoma 18 más reportada con 8 casos, se presentaron dos casos tanto de la delección de brazo largo del 18, como de la tetrasomía 18p y de las translocaciones. La aberración menos frecuente fue la presencia de material adicional en el cromosoma 18, con un solo caso. La frecuencia de las anomalías detectadas concuerda con lo reportado en la literatura a excepción de la delección del brazo largo del 18 en la que se detectaron menos casos de los esperados.

**Conclusión:** Este trabajo permitió detectar las alteraciones correspondientes al cromosoma 18, así como la frecuencia de las mismas al demostrar la utilidad del cariotipo con bandas GTG en el HGMEI.



## 1. ANTECEDENTES:

### 1.1 HISTORIA DE LA CITOGENÉTICA

La citogenética es el campo de la genética que comprende el estudio de la estructura y función de los cromosomas. Los cromosomas fueron observados por primera vez a finales del siglo diecinueve, su nombre deriva de las palabras griegas *chrom* (coloreado) y *soma* (cuerpo). El término fue acuñado por el anatomista alemán Heinrich Wilhelm Gottfried von Waldeyer-Hartz, quien observó algunos objetos coloreados en el núcleo de las células que debían ser los responsables de la herencia de las características (McKinlay Gardner KJ, *et al.*, 2012).

El estudio detallado de los cromosomas humanos fue posible en 1952, gracias al trabajo de Hsu con soluciones hipotónicas, dicho tratamiento permite que los cromosomas en metafase se dispersen y visualicen de manera individual. La contribución de Tjio y Levan en 1956, al establecer que el número correcto de cromosomas humanos es de 46 (Figura 1), marcó un hito, pues difería del reportado previamente de 48 como número diploide por Painter en 1923, quien tomaba al cromosoma 1 como dos cromosomas independientes (Ruddle FH, 2004).

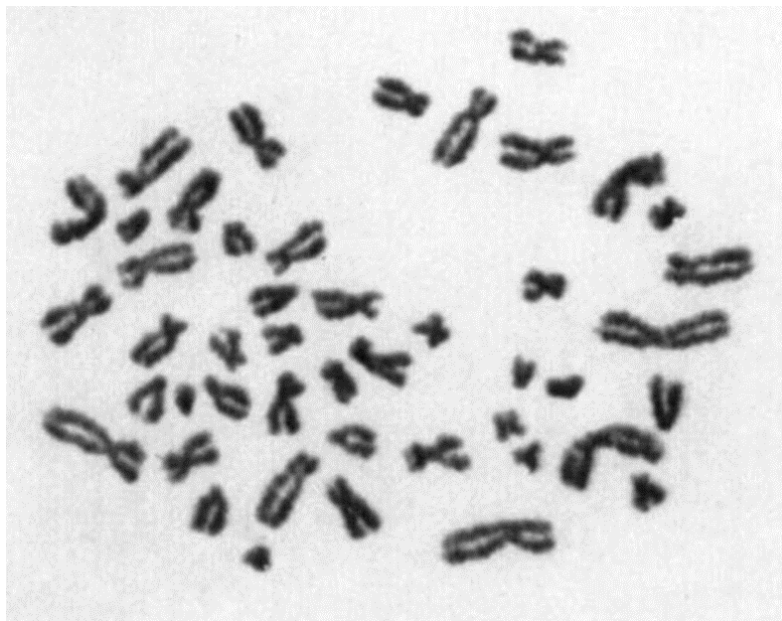


Figura 1. 46 cromosomas en metafase obtenidos de cultivo de fibroblastos de pulmón de embrión humano (Tjio JH y Levan A, 1956).

El nacimiento de la citogenética clínica se da en 1959 cuando Lejeune y colaboradores demostraron que el síndrome de Down es causado por una copia extra del cromosoma 21 (Lejeune J, *et al.*, 1959), mientras que Jacobs y Strong mostraron que un cromosoma X extra es responsable del síndrome de Klinefelter (Jacob PA y Strong JA, 1959). El desarrollo de la citogenética clínica floreció a principios de la década de los 70 al desarrollarse técnicas que permitían teñir cada cromosoma con un patrón único de bandas, llevando a su identificación individual. La primera técnica utilizada fue la tinción con quinacrina que produce un patrón de bandas Q, Lore Zech trabajó en identificar cada cromosoma individualmente con este patrón (Liehr T, 2019). Con el paso del tiempo se crearon nuevas técnicas para el bandeado cromosómico. La tinción diferencial de los cromosomas permitió identificar desviaciones del patrón normal, lo que llevó a identificar anomalías cromosómicas estructurales pequeñas (Martin CL y Warburton D, 2015).

Pardue y Gall fueron los primeros en realizar hibridación *in situ* para mapear secuencias de DNA, es decir para obtener información de la localización de los genes (Pardue ML y Gall JG, 1969). Esta metodología fue usada para asignar los genes ribosomales (rDNA) a las regiones organizadoras nucleolares (NOR) de los brazos cortos de los cromosomas acrocéntricos. Debido a que el marcaje con radioisótopos consumía una gran cantidad de tiempo y era impráctico, se reemplazó con marcaje fluorescente y el uso de microscopios con luz UV. La hibridación *in situ* fluorescente (FISH) se convirtió en la metodología estándar para la detección de deleciones y duplicaciones muy pequeñas, incluso submicroscópicas, responsables de desórdenes genómicos, mediante la utilización de sondas comerciales producidas para ello (Ferguson Smith MA, 2015; Liehr T, 2019).

A partir de esa tecnología se desarrollaron otras metodologías para facilitar la detección de aberraciones, como el pintado reverso (*reverse painting*), SKY (*spectral karyotyping*) o MFISH (FISH multicolor) (Vorsanova SG, *et al.*, 2010). En años más recientes, han surgido nuevos métodos conocidos como de cariotipo molecular que permiten identificar deleciones y duplicaciones submicroscópicas, entre estas están: la hibridación genómica comparativa sobre microarreglos (aCGH) que depende de la comparación del genoma de un paciente con el de un control normal o bien el uso de microarreglos de variantes

de un solo nucleótido (SNV) que tienen la capacidad para detectar también secuencias específicas de variantes en el número de copias (CNV) ya que pueden contener más de un millón de marcadores, esto permite encontrar desbalances muy pequeños en el genoma (< 20 kb), así como regiones con disomía uniparental y genotipificar para las SNV (Emanuel BS y Saitta SC, 2007).

### 1.1.1 Citogenética clásica

Los cromosomas se condensan y se vuelven visibles al microscopio durante la mitosis, tienen una apariencia lineal con dos brazos unidos por un centrómero. Actualmente, reconocemos como un cromosoma en metafase a dos cromátidas hermanas unidas en el centrómero por proteínas de unión (cohesinas) (Ferguson-Smith MA, 2015). Los telómeros, son las regiones que se encuentran en las zonas más distales de los cromosomas, se encargan de sellar los extremos y otorgan estabilidad al material genético. Son estructuras altamente conservadas formadas por repetidos en tándem de la secuencia TTAGGG en humanos (Turnepenny PE y Ellard S, 2012).

El término cariotipo describe los cromosomas de un individuo, tejido o línea celular y puede ser normal o anormal, constitutivo o adquirido y es resultado del análisis ordenado y sistematizado de los cromosomas (ISCN, 2016).

Para su estudio, los 46 cromosomas humanos se asocian en 23 pares de homólogos, un cromosoma de cada par tiene origen materno, mientras que el otro es de origen paterno. Para 22 pares cada miembro (homólogo) tiene exactamente la misma morfología en ambos sexos, a estos se les conoce como autosomas; mientras que el par restante, el par sexual, es diferente: en las mujeres es XX; mientras que los hombres tienen un complemento XY (Nussbaum RL, *et al.*, 2008).

En un cariotipo sin patrón de bandas, los cromosomas se numeran en forma de acuerdo a su tamaño decreciente del 1 al 22, X y Y. Por la posición del centrómero se clasifican como metacéntricos si el centrómero (cen) se encuentra a la mitad del cromosoma, submetacéntricos si el centrómero se localiza intermedio entre la mitad del cromosoma y

el final y acrocéntricos si el centrómero se encuentra cerca de la zona terminal y presenta satélites. Debido a la influencia francesa en la nomenclatura, el brazo corto se designa con la letra p (por *petit*, pequeño) y el largo con la letra q (letra siguiente en el alfabeto) (Nussbaum RL, *et al.*, 2008). Los cromosomas se organizaron en siete grupos (A-G) basados en: (1) el tamaño de cada cromosoma expresado como proporción del tamaño total de un haploide normal (22 autosomas y un cromosoma X); (2) el índice de brazos de los cromosomas, expresado como la relación entre la longitud del brazo más largo y la del brazo corto y (3) el índice centromérico, que expresa la proporción entre el tamaño del brazo corto y el largo total del cromosoma, en un orden descendente del tamaño y la posición del centrómero (Tabla 1) (ISCN, 2016).

Tabla 1. Clasificación de los cromosomas humanos (ISCN, 2016).

| Grupo        | Características   |
|--------------|---|
| A (1-3)      | Cromosomas largos, el 1 y el 3 son metacéntricos y el 2 es submetacéntrico.   |
| B (4-5)      | Cromosomas largos, submetacéntricos.  |
| C (6-12, X)  | Cromosomas de tamaño medio, submetacéntricos. El cromosoma X se encuentra entre los cromosomas más grandes de este grupo. |
| D (13-15)    | Cromosomas de tamaño medio, acrocéntricos con satélites.  |
| E (16-18)    | Cromosomas relativamente pequeños, metacéntrico el 16 y submetacéntricos el 17 y el 18.                                   |
| F (19-20)    | Cromosomas pequeños metacéntricos.  |
| G (21-22, Y) | Cromosomas pequeños, acrocéntricos con satélites. El cromosoma Y no presenta satélites es submetacéntrico.                |

De manera convencional, para facilitar su análisis los cromosomas son capturados en una fotografía y acomodados en pares por tamaño del 1 al 22 con el brazo p hacia arriba. Este tipo de representación se conoce como cariograma (Figura 2). A la representación esquematizada de un cariotipo se le llama idiograma y por lo general, representa el patrón de bandeo correspondiente a cada cromosoma (ISCN, 2016).

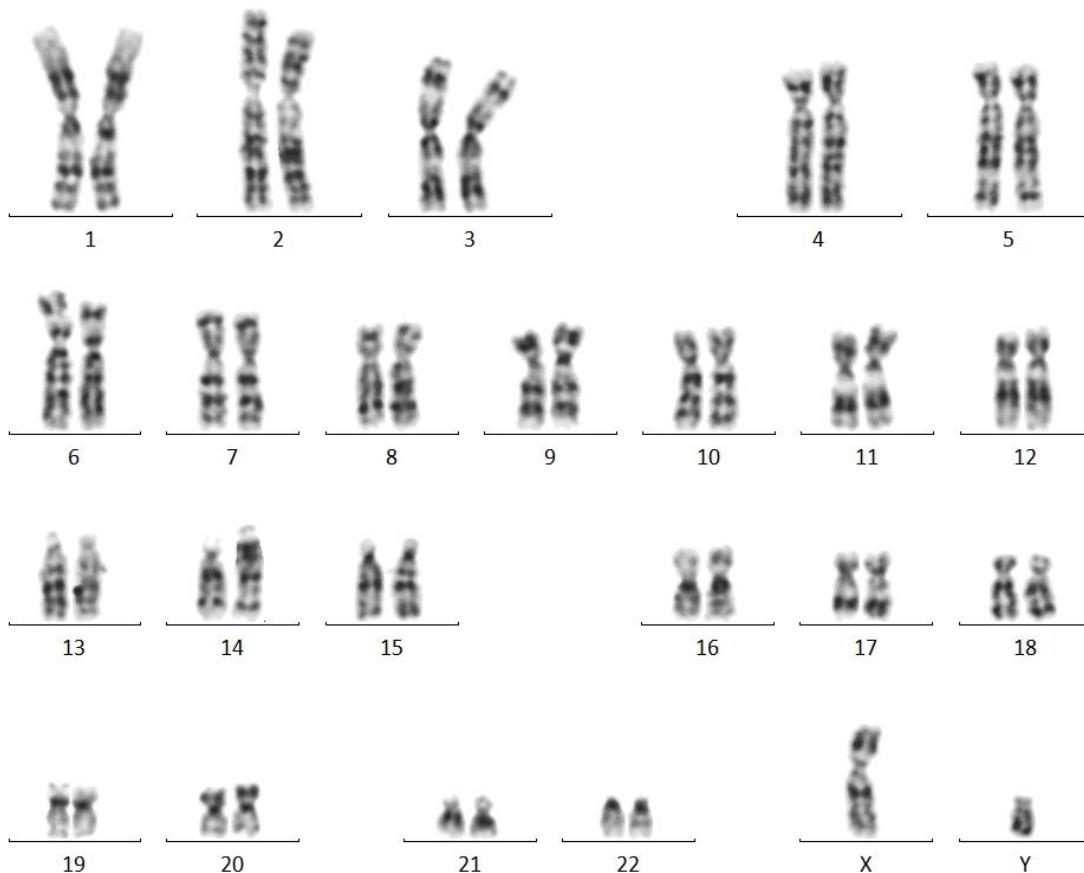


Figura 2. Cariograma 46,XY con bandas GTG de un individuo masculino normal, cortesía de M. en C. Adriana del Castillo Moreno, Servicio de Genética, HGMEL.

El cariotipo con bandas se realiza a partir de células en mitosis que se detienen en metafase, por lo general linfocitos T de sangre periférica. Las metafases obtenidas requieren un tratamiento para generar un patrón de bandas característico, siendo el más utilizado el bandeo GTG (bandas G, con tratamiento con Tripsina para desnaturalizar las proteínas y teñidas con colorante de Giemsa) (Turnepenny PE y Ellard S, 2012). Una

banda se define como la parte de un cromosoma que es claramente distinguible del segmento adyacente pues se observa más clara o más oscura (ISCN, 2016).

Los linfocitos presentan dos propiedades que los convierten en las células de elección para realizar un estudio citogenético: su obtención es sencilla, con mínimo riesgo para el paciente y es fácil estimularlos, mediante un mitógeno para que se dividan y bloquear la división para detenerlos en metafase (ANEXO I). Los cromosomas del pequeño número de linfocitos estudiados se consideran representativos de la constitución de todas las células del cuerpo (McKinlay Gardner RJ, *et al.*, 2012).

Las técnicas citogenéticas se han utilizado para la identificación de anomalías cromosómicas en pacientes con retraso en el crecimiento y desarrollo, discapacidad intelectual, alteraciones del espectro autista, malformaciones congénitas, dismorfias faciales, epilepsia, infertilidad (amenorrea, azoospermia), pérdidas gestacionales recurrentes, así como en enfermedades neoplásicas (Hu J, *et al.*, 2006).

### 1.1.2 Citogenética molecular

Durante la década de los noventa, se desarrollaron las técnicas de citogenética molecular, estas se definen como la fusión entre la citogenética clásica con las técnicas de biología molecular (Romana SP y Vekemans M, 2005). Tienen su fundamento en la capacidad de una hebra sencilla de DNA con una secuencia particular o conocida, llamada sonda, de unirse a una secuencia blanco, a la cuál es complementaria, en un cromosoma en metafase, un núcleo en interfase o en una fibra de cromatina. A este proceso se le conoce como hibridación de ácidos nucleicos (Turnepenny PE y Ellard S, 2012).

La citogenética molecular provee un análisis de alta resolución y específico, de la estructura y comportamiento de los cromosomas en cualquier etapa del ciclo celular, es usada con frecuencia para detectar desbalances cromosómicos y rearrreglos balanceados (Vorsanova SG, *et al.*, 2010).

## Hibridación *in situ* fluorescente (FISH)

Como ya se mencionó la hibridación *in situ*, se utilizó por primera vez en 1969 (Pardue ML y Gall JG, 1969). Desde finales de 1980, las técnicas de FISH se han utilizado para incrementar la sensibilidad en la detección de anomalías submicroscópicas como microdeleciones/microduplicaciones, rearrreglos subteloméricos desbalanceados y en la identificación del origen de cromosomas marcadores (Martin CL y Warburton D, 2015).

En metafases, el FISH da información no solo del número de copias presente sino también de la posición de la sonda, volviéndose el método estándar para mapeo genético. El límite de detección para un FISH puede ser de hasta 50 kb en un análisis de rutina (Martin CL y Warburton D, 2015).

Los cromosomas artificiales de bacterias (BAC), cuyo tamaño aproximado está en 100 kb son muy utilizados para crear sondas de FISH. Las sondas utilizadas para FISH están marcadas con un fluorocromo, por lo que una vez que hibridan con la muestra del paciente, permiten que la región en estudio se observe en un microscopio de fluorescencia que contenga el filtro adecuado para la visualización del fluorocromo (Figura 3). Las sondas se pueden clasificar de acuerdo al tipo de secuencia de DNA que tienen y al patrón de marcas que producirán, tales como: de secuencias repetidas (centrómeros y telómeros), de secuencia específica (para una secuencia de copia única o subteloméricas para cromosomas específicos) y para pintado de un cromosoma completo (Turnepenny PE y Ellard S, 2012; Vorsanova SG, *et al.*, 2010).

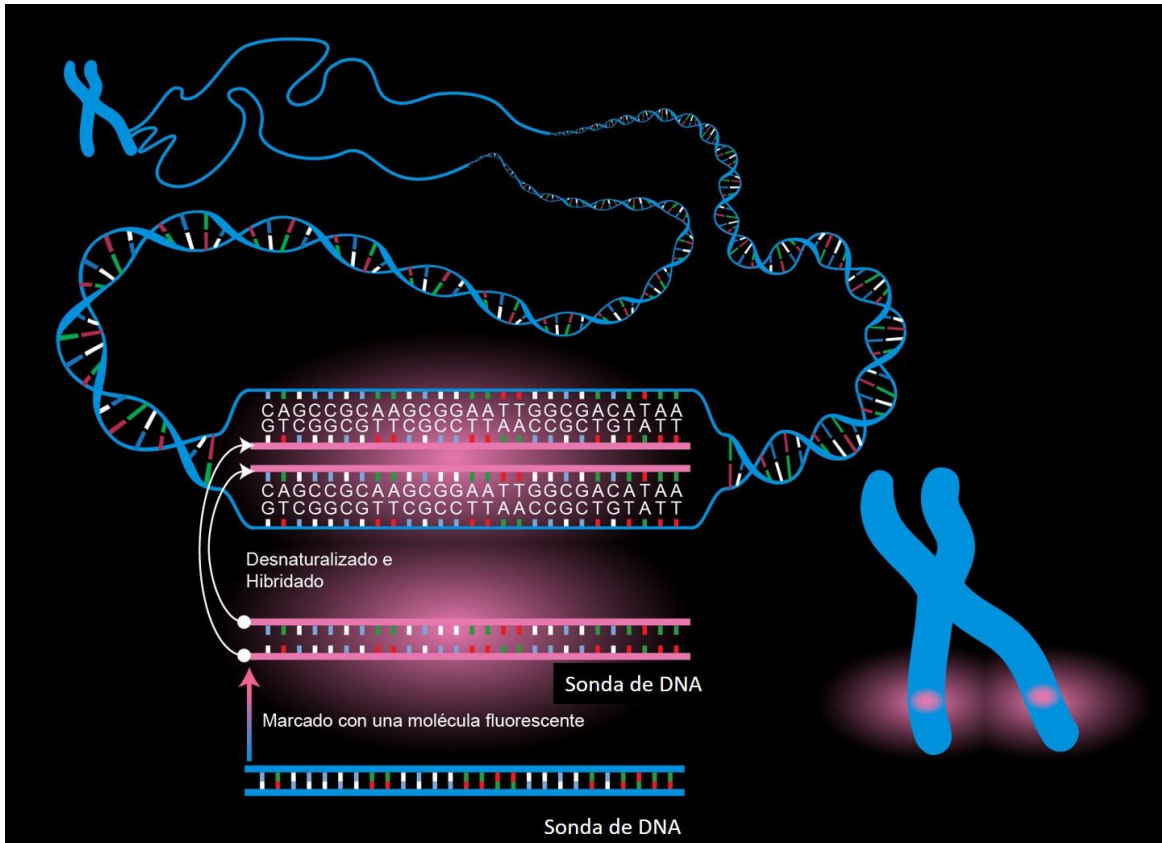


Figura 3. Fundamento de la técnica de Hibridación *in situ* Fluorescente. Una molécula de DNA bicatenaria conocida (sonda), es marcada por síntesis *in vitro* con un fluorocromo. Se desnaturaliza el DNA de la muestra fijada en la laminilla a 70-72°C con la adición de formamida y de la sonda. Se incuba a 37°C en cámara húmeda para que la sonda que se encuentra en mayor cantidad que la cadena de DNA complementaria se una a la secuencia blanco. Se realizan varios lavados modificando concentraciones de sales y/o temperatura para eliminar el exceso de sonda y la hibridación no específica. Se analiza en un microscopio de fluorescencia, la marca del fluorocromo se observa unida su blanco en el cromosoma correspondiente o en los núcleos en interfase (modificado de Green ED, 2015).

Existe una gran cantidad de fluorocromos disponibles, cada uno se caracteriza por un espectro de emisión y uno de excitación, el uso de un fluorocromo como señal única o de varios fluorocromos simultáneos depende de la distancia en el espectro y de la instrumentación (microscopio de epifluorescencia con los filtros correspondientes) (Speicher MR, 2005).

A partir del FISH con sondas para pintado de cromosomas completos se han desarrollado otras técnicas con el mismo principio. En el pintado reverso se clona y se marca el DNA



de un cromosoma anormal y se hibrida contra metafases normales para revelar el origen del DNA presente, por ejemplo, en un cromosoma marcador o en un derivativo que presente material adicional (Ferguson Smith MA, 2015).

En otro método, el M-FISH se combinan sondas para el pintado de los 24 cromosomas humanos; las sondas para cada cromosoma se marcan con una combinación diferente de 5 ó 6 colorantes fluorescentes que absorben y emiten luz UV con distintas longitudes de onda, su análisis se realiza mediante un programa especializado (Nussbaum RL, *et al.*, 2008).

### Cariotipo molecular

El cariotipo molecular se realiza a partir de material genético que no se encuentra en división celular, el DNA genómico se extrae de la muestra problema. Se basa en dos métodos: CGH sobre microarreglos y microarreglos que contienen SNV y CNV específicas (Shah MS, 2017).

Las plataformas comerciales de placas o microarreglos están construidas en un microarreglo bidimensional en el cual se fijan entre decenas de miles a más de 1 millón de SNV o sondas para secuencias específicas distribuidas a lo largo de todo el genoma. Las sondas pueden ser BAC (80-200 kb) u oligonucleótidos (25-85 bp), el límite de detección de un microarreglo está dado por el número de sondas que contiene y la distancia a la que se encuentran unas de otras en los cromosomas, para los arreglos de SNV se tienen al menos dos sondas para el mismo *locus* que caracterizan a los alelos conocidos (Emanuel BS y Saitta SC, 2007; Xin-Yan L, *et al.*, 2012).

### Microarreglos de CGH (aCGH)

Inicialmente, en la técnica de hibridación genómica comparativa (CGH) se requería hibridar sobre metafases normales DNA genómico del paciente marcado con un fluorocromo verde y un DNA control marcado con fluorocromo rojo de manera competitiva. Actualmente, la CGH se realiza sobre microarreglos para obtener un análisis

del genoma con mayor resolución, utilizando el mismo principio (Turnepenny PE y Ellard S, 2012).

Al hibridar ambas muestras en la misma cantidad sobre la placa del microarreglo se pueden observar pérdidas y ganancias de material genético por el color detectado. De manera estándar si el número de copias entre el DNA control y el DNA del paciente es igual el cromosoma se presentará de color amarillo o blanco (sobre lapamiento de misma cantidad de rojo y verde) realizado por el programa, si el genoma del paciente presenta ganancia se observará de color verde, debido a que el material genético del paciente hibrida preferentemente al estar en exceso el material de ese *locus* y si presenta pérdidas se observa de color rojo, debido a que el DNA control marcado de rojo hibridará en mayor proporción (Figura 4) (Turnepenny PE y Ellard S, 2012; McKinlay Gardner RJ, *et al.*, 2012).

Los aCGH han demostrado ser una herramienta poderosa para detectar las CNV; sin embargo, rearrreglos balanceados como translocaciones e inversiones no son detectadas usando esta metodología. Aunque los aCGH proveen de un alto nivel de resolución desde una perspectiva diagnóstica, la mayor dificultad con su interpretación es asignar a las CNV un significado clínico con relación al fenotipo de la patología en la que se detectan (Emmanuel BS y Saitta SC, 2007).

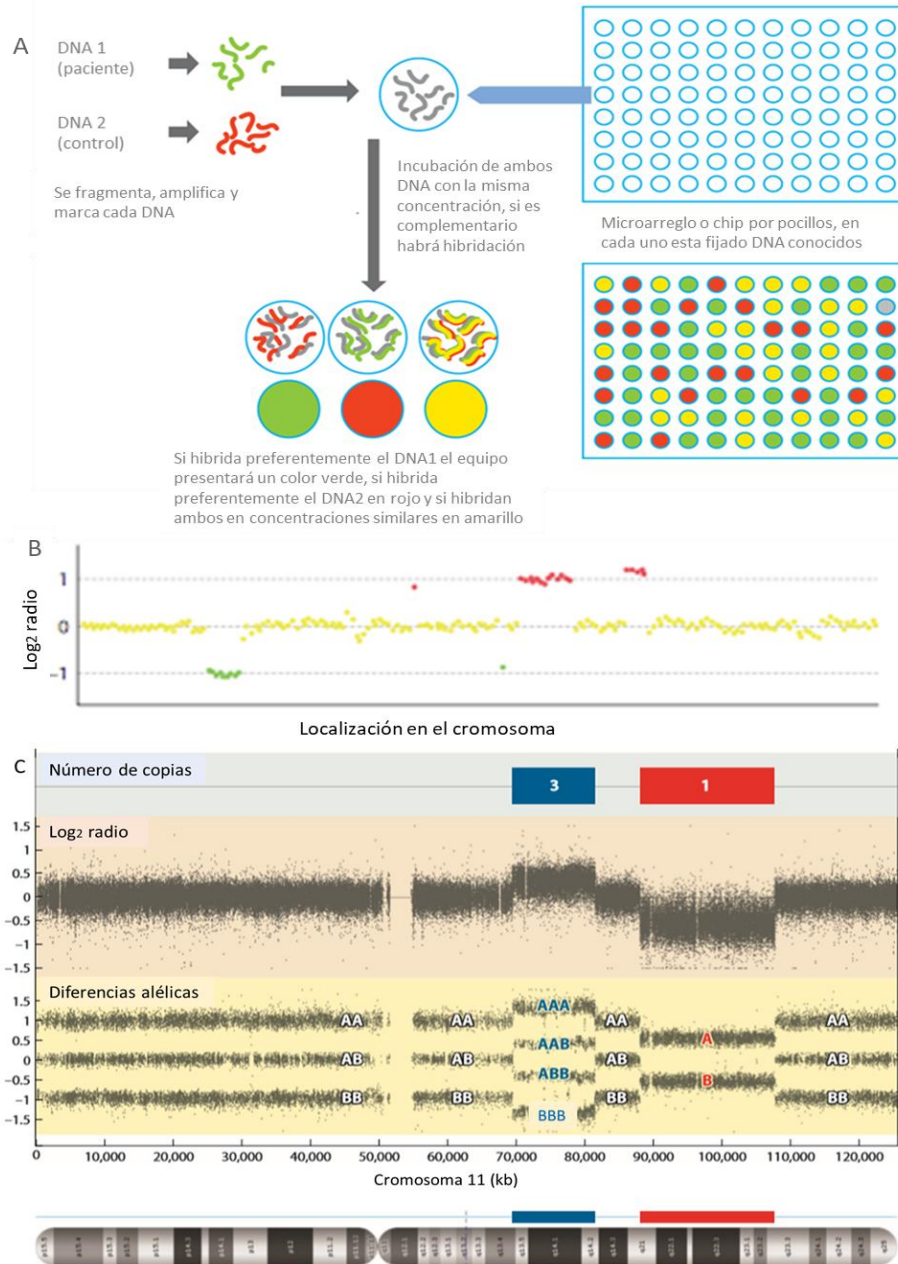


Figura 4. Fundamento de microarreglos de CGH. A) Se realiza a partir de dos muestras de DNA, las cuales son fragmentadas y amplificadas, el DNA del paciente que se marca con un fluorocromo verde y el DNA control que se marca con un fluorocromo rojo. Ambas muestras se colocan en la misma concentración en cada pocillo del microarreglo donde tiene fijado un DNA conocido. Si presenta una secuencia complementaria el DNA hibrida, el equipo detecta la señal emitida por el fluorocromo de la sonda que hibrido. B) Ejemplo de resultado de un aCGH, las lecturas individuales para cada fluorocromo son superpuestas por el equipo produciendo una gráfica. C) Resultado de un microarreglo de SNV, presenta al igual que el aCGH el número de copias en una región y adicionalmente la variante alélica detectada. (modificado de Salazar Montes AM, Sandoval Rodríguez AS y Armenáriz Borunda JS, 2014; Martin CL y Warburton D, 2015).

## Microarreglos de SNV

Los microarreglos de SNV detectan pérdidas y ganancias en el genoma completo igual que los aCGH, además genotifican para los SNV incluidos. Utilizando un programa para el análisis de los alelos, se puede detectar heterocigocidad, si se presentan dos alelos diferentes, homocigocidad si la hibridación se da en un solo alelo y la existencia de tres alelos diferentes en un *loci* específicos (Figura 4C) (Martin CL y Warburton D, 2015).

La detección de homocigocidad puede ser aparente e indicar pérdida de DNA, como una deleción y la presencia de tres alelos pueden indicar ganancia en el número de copias como una duplicación o trisomía. Este tipo de arreglos tienen la ventaja de detectar regiones con pérdida de heterocigocidad (como cuando los alelos presentes en los cromosomas homólogos provienen de un mismo cromosoma) lo que puede indicar la presencia de regiones con disomía uniparental; que se define como la presencia de una línea celular disómica que contiene dos cromosomas (o porciones del cromosoma) heredados únicamente de uno de los progenitores (Martin CL y Warburton D, 2015; McKinlay Gardner RJ, *et al.*, 2012).

## 1.2 ABERRACIONES CROMOSÓMICAS

Las aberraciones cromosómicas son cambios en el número o estructura de los cromosomas producidos durante la meiosis o en las mitosis posteriores a la fecundación que provocan una anomalía constitutiva. En las numéricas el número diploide normal se modifica, mientras que en las estructurales, por lo general, el número diploide se mantiene, pero como su nombre lo indica la estructura de los cromosomas sufre cambios como resultado de una o más rupturas en su DNA de doble cadena y una incorrecta unión posterior (McKinlay Gardner RJ, *et al.*, 2012).

### 1.2.1 Aberraciones numéricas y mecanismos de producción

Las aberraciones numéricas se dividen en euploidías y aneuploidías. Las euploidías son aquellas donde el número de cromosomas en la célula es un múltiplo exacto del número haploide ( $n$ ) diferente al número normal de cromosomas de una especie, como aquellas

en donde se gana uno o más complementos haploides, conocidas como poliploidías (triploidía  $3n$  o tetraploidía  $4n$ ). En las aneuploidías, la célula presenta un número cromosómico diferente a un múltiplo exacto del número haploide (Potapova T y Gorbsky GJ, 2017).

Las triploidías resultan cuando se tienen 3 complementos haploides, mientras que las tetraploidías constan de 4 complementos haploides. Las poliploidías por lo general resultan en un aborto espontáneo de primer trimestre, y constituyen hasta 15% de los abortos antes de la semana 12 de gestación. De las triploidías de origen paterno (triploidía androgénica), el 90% de los casos se da por fertilización dispérmica y solo el 10% se da por la fertilización de un óvulo haploide por un espermatozoide diploide. La triploidía por diginia es resultado de la fertilización de un óvulo diploide que se produjo por un error durante la meiosis I ó II (Kubelka-Sabit K, *et al.*, 2017).

En humanos, la aneuploidía durante la meiosis es la principal causa de infertilidad, pérdidas gestacionales y defectos congénitos al nacimiento (Potapova T y Gorbsky GJ, 2017). Hasta 35% de los embarazos clínicamente reconocidos son aneuploides, y en embriones preimplantación la proporción es sustancialmente más alta (Capalbo A, *et al.*, 2017).

La pérdida de un cromosoma se denomina monosomía, mientras que la ganancia de un cromosoma se conoce como trisomía. La única monosomía compatible con la vida es la monosomía del cromosoma X o síndrome de Turner, sin embargo, el 98% se abortan durante el primer trimestre del embarazo. Las trisomías compatibles con la vida son aquellas que involucran al par sexual y a los autosomas 21, 18 ó 13. Una trisomía pura de otro autosoma resulta en un aborto espontáneo, si bien algunas pueden llegar a sobrevivir cuando se presentan en forma de mosaico, como la trisomía 8 (Nussbaum RL, *et al.*, 2008).

Un mosaico se define como la presencia de dos o más líneas celulares diferentes que coexisten en un solo individuo y son provenientes de un solo cigoto; es decir son genéticamente idénticas con excepción de una aneuploidía o una mutación (McKinlay Gardner RJ, *et al.*, 2012). Un mosaicismo cromosómico general indica la presencia de

dos o más líneas celulares en todo el organismo, la aneuploidía en cuestión se deriva de un evento mitótico en los primeros días del desarrollo embrionario, previo a la diferenciación celular. Un mosaicismo confinado es aquel que sólo se presenta en un área o tejido en particular y se da más adelante durante el desarrollo embrionario (Taylor TH, *et al.*, 2014).

La principal causa de aneuploidía en los humanos es la ocurrencia de errores en la meiosis materna. Se estima que 20-25% de los ovocitos secundarios son aneuploides, estos errores se incrementan dramáticamente conforme la edad avanza. Mientras que sólo el 2% de los espermatozoides resultan aneuploides (Touati, SA y Wassman K, 2016).

La meiosis involucra dos divisiones sucesivas de la célula germinal sin una fase S intermedia, en ellas los cromosomas homólogos (meiosis I) y las cromátidas hermanas (meiosis II) se separan para producir células haploides o gametos (Zanders SE y Malik HS, 2015). Durante la meiosis I se da la recombinación meiótica, mediante la producción de rupturas de doble cadena y su posterior resolución como entrecruzamientos. La recombinación resuelta como entrecruzamiento en el contexto del complejo sinaptonémico, cumple dos funciones: incrementar la diversidad genética en la población y proveer una conexión física (quiasma) que mantiene a los cromosomas homólogos unidos en una sola unidad bivalente, configuración crítica para una adecuada segregación durante la meiosis I. En la meiosis materna los quiasmas se establecen en las etapas tempranas del desarrollo del ovocito durante la etapa fetal (MacLennan M, *et al.*, 2015; Capalbo A, *et al.*, 2017).

El vínculo físico entre los cromosomas homólogos, en combinación con la mono-orientación de los centrómeros hermanos, permite generar tensión cuando los centrómeros homólogos se unen a polos opuestos del huso y su alineamiento durante metafase I. Se requiere de al menos un quiasma entre cada par de cromosomas homólogos para asegurar una segregación balanceada en meiosis I (MacLennan M, *et al.*, 2015). Existe una correlación negativa entre el número de entrecruzamientos y la no disyunción de los cromosomas homólogos. Las mutaciones que causan un decremento en los entrecruzamientos también aumentan la frecuencia de no disyunción (Radford SJ, *et al.*, 2016), la falla para completar entrecruzamientos en el ovocito contribuye a la

formación de un óvulo aneuploide sin un efecto de edad materna (MacLennan M, *et al.*, 2015).

Durante la meiosis, la cohesión entre las cromátidas hermanas se libera en dos etapas. En anafase I, la liberación de las cohesinas en las zonas distales permite la separación de los cromosomas homólogos cuyos brazos han intercambiado segmentos mediante la recombinación. Durante la meiosis II, las cohesinas centroméricas que mantienen los cinetocoros hermanos unidos son degradadas, permitiendo a las cromátidas hermanas moverse hacia polos opuestos (Potapova T y Grobsky GJ, 2017).

Cuando los cromosomas se replican en fase S, las cromátidas hermanas se unen por un mecanismo llamado cohesión de cromátidas hermanas, en mamíferos este mecanismo está mediado por cohesinas. El complejo cohesina está formado por proteínas altamente conservadas, posee tres subunidades que unen las dos moléculas de DNA (Figura 5). Estas incluyen un núcleo heterodimérico formado por dos proteínas SMC (*Structural Maintenance of Chromosomes*), SMC1 (SMC1 $\beta$  en meiosis) y SMC3 en forma de V, y una subunidad de kleisina que cierra y estabiliza la estructura tipo anillo (REC8 y RAD21L en meiosis) a la cual pueden asociarse otras proteínas (Figura 5) (MacLennan M, *et al.*, 2015; Ishiguro K, 2018).

Durante la anafase I, la separasa escinde la subunidad REC8 permitiendo la segregación de los cromosomas homólogos. La proteína shugoshina (SGO) previene la escisión de REC8 en la región pericentromérica, manteniendo a las cromátidas hermanas unidas durante la meiosis I (Webster A y Schuh M, 2017; Ishiguro K, 2018).

En mujeres la meiosis II se completa posterior a la fertilización del óvulo, es durante esta etapa que las proteínas SGO se relocalizan en los cinetocoros permitiendo que las cohesinas centroméricas sean degradadas por la separasa y las cromátidas hermanas se segregan entre el óvulo y el segundo cuerpo polar para completar la meiosis (Webster A y Schuh M, 2017).

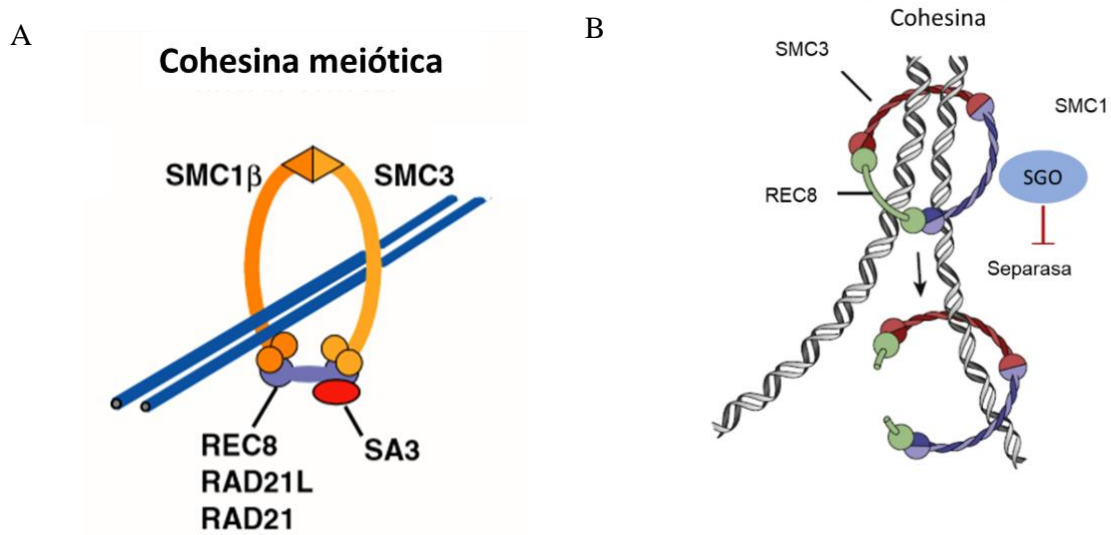


Figura 5. A) Esquema de la estructura de la cohesina meiótica humana. Se forma un anillo con un heterodímero de proteínas SMC (SMC3 y SMC1 $\beta$ ) y REC8 (modificado de Ishguro K, 2018). B) Apertura de cohesina provocada por la escisión de REC8 por la separasa, la presencia de shugoshina (SGO) impide la acción de la separasa (modificada de Webster A y Schuh M, 2017).

Existen dos sucesos que son los causantes de los errores en la segregación cromosómica en la meiosis, la no disyunción (Figura 6B) y la separación prematura de cromátidas hermanas (SPCH) (Figura 6C). Durante la no disyunción, los cromosomas homólogos o las cromátidas hermanas fallan en separarse y segregan juntos; mientras que en la SPCH la ganancia o pérdida es de una sola cromátida durante la meiosis I y hay una segregación independiente de las cromátidas hermanas durante la meiosis II. Los estudios en los cuerpos polares sugieren que los errores debidos a la SPCH son más comunes que aquellos debidos a una no disyunción verdadera (Webster A y Schuh M, 2017).



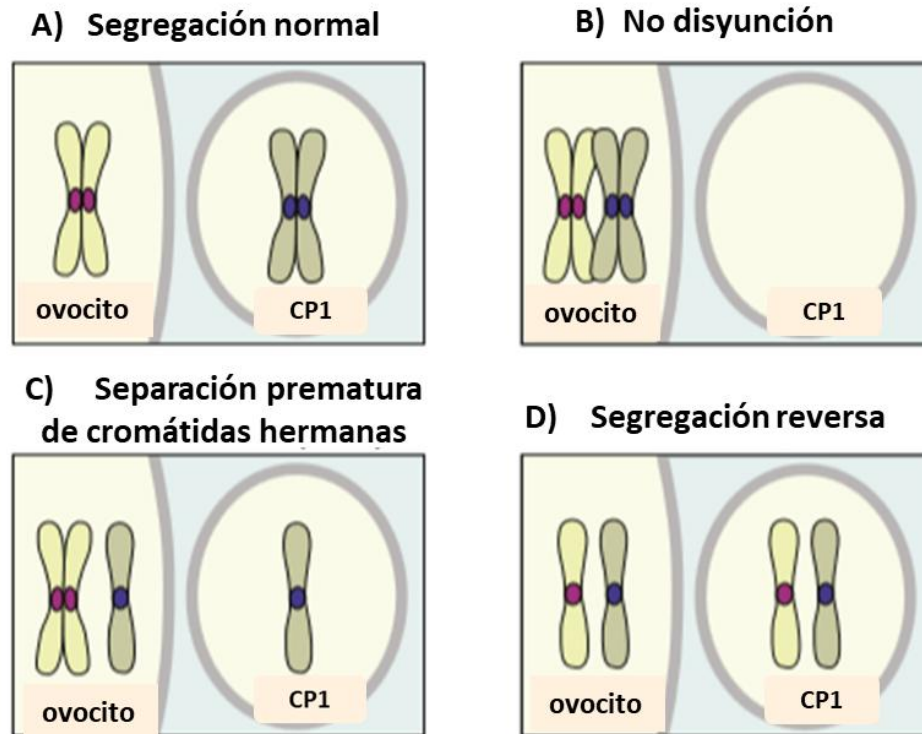


Figura 6. A) Segregación normal B) No disyunción C) Separación prematura de cromátidas hermanas y D) Segregación reversa. CP1 corpúsculo polar 1 (modificada de Webster A y Schuh M, 2017).

La segregación reversa (Figura 6D) es un fenómeno que se presenta conforme la edad de la mujer se incrementa. En ésta las cromátidas hermanas se separan durante meiosis I manteniendo el número de cromosomas correcto (Figura 6A) y durante la meiosis II se mantienen dispersos por lo que existen problemas al alinearse en el huso y la segregación puede resultar errónea (Webster A y Schuh M, 2017). Las evidencias sugieren que la cohesión entre cromátidas hermanas se ve comprometida por un efecto de edad materna. Las cohesinas y sus reguladores como shugoshina 2 (SGO2) decaen en los ovocitos de mamíferos con la edad, permitiendo una SPCH y una segregación al azar en meiosis II (Potapova T y Grobsky GJ, 2017; Capalbo A, *et al.*, 2017).

Alteraciones en la segregación ocurren en proporción similar en meiosis I y II. Sin embargo, las aberraciones en meiosis II suelen tener una mayor presencia pues algunos errores en meiosis I sólo se vuelven aparentes en meiosis II. También existe la posibilidad de un “rescate” durante la meiosis II al balancearse los errores de la meiosis I, en donde ambos cuerpos polares comparten alteraciones recíprocas (pérdida de cromosomas en

un cuerpo polar y ganancia de cromosomas en el otro) por lo que el óvulo correspondiente tiene un número cromosómico correcto (Taylor TH, *et al.*, 2014).

Si una célula presenta trisomía, un rezago en la anafase puede “corregir” la trisomía, regresando a una disomía, a este proceso se le llama rescate trisómico. Este rescate no sucede en todas las células; sin embargo, las células euploides tienen una tasa de crecimiento mejor que la de las células aneuploides, llevando a la formación de un mosaico. Otro mecanismo que puede producir un mosaico aneuploide/diploide puede ser por un error en la segregación mitótica causando la formación de una o dos líneas celulares aneuploides (Taylor TH, *et al.*, 2014).

### 1.2.2 Aberraciones estructurales y sus mecanismos de producción

Los rearrreglos estructurales de los cromosomas son resultado de rupturas cromosómicas seguidas de una reunión con una configuración diferente y pueden ser balanceados o desbalanceados. Los rearrreglos balanceados son aquellos en los que la cantidad de material genético no cambia y los individuos portadores suelen tener un fenotipo normal. Existe otro tipo de rearrreglos en los cuales la cantidad del material genético ha cambiado por delección o duplicación de fragmentos, estos son los rearrreglos desbalanceados y suelen producir un fenotipo anormal (Muss B y Schwanitz G, 2007). Las aneusomías segmentarias, también conocidas como desórdenes genómicos, se dan cuando una región del cromosoma se pierde, duplica o transloca de un cromosoma a otro (Figura 7) (Potapova T y Gorbsky GJ, 2017).

La unión del material genético posterior a una ruptura se da por medio de mecanismos de reparación del DNA. Los organismos han evolucionado para crear formas de proteger su material genético de agentes nocivos (Spivak G, 2015). Los rearrreglos recurrentes suelen estar mediados por una recombinación homóloga no alélica (NAHR de sus siglas en inglés *non allelic homologous recombination*), los puntos de ruptura están flanqueados por secuencias repetidas de bajo número de copias (LCR de sus siglas en inglés, *low copy repeats*) en el genoma. En contraste los rearrreglos esporádicos no recurrentes, se caracterizan por puntos de ruptura localizados al azar y derivan generalmente de

mecanismos como la unión de extremos no homólogos (NHEJ *non homologous end joining*) y otros asociados a errores en la replicación como bloqueo de la horquilla y cambio de templado (FoSTeS de sus siglas en inglés *Fork stalling and template switching*) y replicación inducida por ruptura y mediada por microhomología (MMBIR, *microhomology-mediated break-Induce replication*) que pueden resultar en deleciones, duplicaciones y triplicaciones de segmentos, que pueden ser tan largos como brazos completos de cromosomas (Kloosterman WP y Hochstenbach R, 2014; Nazaryan-Petersen L, *et al.*, 2016).

### Translocaciones

Una translocación se refiere a la transferencia de material genético de un cromosoma a otro (Turnepenny PE y Ellard S, 2012). Durante el proceso de formación de una translocación ocurre una ruptura en el brazo de un cromosoma y el material distal cambia de posición con otro segmento de DNA (Figura 7A), este rearrreglo puede ser promovido por la presencia en ambos segmentos de una secuencia de DNA similar. Los cromosomas rearrreglados se nombran cromosomas derivativos y el número que lleva es del centrómero correspondiente. El número de cromosomas suele mantenerse en 46 y cada traslocación resulta única por familia o individuo. Este tipo de rearrreglos tiene una incidencia de 1 en 500 recién nacidos vivos (McKinlay Gardner RJ, *et al.*, 2012).

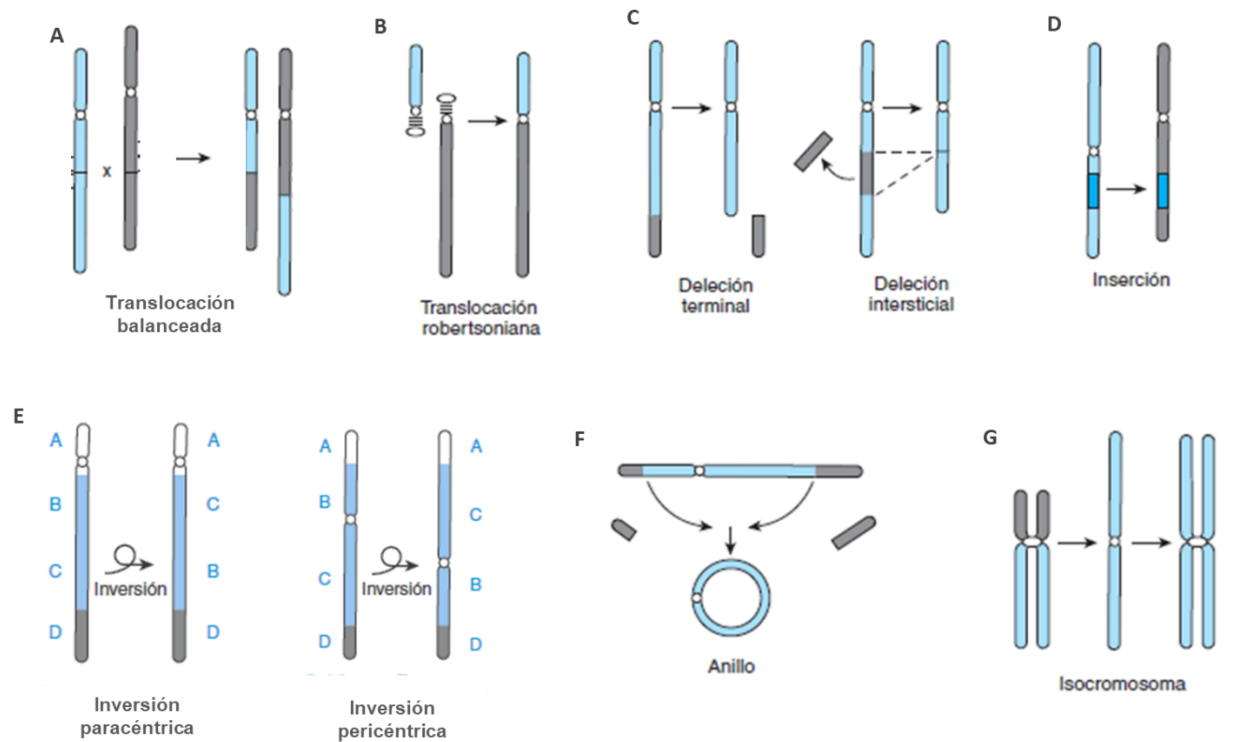


Figura 7. Esquema de los rearrreglos cromosómicos estructurales (modificado de Nussbaum RL, *et al.*, 2008).

Las implicaciones de las translocaciones balanceadas en el fenotipo se presentan debido a su segregación durante la meiosis. Los problemas para segregar durante la meiosis I se producen debido a que se debe formar una estructura llamada cruz de paquitenio o cuadrivalente, cuyo propósito es que cada cromosoma se alinee con su material homólogo para poder recombinar. Pueden generar gametos balanceados o desbalanceados (Figura 8) (Turnepenny PE y Ellard S, 2012).

Cuando los cromosomas en el cuadrivalente se separan durante la meiosis la segregación se puede dar de diferentes maneras. En una segregación 2:2, si los cromosomas alternos segregan a cada gameto, el gameto tendrá un complemento normal o un haplotipo balanceado. Sin embargo, si se produce una segregación adyacente invariablemente resultará en un haplotipo desbalanceado. En una segregación adyacente-1, los cromosomas con centrómeros no homólogos viajan a la misma célula, esta es la segregación errónea más frecuente en la descendencia. En una segregación adyacente-2 los cromosomas con centrómeros homólogos van a la misma

célula hija, en forma similar a una no disyunción (Figura 8) (Turnepenny PE y Ellard S, 2012).

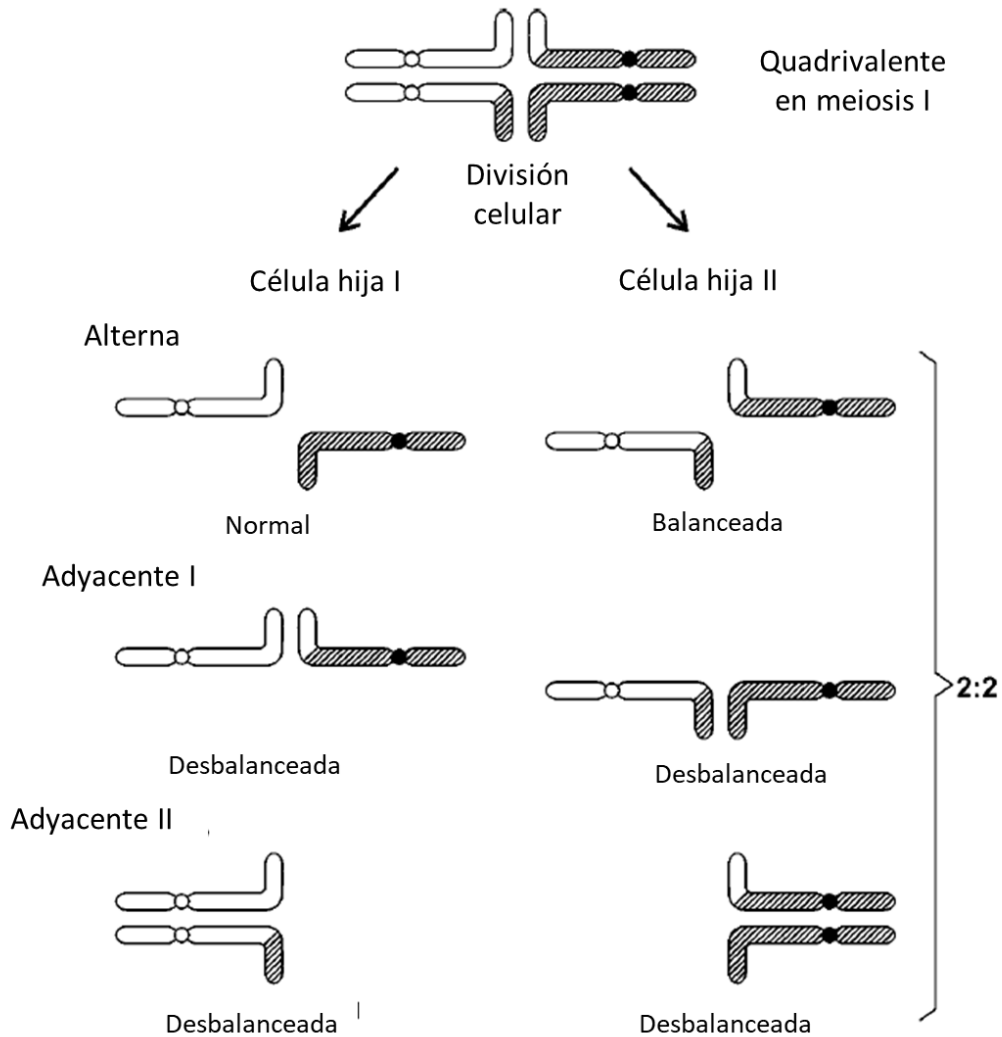


Figura 8. Segregaciones cromosómicas 2:2 posibles posteriores a la formación de una cruz de paquitenio en un portador de una translocación recíproca balanceada (modificado de McKinley Gardner RJ, *et al.*, 2012).

Una segregación de la traslocación 3:1 tiene lugar por una no disyunción en el cuadrivalente generando gametos con 24 y 22 cromosomas respectivamente, existen cuatro posibles segregaciones 3:1. Y la segregación 4:0 también llega a suceder. En general, solo el cigoto con 47 cromosomas puede llegar a ser viable (McKinlay Gardner RJ, *et al.*, 2012).

## Translocación robertsoniana

Una translocación robertsoniana es el resultado de la ruptura en/o cercana del centrómero en dos cromosomas acrocéntricos (grupos D y G), con la subsecuente fusión de los brazos largos (Figura 7B). Los brazos cortos de cada cromosoma se pierden, sin que esto tenga importancia clínica pues contienen genes para RNA ribosomal (rDNA), que se encuentran en copias múltiples en los otros cromosomas acrocéntricos, en secuencias de DNA satélite. El número total de cromosomas se reduce a 45, y ya que solo existe pérdida de material genético redundante se considera un rearrreglo balanceado (Turnepenny PE y Ellard S, 2012).

Las translocaciones robertsonianas tienen una incidencia en la población general de 1 en 1000 siendo la más frecuente la t(13q;14q) con una incidencia de 1 en 1300. Al igual que en las translocaciones balanceadas, su importancia clínica se observa en la descendencia, pues al segregar pueden formar gametos anormales que conducen a abortos espontáneos o dependiendo del cromosoma acrocéntrico involucrado en la translocación pueden ocasionar trisomía 21 (síndrome de Down) o trisomía 13 (síndrome de Patau). Actualmente también resulta relevante en el aspecto clínico la disomía uniparental de los cromosomas 14 y 15, secundaria a una translocación robertsoniana entre homólogos, debido a que estos cromosomas presentan impronta (McKinlay Gardner RJ, *et al.*, 2012).

## Deleciones

Una deleción involucra la pérdida de material genético de un segmento de cromosoma y resulta en una monosomía parcial del cromosoma implicado. Las deleciones pueden ser terminales o intersticiales dependiendo de los puntos de ruptura (Figura 7C). Actualmente se dividen en deleciones “grandes” que pueden ser observadas al microscopio en un cariotipo con técnicas de bandeo y deleciones submicroscópicas que se identifican mediante un cariotipo de alta resolución o por medio de un estudio molecular como FISH o microarreglos (Turnepenny PE y Ellard S, 2012).

Una deleción muy grande suele ser incompatible con la vida, en general cualquier pérdida mayor al 2% del total del genoma haploide resulta letal (Turnepenny PE y Ellard S, 2012). Las deleciones autosómicas citogenéticamente visibles, tienen una incidencia aproximada de 1/7000 nacidos vivos. Las deleciones submicroscópicas son más frecuentes, por ejemplo, la deleción 22(q11.2q11.2) alcanza una frecuencia de 1 en 2,500 (Nussbaum RL, *et al.*, 2008).

### Inserciones

Una inserción ocurre cuando un segmento de un cromosoma se introduce dentro de otro cromosoma y son difíciles de detectar mediante citogenética con técnicas de bandeo. Una inserción simple es resultado de tres rupturas, dos rupturas que retiran un segmento intersticial de un cromosoma que es insertado en un espacio creado por una tercera ruptura, y se consideran rearrreglos complejos por implicar 3 rupturas cromosómicas (Figura 7D) (McKinlay Gardner RJ, *et al.*, 2012).

Los portadores de una inserción tienen 50% de riesgo de producir gametos desbalanceados, ya que el 25% de sus gametos tendrán el cromosoma que carece de un segmento (deleción) y 25% la ganancia de ese segmento al portar el cromosoma con la inserción, pero no ambos (Turnepenny PE y Ellard S, 2012).

### Inversión

Una inversión es una aberración estructural de los cromosomas que resulta de dos rupturas intracromosómicas y su posterior rearrreglo. Posterior a los eventos de ruptura en un cromosoma, el segmento entre ellos rota 180 grados y se reinserta en el cromosoma (Figura 7E). El nuevo cromosoma consiste de un segmento invertido y está flanqueado por dos regiones distales no invertidas, en general este tipo de rearrreglos estructurales es balanceado. La mayoría de los individuos portadores de una inversión cromosómica son fenotípicamente normales. En inversiones complejas otros rearrreglos

del mismo cromosoma como translocaciones o deleciones/duplicaciones ocurren en combinación con la inversión (Muss B y Schwanitz G, 2007).

Las inversiones son de dos tipos: paracéntricas si ambas rupturas se producen en el mismo brazo y no incluyen al centrómero y pericéntricas en las que existe una ruptura en cada brazo e incluyen el centrómero. Las inversiones pericéntricas son más fáciles de identificar pues cambian tanto el patrón de bandas como la longitud de los brazos del cromosoma, mientras que las paracéntricas solo modifican el bandeo y a veces el cambio no es notorio (Nussbaum RL, *et al.*, 2008).

Durante la meiosis de una inversión pericéntrica ocurre frecuentemente una aneusomía por recombinación ya que se da un entrecruzamiento entre el cromosoma invertido y su homólogo normal en el segmento invertido. Las personas con una inversión paracéntrica solo tendrán hijos con cariotipo normal o con la inversión balanceada; esto debido a que si hay recombinación en el segmento invertido se obtiene un segmento acéntrico o un cromosoma dicéntrico, que por lo general producen cigotos o embriones no viables (McKinlay Gardner RJ, *et al.*, 2012).

Por lo general, durante la recombinación en una inversión pericéntrica se forma un modelo de asa reversa que permite a los alelos complementarios del bivalente aparearse lo mejor posible entre el segmento invertido y su homólogo normal. Cuando se produce al menos un entrecruzamiento en el asa, se generan dos cromosomas recombinantes (Figura 9). En los cromosomas resultantes se tiene una trisomía parcial del segmento distal y una monosomía parcial del otro segmento distal. En general, el gameto que porte el cromosoma que presente menor tamaño en su monosomía producirá un cigoto viable. (McKinlay Gardner RJ, *et al.*, 2012)



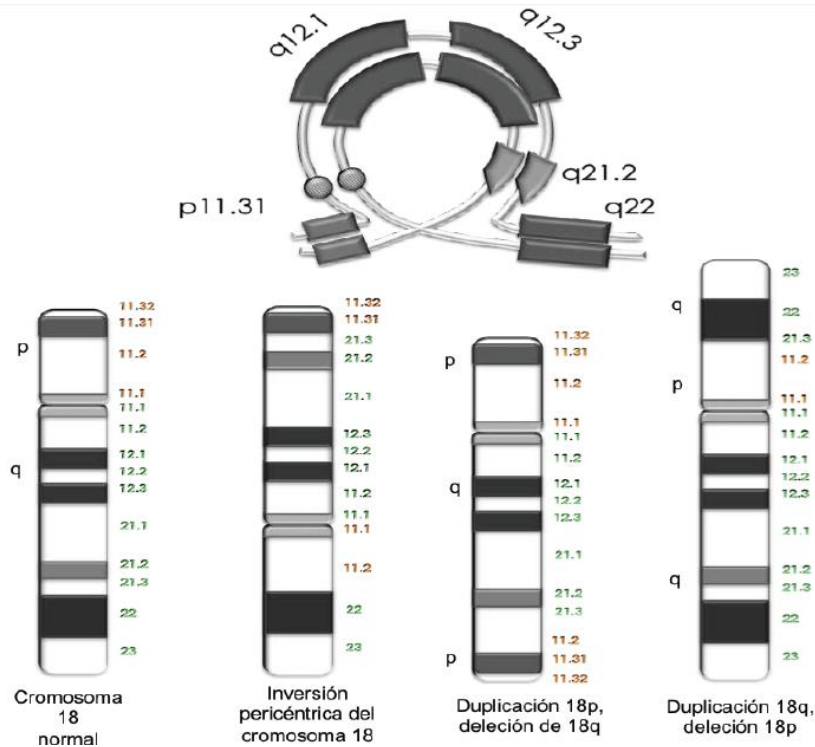


Figura 9. Recombinación y segregación en una inversión pericentromérica del cromosoma 18 (modificado de Villaseñor-Domínguez A, 2016).

## Anillos

Un cromosoma en anillo se forma cuando ocurre una ruptura en cada brazo dejando extremos “pegajosos”, que se unen formando un anillo (Figura 7F), el material distal del cromosoma se pierde, por lo que tendrá efectos en el fenotipo de ese organismo. Otro mecanismo implicado en su formación es la fusión de los telómeros del cromosoma. Los cromosomas en anillo suelen ser inestables durante la mitosis, por lo que es común encontrar el anillo únicamente en una proporción de las células y en las otras puede haber monosomías y trisomías para ese cromosoma, lo cual puede resultar en letalidad de esas células. A esto se le conoce como mosaicismo dinámico (Turnepenny PE y Ellard S, 2012).

## Isocromosomas

Un isocromosoma muestra la pérdida de un brazo y la duplicación del otro (Figura 7G). El hallazgo más común es un isocromosoma del brazo largo del cromosoma X que se encuentra presente hasta en 15% de las pacientes con síndrome de Turner (Turnepenny PE y Ellard S, 2012). Se han descrito varios mecanismos para la formación de un isocromosoma: un error en la división del centrómero en meiosis II ó mitosis, un intercambio en la porción proximal, adyacente al centrómero, en un brazo de un cromosoma y su homólogo, o su cromátida hermana, formando cromosomas isodicéntricos (Nussbaum RL, *et al.*, 2008) y la reparación por FoSTeS y MMBIR (Koumbaris G, *et al.*, 2011).

## 1.3 CARACTERÍSTICAS DEL CROMOSOMA 18 Y LOS SÍNDROMES SECUNDARIOS A SUS ABERRACIONES

### 1.3.1 Características del cromosoma 18

El cromosoma 18 pertenece al grupo E en la nomenclatura citogenética, es un cromosoma submetacéntrico de 80,373,285 pares de nucleótidos y representa aproximadamente 2.7% del genoma completo (www.ensembl.org, 29/07/2019; Van Kessel AG y Silverman G, 2005).

Contiene 268 genes codificantes para proteína, 664 genes no codificantes y 260 pseudogenes, en la Figura 10 se observa su distribución a lo largo de este cromosoma, al igual que la proporción y distribución de repetidos CG que presenta. Tiene una densidad aproximada de 4 genes/Mb siendo el cromosoma con menor densidad génica de todos los autosomas y de 611 SNV/Mb (www.ensembl.org, 29/07/2019; Van Kessel, AG y Silverman G, 2005).

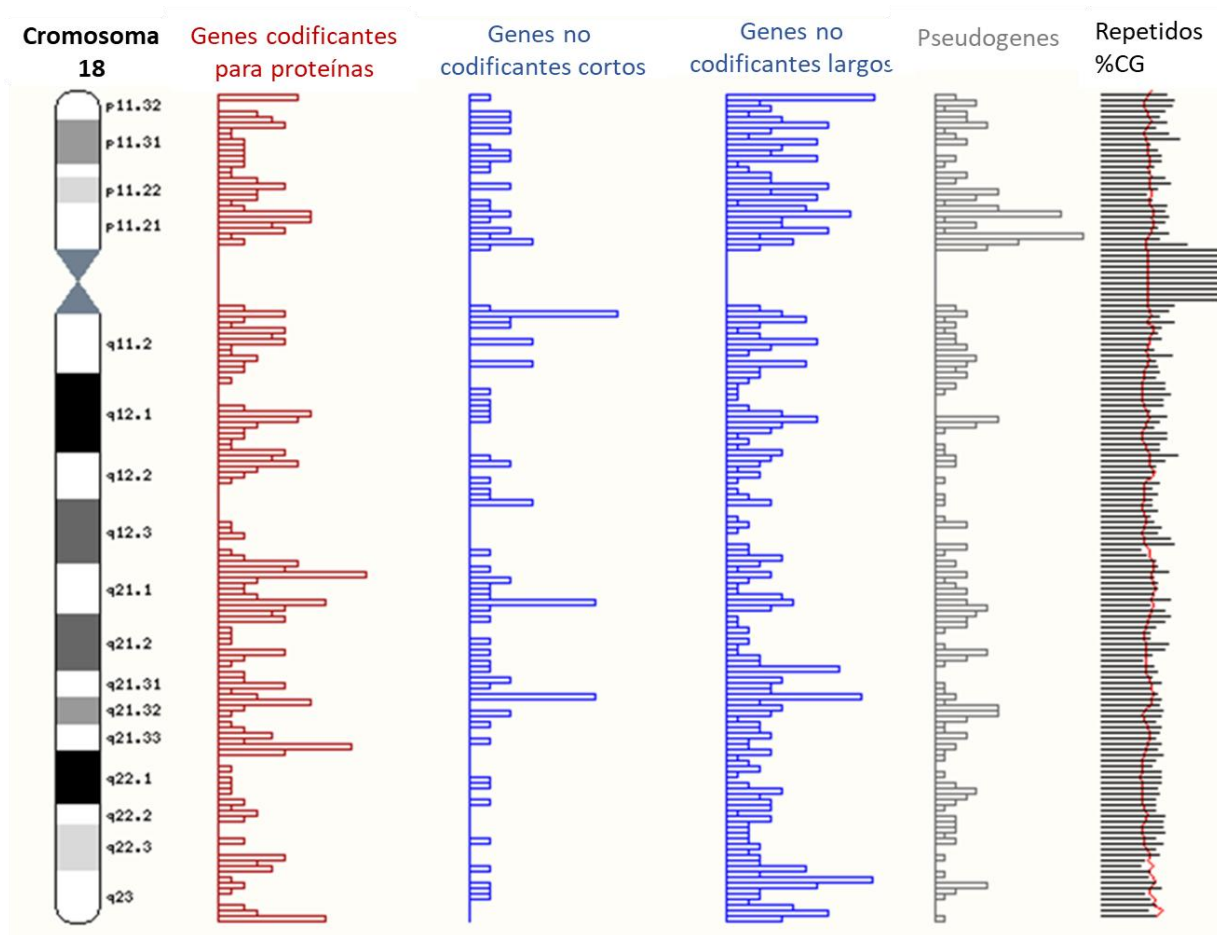


Figura 10. Distribución de genes codificantes y no codificantes, pseudogenes y secuencias CG presentes en el cromosoma 18 en relación con un idiograma del cromosoma con bandas GTG, la longitud de las barras representa la cantidad de genes en esa sección del cromosoma (modificado de [www.ensembl.org](http://www.ensembl.org) consultado el 29/07/2019).

### 1.3.2 Síndromes asociados a aberraciones del cromosoma 18

Los síndromes cromosómicos que implican al cromosoma 18 fueron descritos por de Grouchy y colaboradores en 1964, en reportes de casos y series en niños pequeños, por ello sus datos y su pronóstico era difícil de determinar (Soileau B, *et al.*, 2015). Entre las anomalías reportadas, se encuentran: la trisomía 18, el síndrome de delección 18p (MIM 146390), el síndrome de delección 18q (MIM 609334), la tetrasomía 18p (MIM 614293) y el anillo del cromosoma 18 ([chromosome18.org](http://chromosome18.org)).

## Trisomía 18

El síndrome de Edwards o trisomía 18 (T18), se debe a la presencia de un cromosoma 18 adicional al complemento genético normal. Tiene una incidencia de 1/3,000 a 10,000 nacidos vivos, siendo la segunda trisomía de autosomas más frecuente (0.18%) en nacidos vivos después de la trisomía 21. Existe una diferencia debida al género con una incidencia mayor en sujetos femeninos que masculinos de 4:1, el diagnóstico se hace con base a las características clínicas y se confirma mediante un cariotipo con bandas G (Imataka, G, *et al.*, 2016). Menos del 5% de los pacientes presenta un mosaico para la trisomía 18 con una línea celular normal (Cereda A y Carey JC, 2012; Fisher JM, *et al.*, 1995).

Cerca de 95% de las concepciones con trisomía 18 fallecen previo al nacimiento, en abortos espontáneos del primer trimestre del embarazo (Toker A y Salzer L, 2012). Aproximadamente 50% de los recién nacidos con T18 sobrevive menos de 1 semana y más de 90% no sobrepasa el año de vida. Clínicamente se asocia con defectos congénitos mayores y menores en múltiples sistemas incluyendo el cardiovascular, neurológico, renal, gástrico, respiratorio y malformaciones esqueléticas. Todos los casos presentan desórdenes psicomotores y mentales severos (Imataka G, *et al.*, 2016).

En 96% de los casos se debe a un error en la meiosis materna y tiene un riesgo de recurrencia estimado de menos de 1% (Imataka G, *et al.*, 2016). El riesgo de aneuploidías se incrementa con la edad materna avanzada, es independiente de la etnia e incluye a las trisomías 21, 18 y 13, por lo que el riesgo de recurrencia para aneuploidía se modifica de acuerdo a la edad materna (Little BB, *et al.*, 1995; Capalbo A, 2017).

## Monosomía 18p

La monosomía 18p fue descrita por primera vez en 1964 por de Grouchy y colaboradores, tiene una incidencia estimada de 1:50,000 nacidos vivos (Turleau C, 2008). Con una proporción femenino a masculino de 3:2 y los pacientes presentan pocas manifestaciones clínicas al nacimiento. Cerca de 85% de los casos de del18p se origina *de novo*, el resto

tiene un origen familiar y son resultado de una segregación desbalanceada de un rearreglo estructural balanceado (Maranda B, *et al.*, 2006).

Las principales características fenotípicas reportadas incluyen: discapacidad intelectual, talla baja, dismorfias faciales menores, ptosis y estrabismo. Aproximadamente 50% de los pacientes con deleciones 18p presenta puntos de ruptura en la región centromérica, la mitad restante tiene puntos de ruptura dispersos a lo largo de todo el brazo corto. No se han reportado deleciones intersticiales grandes en 18p, solo algunas microdeleciones. Aproximadamente la mitad de las deleciones, sin importar los puntos de ruptura ocurren en el cromosoma materno, si bien entre 60 y 90% son deleciones *de novo*, los casos en los que la deleción se transmite de un progenitor, por lo general vienen de la madre (Hasi-Zogaj M, *et al.*, 2015). Su esperanza de vida es de 17.5 años (Soileau B, 2015).

#### Monosomía 18q

La deleción del brazo largo del cromosoma 18 es una de las aneusomías humanas más comunes, se estima que ocurre en 1 en 40,000 nacidos vivos. El espectro fenotípico es grande, desde niños con una discapacidad intelectual severa y condición médica precaria a niños relativamente sanos con inteligencia normal. Entre las características recurrentes se encuentran la discapacidad intelectual, un crecimiento disminuido debido a deficiencia en la hormona del crecimiento, con dismorfias faciales y de las manos (Schaub RL, *et al.*, 2005).

La severidad del fenotipo está relacionada con el tamaño de la deleción y su localización en el cromosoma. Los puntos de ruptura en pacientes con deleción terminal 18q se han mapeado en diferentes posiciones entre 18q21.2-q22.1 (Kartz S, *et al.*, 1999).

#### Anillo del 18

El anillo del cromosoma 18 es uno de los anillos de autosomas más frecuentes y la mayoría de los individuos que lo presentan muestran fenotipos resultantes de la deleción distal de 18p y 18q. Entre las características clínicas más reportadas en los pacientes

con r(18) se encuentran microcefalia, estatura baja, discapacidad intelectual, dismorfias craneofaciales y anomalías en las extremidades, si bien el fenotipo es extremadamente variable y depende de la combinación de los síndromes 18p- y 18q-. El fenotipo puede ser modificado por el mosaicismo dinámico correspondiendo también al síndrome del autosoma en anillo. Existen reportes de transmisión familiar del cromosoma 18 en anillo (Balci S, *et al.*, 2011; Yao H, *et al.*, 2016).

#### Trisomía parcial 18p

La trisomía 18p se ha reportado raramente. La mayoría de los pacientes presentan un fenotipo aparentemente normal o anomalías menores y pueden o no tener discapacidad intelectual. En su mayoría se asocian con trisomía proximal 18q o a otros cromosomas desbalanceados resultado de una segregación adyacente I de una translocación parental. Existen menos de 20 casos reportados de una trisomía parcial 18p (Marical H, *et al.*, 2007). Al igual que en la mayoría de las anomalías cromosómicas, la variación en el fenotipo impide describir características particulares, pues varía desde un fenotipo asintomático, hasta fenotipos con microcefalia y discapacidad intelectual severa (Binkert F, *et al.*, 1990).

#### Trisomía parcial 18q

La trisomía 18q es responsable de un síndrome que se comporta de manera similar al síndrome de Edwards y presenta un fenotipo semejante con excepción de las características faciales, al igual que el síndrome de Edwards presenta una diferencia de género de 7:2 mujeres:hombres (Turleau C y de Grouchy J, 1977; Truelau C, *et al.*, 1980).

#### Isocromosomas 18q

Los pacientes con isocromosoma 18q son raros, y son considerados como parte de un espectro del síndrome de Edwards. Las características fenotípicas y de supervivencia no

son uniformes pues dependen de la porción del cromosoma que se duplicó, los isocromosomas 18q están formados por una delección del brazo p y una duplicación del brazo q debido a una división errónea o una recombinación anormal durante la meiosis (Pal S, *et al.*, 2007).

Estos pacientes presentan desde el fenotipo completo de síndrome de Edwards o un fenotipo menos severo, cuando la trisomía es solo de la parte distal del brazo largo presentan discapacidad intelectual menos severa y dismorfias menores. (Pal S, *et al.*, 2007)

### Tetrasomía 18p

La tetrasomía 18p se observó primero como un pequeño cromosoma marcador metacéntrico supernumerario, descrito por Froland y colaboradores en 1963 sin embargo, cromosomas con una delección grande de 18q o productos de translocaciones del 18 con otro cromosoma pueden ser indistinguibles mediante citogenética con técnicas de bandas (Callen DF, *et al.*, 1990). Tiene una prevalencia de 1/180 000 nacidos vivos y afecta a ambos géneros por igual (Plaiasu V, *et al.*, 2011).

La mayoría de los casos con i(18p) son *de novo*. Las manifestaciones clínicas que presentan incluyen dismorfias faciales, malformaciones congénitas y retraso en el desarrollo. La formación de la tetrasomía 18p *de novo* por un cromosoma marcador supernumerario requiere de dos eventos: no disyunción y error en la división centromérica (fisión del centrómero y fusión de brazos p), la teoría más aceptada es que el error sucede durante la meiosis II. Este síndrome tiene una correlación positiva con la edad materna avanzada (Kolialexi A, *et al.*, 2006).

## 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las cromosomopatías se presentan entre 2-3% de los recién nacidos vivos y hasta en 50% de los abortos espontáneos. Son una causa importante de morbimortalidad en neonatos y pueden causar síndromes dismórficos con o sin retraso psicomotor, discapacidad intelectual, así como alteraciones en la capacidad reproductiva de los individuos que las presentan.

En los países del primer mundo la tecnología recomendada de primera instancia para la identificación de alteraciones cromosómicas es un estudio de cariotipo molecular por microarreglos. Sin embargo, el alto costo de esta tecnología dificulta su acceso en una economía como la de nuestro país. La primera herramienta diagnóstica que utilizamos en México es el cariotipo con bandas GTG por su costo menor.

En el Servicio de Genética del Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga (HGME) se han realizado estudios de cariotipo durante más de cuatro décadas, siendo un centro de referencia de estudios genéticos para pacientes de todo el país. El cariotipo con bandas GTG brinda resultados de manera rápida y accesible, por lo que es el estudio más solicitado en el Servicio de Genética, el cual puede complementarse con otras técnicas de bandeo e inclusive con hibridación *in situ* con fluorescencia.

El cromosoma 18 es el segundo autosoma con menor cantidad de genes codificantes. Se han reportado una gran variedad de anomalías que implican a este cromosoma incluyendo: la trisomía 18 que es la segunda trisomía más frecuente en recién nacidos vivos después de la trisomía 21, las deleciones parciales de brazo corto (del18p), brazo largo (del18q), inversiones, anillos, tetrasomía 18p; además es uno de los cromosomas involucrados con mayor frecuencia en translocaciones balanceadas.

El realizar un análisis estadístico del número y tipo de las alteraciones del cromosoma 18 detectadas mediante cariotipo con bandas GTG en los últimos 39 años, proporcionó información respecto a su frecuencia, a los estudios adicionales necesarios para integrar un diagnóstico citogenético, así como la causa de solicitud del estudio, la edad y otras características de los pacientes lo que permite otorgarles una mejor atención.



### 3. OBJETIVO

Identificar las alteraciones del cromosoma 18 reportadas en los resultados de los cariotipos con bandas GTG realizados en el laboratorio de citogenética del Servicio de Genética del HGMEI durante el periodo comprendido del 1 de enero de 1980 al 31 de diciembre de 2018.

#### 3.1 Objetivos particulares

- Establecer el número de cariotipos realizados en el Servicio de Genética de 1980 a 2018 y las causas principales de solicitud del estudio.
- Identificar las alteraciones numéricas y estructurales del cromosoma 18 reportadas durante el periodo mencionado y clasificarlas de acuerdo al tipo de aberración presente.
- Determinar la frecuencia de los diferentes tipos de aberraciones del cromosoma 18 encontradas.
- Comparar los datos obtenidos con lo reportado en la literatura.

### 4. HIPÓTESIS DEL TRABAJO

Las anomalías del cromosoma 18 corresponderán a cerca de 2% de los cariotipos con bandas GTG anormales, y será la trisomía 18 la aberración más frecuente, en el periodo de tiempo estudiado.

## 5. MATERIAL Y MÉTODOS

Este trabajo constó de dos partes: una revisión de archivo y un análisis de casos individuales.

Para la primera parte, los datos de enero de 1980 a diciembre de 2006 se obtuvieron de tesis previas (Villalpando M, 2010), para coleccionar la información sobre el número de pacientes a quienes se les indicó un estudio citogenético, la causa de la solicitud y el resultado del mismo. Se revisaron las libretas de registro de cariotipos y de expedientes clínicos del Servicio de Genética de enero del 2007 a diciembre del 2018 para obtener los mismos datos. A partir de esta última información recolectada se seleccionaron los casos que presentaban alguna aberración del cromosoma 18 y se obtuvo la información correspondiente a ellos para su posterior análisis.

Para el estudio de casos particulares se buscaron casos recientes analizados con aberraciones del cromosoma 18, se utilizaron metafases obtenidas a partir de un cultivo de linfocitos T de sangre periférica con técnica de bandas GTG (Anexo I) y a algunos se les realizó FISH con sondas específicas del cromosoma 18 (Anexo II).

## 6. RESULTADOS

Los reportes de los cariotipos registrados en este trabajo fueron realizados por biólogos, químicos y médicos, todos ellos con entrenamiento como citogenetistas, que han laborado o laboran en el Servicio de Genética del HGMEI durante el periodo de 39 años (1980-2018), como parte del servicio asistencial que presta esta institución a la comunidad.

La figura 11 muestra la distribución de la cantidad de pacientes que se presentaron a consulta de primera vez en el Servicio de Genética, el número de cariotipos solicitados, el número de estudios reportados y cuántos de estos presentaron aberraciones numéricas o estructurales en el periodo de 1980 a 2018 agrupado por décadas y en la Tabla 2 se muestran estos mismos datos por año. Durante esos 39 años se atendieron 32 648 pacientes de primera vez en el Servicio, se solicitaron 9 467 estudios, en 7 781 estudios se integró un resultado y 1 969 presentaron una anomalía estructural o numérica identificada en el cariotipo con bandas GTG (Tabla 2).

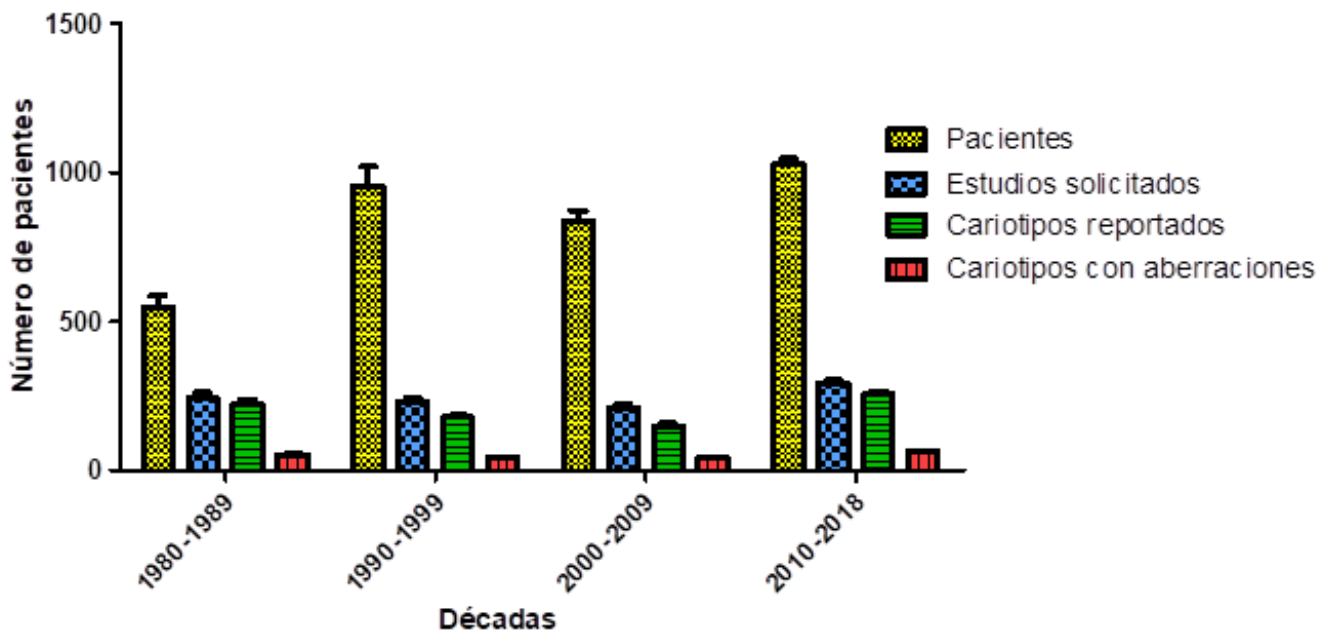


Figura 11. Número de pacientes de primera vez, estudios de cariotipo solicitados, cariotipos reportados y cariotipos cuyo resultado presentó anomalías en el Servicio de Genética, agrupado por décadas de 1980 a 2018.

Tabla 2. Compilación de datos por año de 1980 a 2018 del número de pacientes que acuden por primera vez a consulta al Servicio de Genética HGMEI, el número de cariotipos solicitados, estudios reportados y casos que presentaron aberraciones y el porcentaje que representan respecto a la fila superior.

| <b>Año</b>                         | <b>1980</b> | <b>1981</b> | <b>1982</b> | <b>1983</b> | <b>1984</b> | <b>1985</b> | <b>1986</b> | <b>1987</b> | <b>1988</b> | <b>1989</b> | <b>1990</b> | <b>1991</b> | <b>1992</b> | <b>1993</b> |
|------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| <b>Número de pacientes</b>         | 517         | 573         | 556         | 529         | 545         | 408         | 375         | 510         | 684         | 782         | 800         | 964         | 1208        | 1249        |
| <b>Cariotipos solicitados</b>      | 283         | 296         | 272         | 233         | 315         | 215         | 130         | 217         | 189         | 272         | 211         | 237         | 256         | 252         |
| <b>Estudios reportados</b>         | 256         | 271         | 249         | 216         | 303         | 195         | 121         | 201         | 169         | 222         | 182         | 163         | 168         | 214         |
| <b>Cariotipos con aberraciones</b> | 51          | 55          | 46          | 50          | 90          | 56          | 41          | 45          | 49          | 48          | 34          | 41          | 42          | 56          |

| <b>Año</b>                         | <b>1994</b> | <b>1995</b> | <b>1996</b> | <b>1997</b> | <b>1998</b> | <b>1999</b> | <b>2000</b> | <b>2001</b> | <b>2002</b> | <b>2003</b> | <b>2004</b> | <b>2005</b> | <b>2006</b> | <b>2007</b> |
|------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| <b>Número de pacientes</b>         | 1093        | 1141        | 807         | 712         | 818         | 756         | 641         | 780         | 948         | 796         | 741         | 795         | 832         | 935         |
| <b>Cariotipos solicitados</b>      | 276         | 239         | 206         | 180         | 252         | 193         | 151         | 215         | 241         | 200         | 172         | 161         | 230         | 227         |
| <b>Estudios reportados</b>         | 195         | 195         | 171         | 146         | 186         | 166         | 122         | 165         | 185         | 173         | 127         | 131         | 178         | 142         |
| <b>Cariotipos con aberraciones</b> | 47          | 43          | 53          | 40          | 50          | 40          | 20          | 49          | 51          | 46          | 40          | 36          | 53          | 31          |

| <b>Año</b>                         | <b>2008</b> | <b>2009</b> | <b>2010</b> | <b>2011</b> | <b>2012</b> | <b>2013</b> | <b>2014</b> | <b>2015</b> | <b>2016</b> | <b>2017</b> | <b>2018</b> | <b>Total</b>  |
|------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|---------------|
| <b>Número de pacientes</b>         | 953         | 957         | 1069        | 1097        | 1104        | 1025        | 1041        | 986         | 981         | 952         | 989         | 32 649        |
| <b>Cariotipos solicitados</b>      | 289         | 210         | 265         | 311         | 298         | 257         | 328         | 307         | 292         | 312         | 277         | 9 467 (29.0%) |
| <b>Estudios reportados</b>         | 153         | 114         | 206         | 249         | 228         | 231         | 282         | 263         | 270         | 305         | 268         | 7 781 (82.2%) |
| <b>Cariotipos con aberraciones</b> | 43          | 40          | 57          | 69          | 51          | 54          | 75          | 69          | 68          | 73          | 67          | 1 969 (25.3%) |

En la Tabla 3 se muestra el periodo estudiado, incluyendo el total de pacientes de primera vez atendidos en el Servicio, el total de estudios solicitados, el total de estudios analizados, cuántos de éstos presentaron anomalías y finalmente cuántos cariotipos presentaron anomalías que involucran al cromosoma 18.

Tabla 3. Registro de atención a pacientes en el Laboratorio de Citogenética del HGMEI, entre paréntesis se muestra el porcentaje que representan respecto a la fila superior inmediata.

|   |               |
|---|---------------|
| Periodo años  | 1980-2018     |
| Total de años   | 39            |
| Total de pacientes de 1ª vez atendidos en el Servicio | 32 648        |
| Total de estudios solicitados                         | 9 467 (29.0%) |
| Total de cariotipos reportados                        | 7 781 (82.2%) |
| Total de cariotipos con aberraciones                  | 1 969 (25.3%) |
| Total de cariotipos con anomalías del cromosoma 18    | 48 (2.4%)     |

En la Figura 12 se muestran las principales causas por las que se solicitó un estudio citogenético a los pacientes que acudieron a la consulta de primera vez del Servicio de Genética del HGMEI.

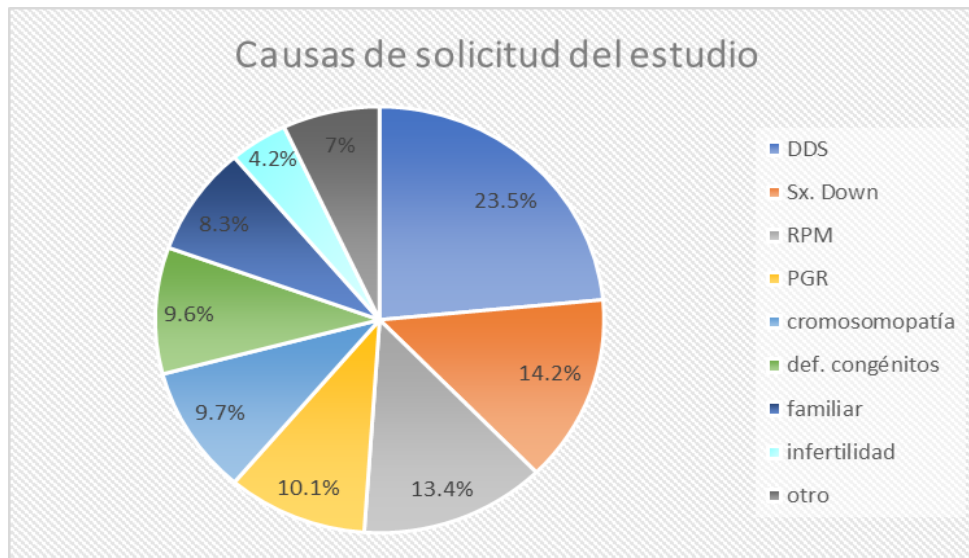


Figura 12. Gráfica que presenta las principales causas de solicitud de un cariotipo en el periodo 1980 a 2018. DDS: Alteraciones en el Desarrollo Sexual, Sx. Down: probable síndrome de Down, RPM: Retraso Psicomotor, PGR: Pérdida Gestacional Recurrente.

En la Tabla 4 se observan las anormalidades del cromosoma 18, agrupadas de acuerdo a su tipo, detectadas durante los 39 años del estudio. La anormalidad cromosómica más frecuente fue la trisomía del cromosoma 18, con 27 casos con trisomía pura y 6 casos con trisomía en mosaico con una línea celular normal, seguida de la deleción 18p en 8 casos. En total se encontraron 48 casos con alteración del cromosoma 18.

Tabla 4. Casos con anormalidades del cromosoma 18 ordenados por sexo y tipo de anomalía detectados en el periodo de 39 años, ordenados en pacientes masculinos (M) y femeninos (F), en paréntesis se muestra el porcentaje del total.

| Tipo de aberración cromosómica | M (%)     | F (%)     | Totales (%) |
|--------------------------------|-----------|-----------|-------------|
| Trisomía 18                    | 9 (18.7)  | 18 (37.5) | 27 (56.2)   |
| Mosaico trisomía 18            | 2 (4.2)   | 4 (8.3)   | 6 (12.5)    |
| deleción 18p                   | 4 (8.3)   | 4 (8.3)   | 8 (16.6)    |
| deleción 18q                   | 1 (2.1)   | 1 (2.1)   | 2 (4.2)     |
| Translocaciones                | 2 (4.2)   | 0         | 2 (4.2)     |
| Tetrasomía 18p                 | 0         | 2 (4.2)   | 2 (4.2)     |
| Material adicional en el 18    | 1 (2.1)   | 0         | 1 (2.1)     |
| Totales                        | 19 (39.6) | 29 (60.4) | 48 (100)    |

En la Tabla 5 se muestran las aberraciones del cromosoma 18 encontradas en el subperiodo 2007-2018, en este grupo de pacientes se incluye el rango de edades en que acudieron para la realización del cariotipo y las causas por las que fue solicitado el estudio.

Tabla 5: Aberraciones del cromosoma 18 identificadas en el periodo de 2007-2018, edad, y motivo de solicitud de cariotipo, ordenados en pacientes masculinos (M) y femeninos (F), en paréntesis se muestra el porcentaje del total.

| Tipo de aberración cromosómica | M (%)    | F (%)     | Edad                    | Causa de solicitud del estudio                      |
|--------------------------------|----------|-----------|-------------------------|---|
| Trisomía 18                    | 1 (4.5)  | 12 (54.5) | Recién nacido- 2 meses  | Síndrome de Edwards, cromosomopatía                 |
| Mosaico trisomía 18            | 0        | 3 (13.6)  | 20 días-4 meses         |   |
| delección 18p                  | 0        | 2 (9.1)   | 5 años                  | Dismorfias, RPM                                     |
| Translocaciones                | 2 (9.1)  | 0         | 15-26 años              | Síndrome de Silver-Rusell y Síndrome de Klinefelter |
| Tetrasomía 18p                 | 0        | 1 (4.5)   | 30 años                 | Retraso psicomotor                                  |
| Material adicional en el 18    | 1 (4.5)  | 0         | 17 años                 | Síndrome de X-frágil                                |
| Totales                        | 4 (18.1) | 18 (81.7) | Recién nacidos- 30 años |   |

RPM: retraso psicomotor

En las Figuras 13-19 se muestran resultados seleccionados de casos y los estudios de cariotipo y FISH de algunas de las alteraciones del cromosoma 18 encontradas en el periodo 2007-2018.

En la Figura 13 muestra a un cariotograma 47,XX,+18, donde se observa la presencia de 3 cromosomas 18 normales, de una paciente referida al Servicio de Genética a los 4 días de nacimiento por sospecha de síndrome de Edwards, corroborado por el cariotipo con bandas GTG.

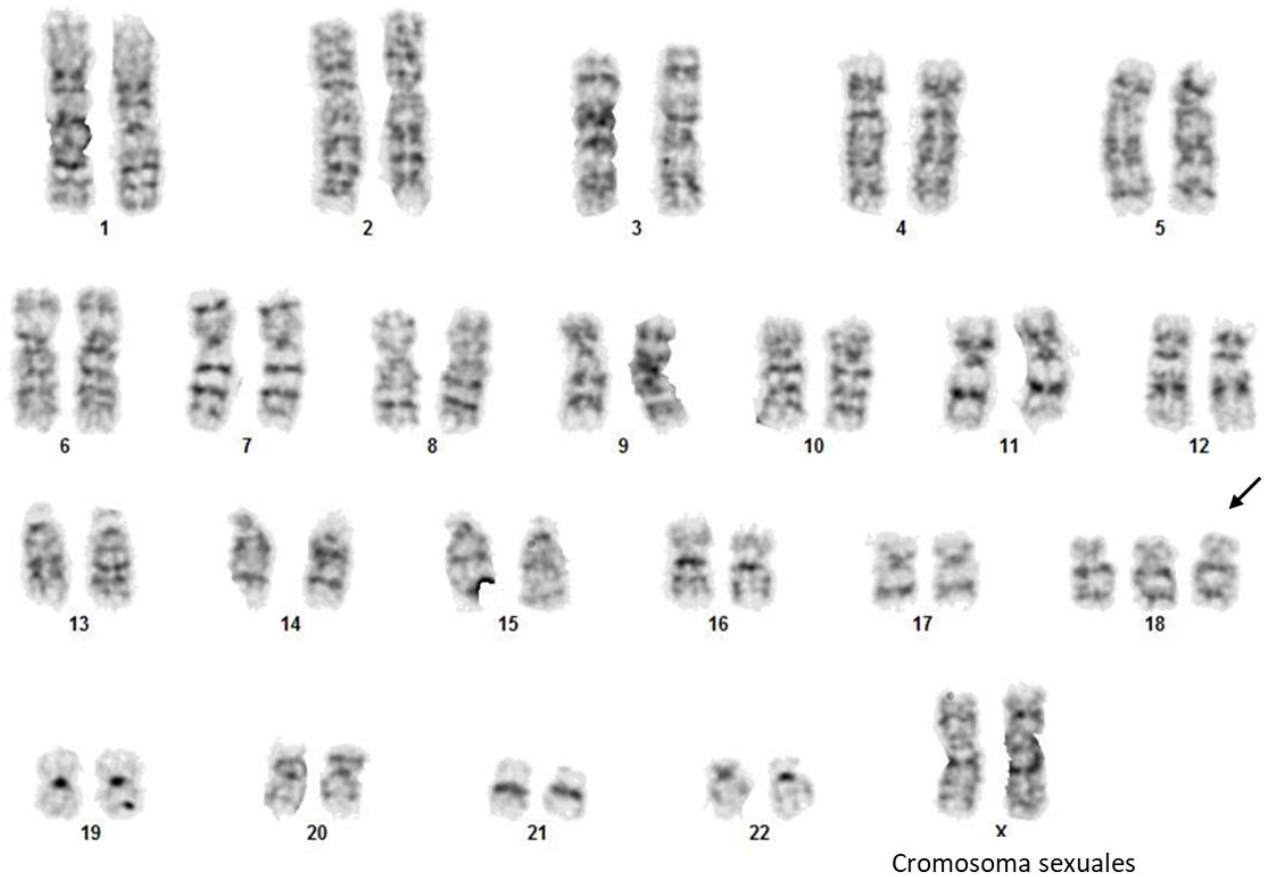


Figura 13. Cariograma con bandas GTG 47,XX,+18 de un paciente femenino con trisomía 18 y la flecha indica tres copias del cromosoma 18.



La Figura 14 presenta un núcleo en interfase con trisomía 18 detectada mediante un FISH con sonda centromérica del cromosoma 18 (aqua) y sonda centromérica del X (verde) de una paciente remitida a los 2 días de edad por sospecha de síndrome de Edwards. Se observan 3 marcas de color aqua (señaladas con flechas) que indican la presencia de 3 centrómeros del cromosoma 18 y 2 señales en color verde que representan dos centrómeros del cromosoma X.

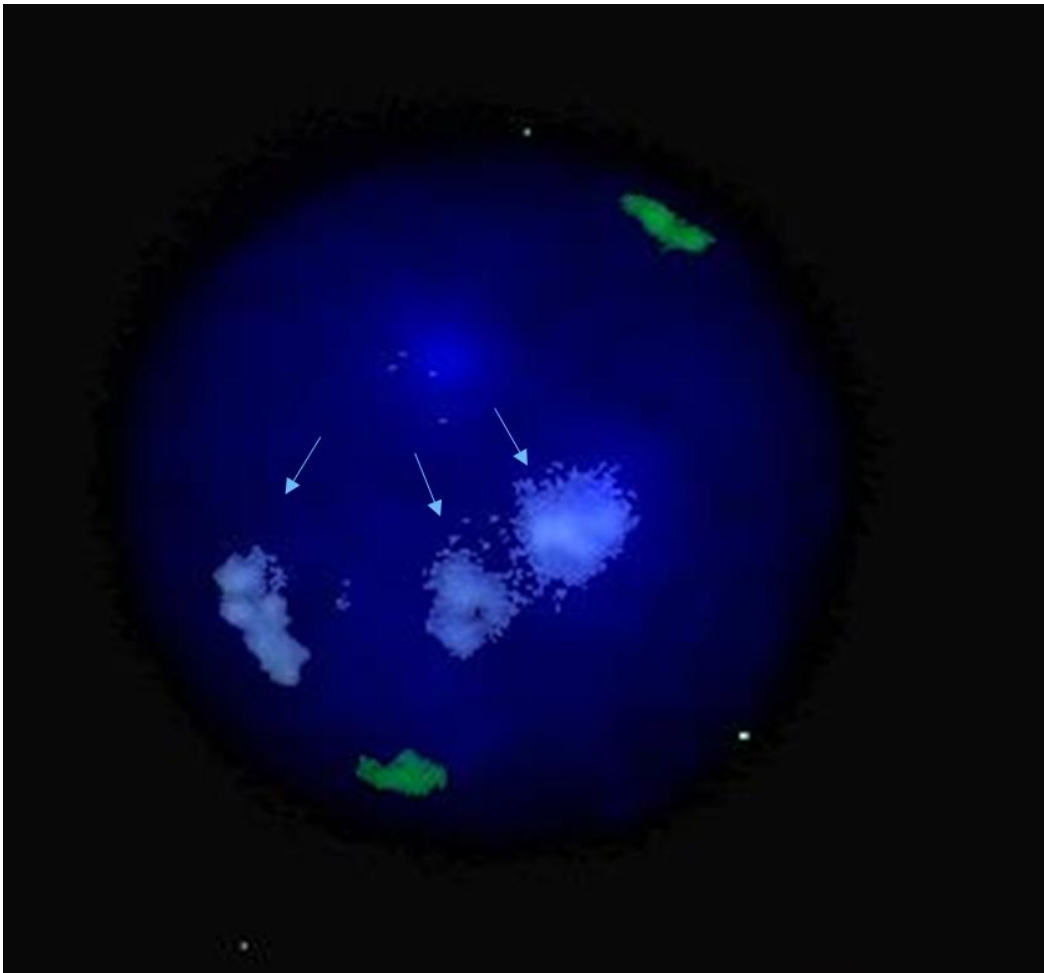


Figura 14. FISH 47,XX,+18.nuc.ish (CEP18x3) en un núcleo en interfase de linfocito de sangre periférica de paciente femenina con trisomía 18. Se observan dos marcas verdes en la periferia del núcleo que corresponden al centrómero de X y 3 marcas color aqua al centro del núcleo que marcan el centrómero del cromosoma 18 (CEPX en verde, CEP18 en aqua, Vysis Abbott, Abbott Park, Illinois, EUA).

En la Figura 15 se observa un cariógrama con bandas GTG de un paciente femenino con deleción distal del brazo corto del cromosoma 18, señalado por la flecha. Remitida a los 5 años de edad al Servicio de Genética por retraso en el desarrollo psicomotor.

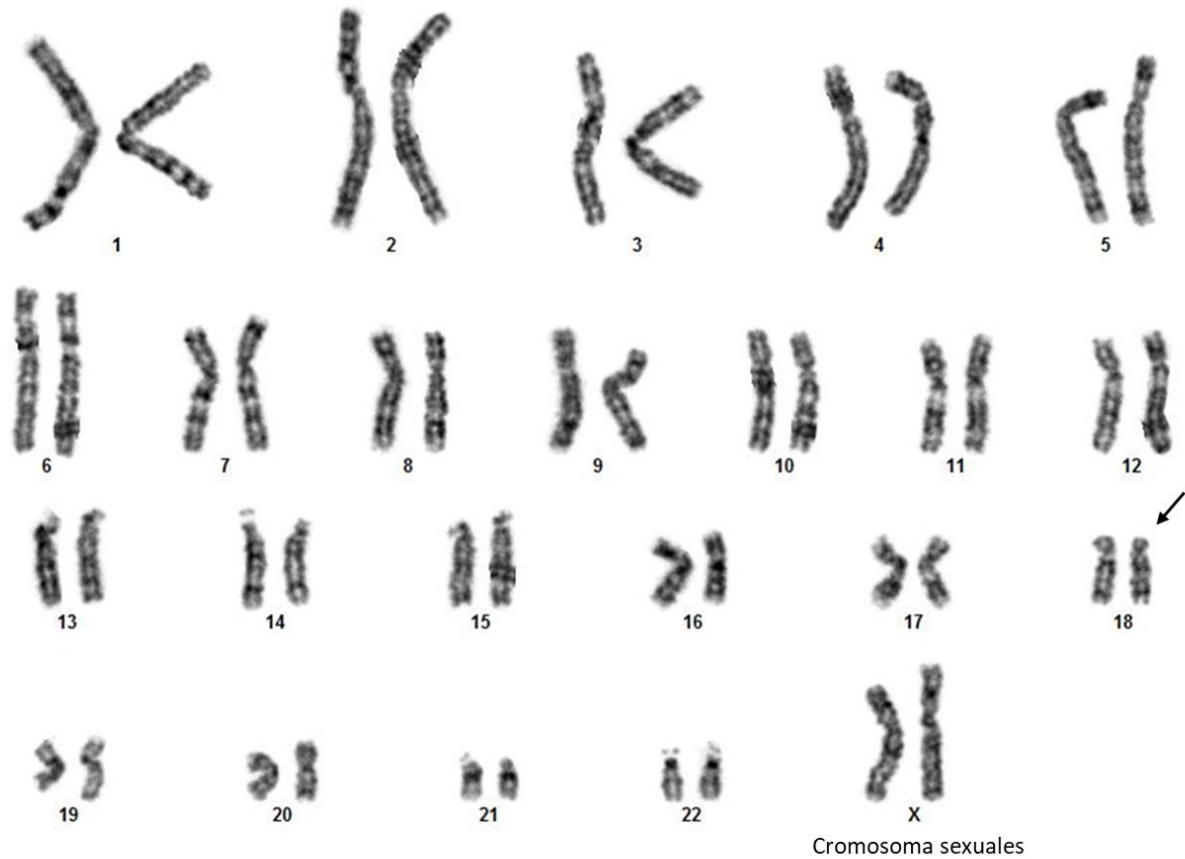


Figura 15. Cariograma 46,XX,del(18)(p11.2) con bandas GTG que corresponde a un paciente femenino con una deleción distal del brazo corto del cromosoma 18, indicada con una flecha.

En la Figura 16 se presenta el cariograma de un paciente femenino con deleción completa de brazo corto del cromosoma 18, solicitado a los 5 años de edad por presentar un síndrome dismórfico.

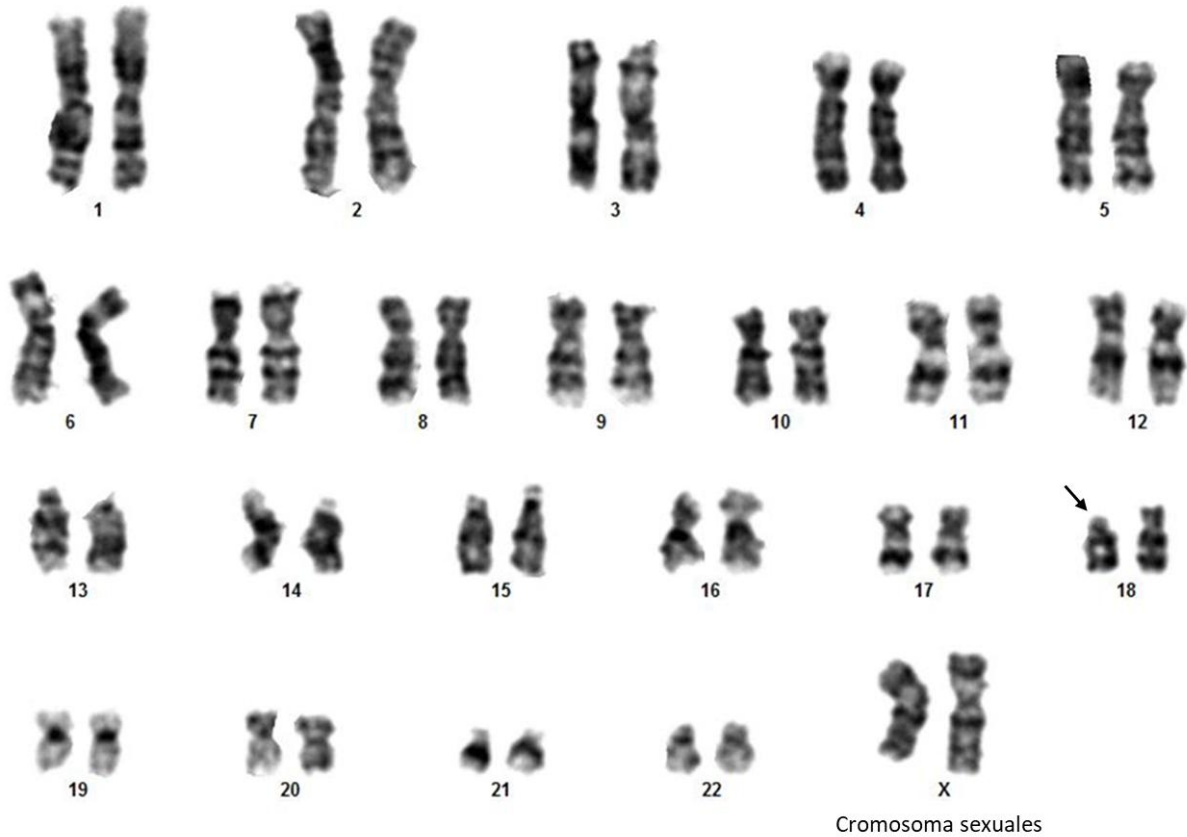


Figura 16. Cariograma con bandas GTG: 46,XX,del(18)(p11) de un paciente femenino con una deleción casi completa del brazo corto del cromosoma 18 señalada con una flecha.

La Figura 17 muestra un cariotograma de bandas GTG correspondiente a un paciente masculino con una translocación de brazos completos entre los cromosomas 8 y 18 aparentemente balanceada, señalada mediante flechas, cuyo cariotipo fue solicitado por sospecha de Síndrome de Klinefelter a los 26 años de edad.

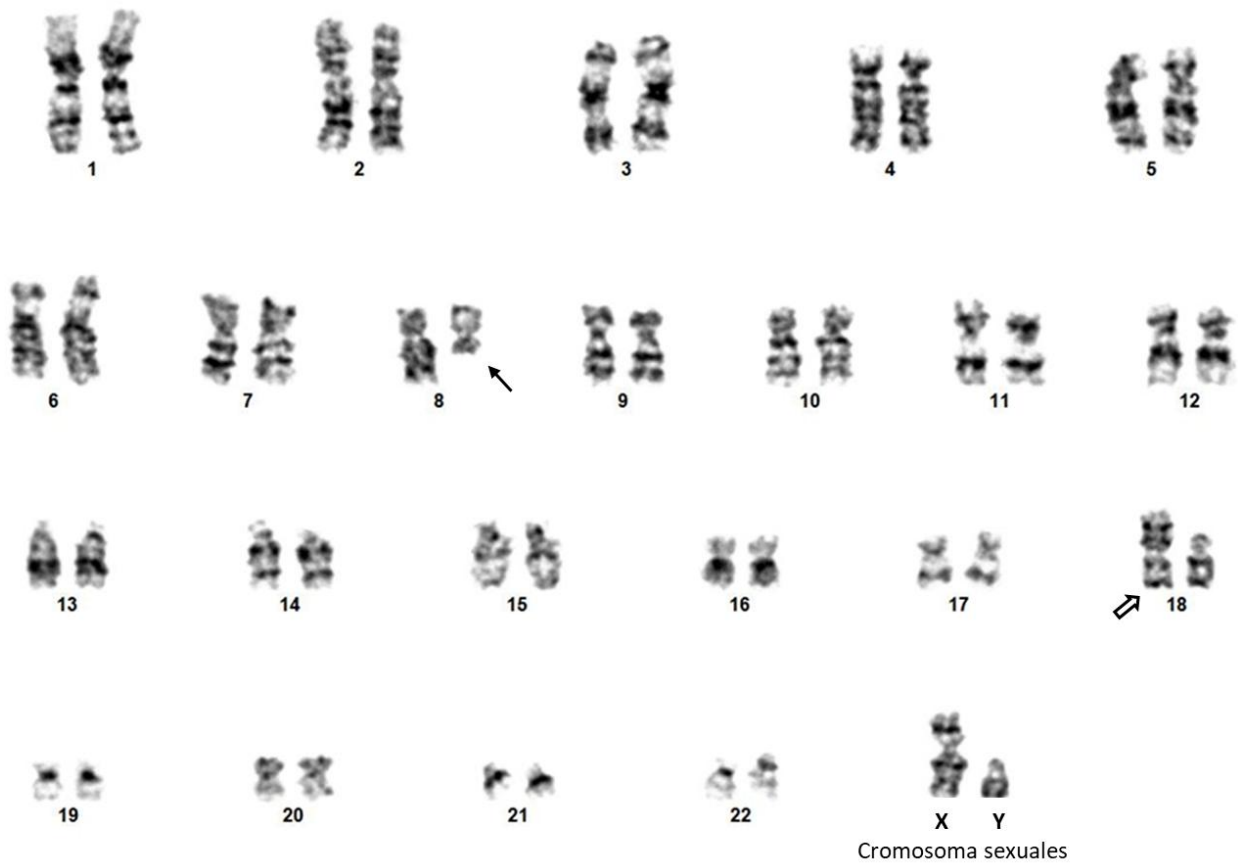


Figura 17. Cariograma 46,XY,t(8;18)(p10;q10) con bandas GTG, correspondiente a un individuo masculino con una translocación de brazos completos entre los cromosomas 8 y 18, aparentemente balanceada, los cromosomas derivados están señalados con flechas, la flecha sólida señala el brazo corto del cromosoma 18 y la flecha abierta señala el brazo largo del cromosoma 18.

La Figura 18 muestra un cariograma de bandas GTG correspondiente a una paciente femenina con un cromosoma marcador extra, en el cuál no se puede determinar su origen únicamente con el cariograma de bandas GTG.

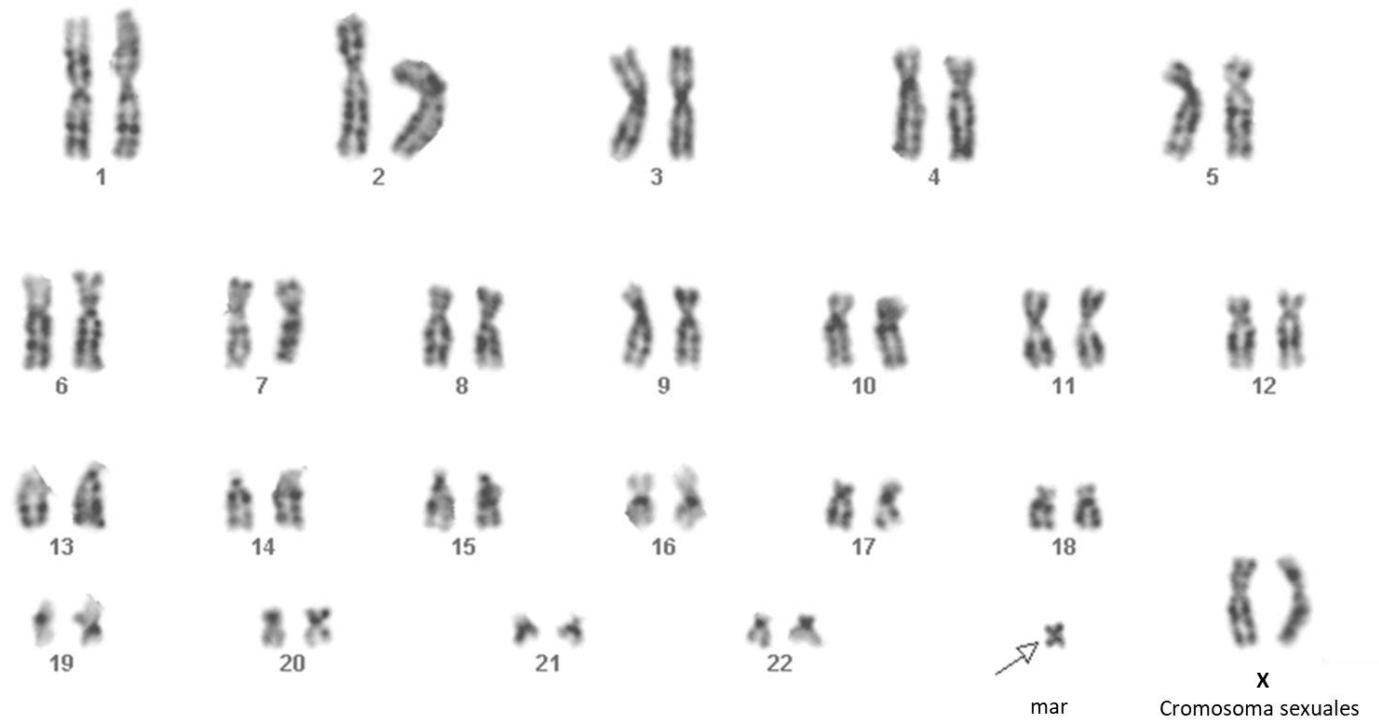


Figura 18. Cariograma 47,XX,+mar con bandas GTG correspondiente a un paciente femenino que presenta un cromosoma marcador supernumerario. Cortesía de Biol. Karem Nieto Martínez, Facultad de Medicina, UNAM en Servicio de Genética, HGMEI.

La Figura 19 muestra el FISH en metafase del cariograma de la Figura 18, esta marcado con sonda subteloméricas para el cromosoma 11 en color verde 11p y en color rojo 11q como sondas control y en verde y rojo que se observa como amarillo para 18p y en aqua el centrómero del cromosoma 18. Se aprecia un cromosoma pequeño con marca para 18p en ambos extremos y una marca aqua que representa el centrómero de 18 (señalado con una flecha) esto representa un isocromosoma de 18p como el cromosoma marcador observado en el cariograma de bandas GTG.

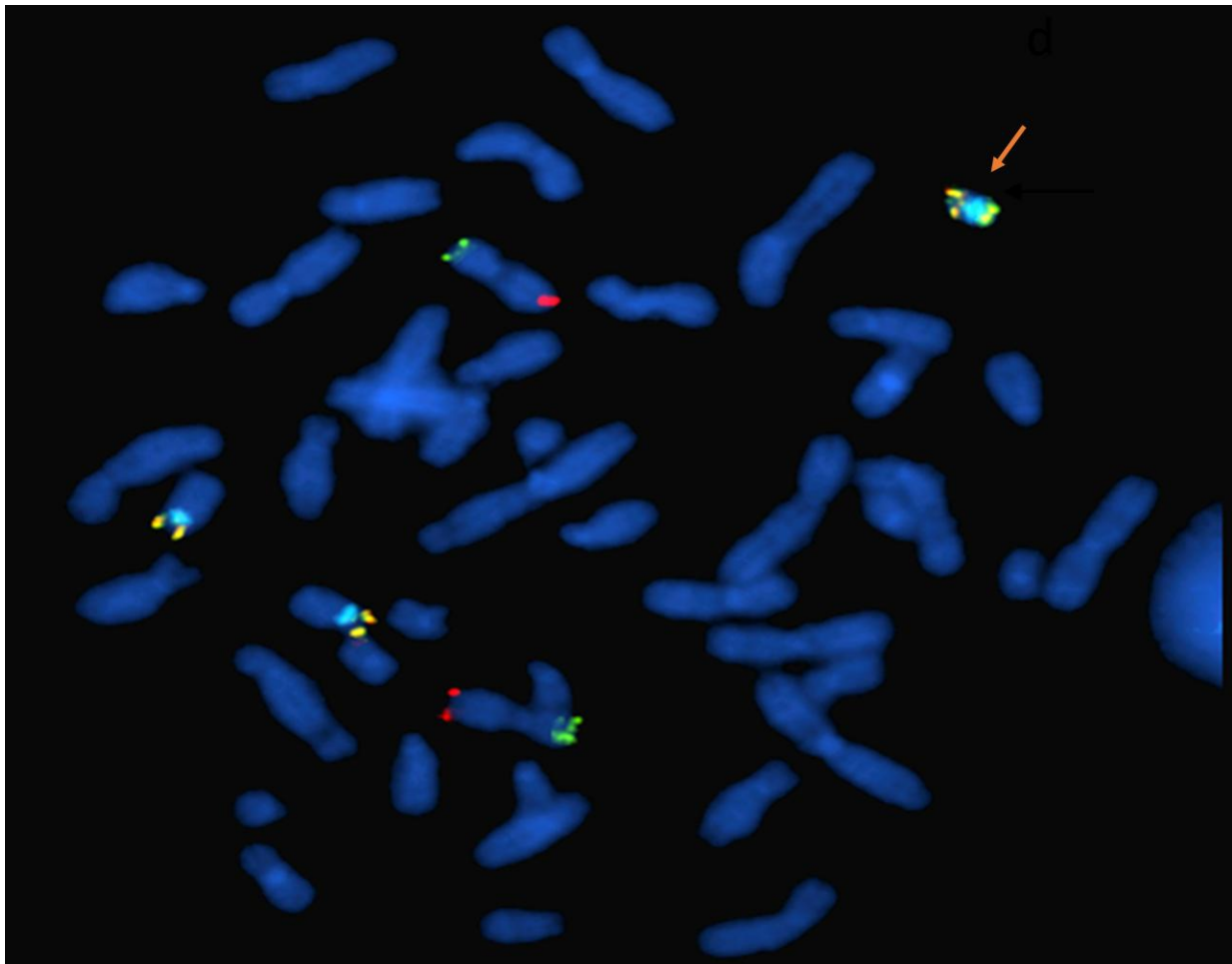


Figura 19. FISH en metafase con sondas subteloméricas 47,XX,+mar.ish i(18)(p10) (D18S552+,CEP18+,CEP18+,D18S552+) en rojo para 11q, verde para 11p (como control), en amarillo 18p y en aqua centrómero de 18 (Sondas Total vision mezcla 11, Abbott, Abbott Park, Illinois, EUA). Se observan 3 señales para centrómero de 18 y 4 señales para 18p, en dos cromosomas 18 normales y dos en el cromosoma marcador supernumerario (centrómero de 18 y señales para 18p amarillo en ambos extremos) isocromosoma 18p, indicado con una flecha. Cortesía Biol. Karem Nieto Martínez, Facultad de Medicina, UNAM en Servicio de Genética, HGMEL.

## 7. DISCUSIÓN

Las cromosomopatías se presentan en 2-3% de la población siendo una causa importante de morbimortalidad, de síndromes dismórficos y/o retraso psicomotor y discapacidad intelectual en neonatos e infantes y problemas reproductivos al llegar a la edad adulta (Turnpenny PE y Ellard S, 2012). Un diagnóstico oportuno permite brindar el mejor servicio al paciente.

El HGMEEL recibe pacientes de toda la república mexicana teniendo una población heterogénea tanto en rango de edad como en lugar de origen. En los 39 años compilados se presentaron 32 648 pacientes de primera vez al Servicio de Genética, de estos a 29.0% de los pacientes se les solicitó un cariotipo de bandas GTG como herramienta diagnóstica. Para 82.2% de los cariotipos solicitados, el personal capacitado logró realizar la lectura de suficientes metafases para reportar un resultado al paciente, 25.3% de los cariotipos analizados presentaron una anomalía cromosómica detectable mediante esta técnica y 2.3% de los casos tuvieron una anomalía estructural o numérica del cromosoma 18.

El número de cariotipos realizados en el Servicio de Genética se ha mantenido en niveles constantes a través de las décadas (Figura 11). El número de pacientes que acuden a consulta de primera vez ha aumentado década a década, manteniéndose con un promedio de 900 pacientes por año en la última década, y de igual manera, el número de cariotipos reportados se incrementó, si bien no tanto como los pacientes de primera vez. Esto indica que las causas por las que se considera necesario realizar el cariotipo son claramente reconocidas y que el número de pacientes que son atendidos por dichas causas se mantiene constante a través de los años.

Al 17.1% de los pacientes a quienes se les solicitó cariotipo durante el periodo de tiempo estudiado no se les entregó un resultado (Tabla 2). Durante los últimos años la diferencia entre los estudios reportados y los cariotipos solicitados ha disminuido, llevando a un mayor número de pacientes beneficiados (Figura 11). Entre las causas por las que un

cariotipo solicitado no puede ser y reportado se encuentran: que la muestra fuera inadecuada o se encontrará contaminada, que el cultivo no creciera en forma adecuada o que no se contará con cantidad suficiente de metafases para su análisis. En la última década se ha logrado que los pacientes acudan a repetir la toma de muestra en estos casos, aumentando el porcentaje de cariotipos reportados respecto a los solicitados.

En tesis realizadas en la Unidad de Investigación Médica en Genética Humana del Hospital de Pediatría “Silvestre Frenk Freund” del Centro Médico Nacional Siglo XXI (Esparza García E, 2016) perteneciente al IMSS y en el Laboratorio de Citogenética del Centro Médico Nacional “20 de noviembre” (López Martínez MS, 2017) del ISSSTE, ambas instituciones mexicanas al igual que el HGMEI, se reportan datos referentes al número de cariotipos analizados de pacientes durante determinados periodos de tiempo y las frecuencias de alteraciones encontradas. Estos datos se compararon con los nuestros (Tabla 6). Estos servicios presentan casi el doble de casos que el HGMEI en un mismo periodo de tiempo (Tablas 2 y 6). Estos hospitales prestan sus servicios a beneficiarios asegurados, por lo tanto, los estudios no tienen un costo para el paciente siendo parte de las prestaciones de ley, lo cual podría ser la causa de que realicen un mayor número de estudios y reporten mayor número de alteraciones cromosómicas. Mientras que la población que se atiende en el Hospital General de México, son quienes que no cuentan con seguridad social, muchos de los pacientes que acuden al HGMEI lo hacen en etapas avanzadas de la enfermedad hasta que alguna discapacidad les impide continuar con su vida cotidiana y pueden llegar muy tardíamente por un diagnóstico genético, además no continúan con la atención pues algunos no radican en la Ciudad de México o su situación económica les impide continuarla.



Tabla 6. Comparación entre series internacionales y nacionales en otras unidades de tercer nivel de los datos obtenidos en este trabajo.

| <b>Institución</b>  | <b>Periodo</b> | <b>Número de cariotipos</b> | <b>Frecuencia de anomalías (%)</b> | <b>Trisomía 18 (# casos)</b> | <b>Frecuencia de T18 en la población (%)</b> | <b>Otra anomalía del 18 (# casos)</b> | <b>Referencia</b>                  |
|---|----------------|-----------------------------|------------------------------------|------------------------------|--|---------------------------------------|------------------------------------|
| <b>Unidad de Citogenética, Hospital Escuela Dicle, Diyairbair, Turquía</b>  | 2000-2009      | 5688                        | 16.1                               | 4                            | 0.07   | 5                                     | Balkam M, <i>et al.</i> , 2010     |
| <b>Departamento de Genética Médica, Instituto Nacional de Salud, Rabat, Marruecos</b>   | 1993-2010      | 5572                        | 27                                 | 23                           | 0.41   | 1                                     | Aboussair N, <i>et al.</i> , 2012  |
| <b>División de Genética, Departamento de Pediatría, Colegio Médico Maulana Azad y Hospital Lok Nayak, Nueva Delhi, India</b>                                | 2010-2015      | 859                         | 43                                 | 2                            | 0.23   | NR                                    | Polipalli SK, <i>et al.</i> , 2016 |
| <b>Unidad de Investigación Médica en Genética Humana del Hospital de Pediatría “Silvestre Frenk Freund”, Centro Médico Nacional Siglo XXI, CDMX, México</b> | 1986-2015      | 10329                       | 29.2                               | 81                           | 0.78   | NR                                    | Esparza García E, 2016             |
| <b>Laboratorio de Citogenética, Centro Médico Nacional “20 de noviembre”, CDMX, México</b>  | 2009-2011      | 1067                        | 25.7                               | 2                            | 0.19   | NR                                    | López Martínez MS, 2017            |
| <b>Servicio de Genética, HGMEI, CDMX, México</b>  | 1980-2018      | 7781                        | 25.3                               | 33                           | 0.42   | 15                                    | Este trabajo                       |

NR: no reportado

En promedio, en 25.3% de los cariotipos analizados se detectó una anomalía estructural o numérica en el HGMEEL. Este promedio se encuentra en el rango de lo alcanzado por las series nacionales siendo un poco menor que lo reportado por Esparza García (2016) y López Martínez MS (2017) (Tabla 6). El cariotipo con bandas GTG detecta anomalías en un cuarto de los pacientes que se les solicitó, esta proporción aumenta cuando las indicaciones de solicitud del estudio son por cromosomopatía y malformaciones y suele disminuir con otros diagnósticos clínicos (autismo, infertilidad, talla baja, etc.).

Comparando el número de cariotipos del Servicio de Genética del HGMEEL (Tabla 2) durante los mismos periodos de tiempo en un ámbito internacional (Tabla 6) el HGMEEL presenta pocos casos reportados solo mayor a la descrita por Polipalli y colaboradores (2016) donde se reportaron en el HGMEEL cerca de 40% más cariotipos. El porcentaje de anomalías detectadas por cariotipo en este trabajo es mayor que el reportado en un Hospital Escuela de Turquía (Balkam M, *et al.*, 2010), similar a lo detectado por el Departamento de Genética Médica en Marruecos (Aboussair N, *et al.*, 2012) y menor a lo hallado en la División de Genética, del Hospital Lok Nayak en India (Polipalli SK, *et al.*, 2016) (Tabla 6). El alto porcentaje encontrado en el trabajo de Polipalli y colaboradores (2016) se puede deber a una selección más orientada a un fenotipo clínico de cromosomopatía en el paciente al que se le realiza el cariotipo.

En el HGMEEL al 23.8% de los pacientes que se presentan por primera vez se les solicitó un cariotipo con bandas GTG. Las causas de solicitud se observan en la Figura 12 y coinciden con lo reportado en la literatura (Hu J, *et al.*, 2006; Balkam M, *et al.*, 2010; Pasquier L, *et al.*, 2016; Esparza García E, 2016). La principal causa por la cual se solicita un cariotipo en el Servicio de Genética es discapacidad intelectual y retraso psicomotor (27.6% considerando que 14.2% de las solicitudes son por síndrome de Down y el 13.4% por retraso psicomotor), la segunda causa son las alteraciones en el desarrollo sexual, entre las que se encuentran, el síndrome de Turner, el síndrome de Klinefelter, la presencia de ambigüedad genital, y la amenorrea primaria o secundaria.

La trisomía 18 es la segunda trisomía más frecuente en la población, tiene una incidencia de 1/3000- 1/8 000 nacidos vivos (Toker A y Salzer L, 2012; Kirby RS, 2017); siendo la anomalía del cromosoma 18 que más se presenta y es concordante con lo encontrado en este estudio (Tabla 4). Se detectaron 33 casos con trisomía 18 en 39 años en el HGMEI con una frecuencia de 0.42% en la población con cariotipo. A nivel nacional es menor que la detectada en el trabajo de Esparza Garcia (2016) (Tabla 6) que es la frecuencia más alta de detección de trisomía 18 en comparación con las series internacionales (Tabla 6). Por otra parte, en un estudio realizado en el Hospital Infantil de México “Federico Gómez” (HIMFG) en 10 años (1998-2008) se detectaron 23 casos (Zuñiga Rodriguez FG, 2010). La detección de esta trisomía en el HGMEI es de las más altas en la población seleccionada para un estudio de cariotipo ya que los casos detectados aquí nacen principalmente en el Servicio de Ginecología del Hospital y son detectados de manera temprana, la solicitud del cariotipo es antes de la semana de vida o bien son remitidos por centros hospitalarios que presentan convenio con el HGMEI para el estudio por presentar malformaciones congénitas al nacimiento. La fracción de trisomía 18 en el HGMEI es superada en casos por el Hospital Infantil de México y la Unidad de Investigación Médica en Genética Humana del Hospital de Pediatría “Silvestre Frenk Freund” del Centro Médico Nacional Siglo XXI, que atienden a pacientes pediátricos, por lo que es esperado que detecten más casos con anomalías del cromosoma 18.

Más de la mitad de los casos (56.2%) en los que se detectó una anomalía del cromosoma 18 correspondieron a una trisomía completa, mientras que los casos con un mosaicismo representaron 12.5% de las anomalías detectadas. La presencia de trisomía 18 en mosaico encontrada en nuestro estudio fue mayor (18.2%) que el 5% reportado por Cereda y Carey (2012), esto puede relacionarse con la esperanza de vida de los pacientes que presentan la trisomía 18 en mosaico, la cual es mayor que para los que la presentan en todas sus células aumentando su posibilidad de que les sea solicitado un estudio de cariotipo. Por otra parte, el número de metafases analizadas también influye en la detección de mosaicismo, a mayor número de células analizadas es posible detectar mosaicos con líneas celulares en baja proporción. En los cariotipos reportados en el

Servicio de Genética del HGMEI se analiza un promedio de 25 metafases lo que permite detectar mosaicos cuya línea en menor proporción se encuentra en 17% con una confianza de 99% (Hook EB, 1977). En un estudio de 10 años en el HIMFG (1998-2008) se reportaron 22 casos con trisomía 18 y solo un caso de trisomía 18 en mosaico (Zuñiga Rodriguez FG, 2010), presentando menor proporción de detección en trisomía 18 en mosaico, probablemente porque analizaron un número menor de metafases por paciente.

Se ha reportado que la trisomía 18 tiene una incidencia 4:1 mujeres:hombres (Imataka G, *et al.*, 2016), en este análisis encontramos una relación 2:1 mujeres:hombres para el periodo de 1980 a 2018 tanto en la trisomía pura como en mosaico, que no concuerda con lo reportado en la literatura. Sin embargo, para el periodo entre 2007 y 2018 se tiene una relación 12:1, mujeres:hombres para la trisomía 18 pura y sólo 3 pacientes femeninas con trisomía en mosaico.

La esperanza de vida de estos pacientes es de 2 a 70 días (Toker ASalzer L, 2012) por lo que su detección debe ser temprana para obtener un diagnóstico. La edad de los pacientes a los que se les solicitó un cariotipo por síndrome de Edwards fue de recién nacido a 2 meses, la mayoría antes de la semana de vida, los que presentaron una trisomía regular y hasta los 4 meses los que tuvieron la trisomía en mosaico.

Los cultivos de células de sangre periférica con trisomía 18 tienen dificultad para crecer y en ocasiones el cultivo no es adecuado para leer metafases con bandas GTG por ser de mala calidad, insuficientes o nulas. En estos casos, el uso de FISH en interfase con sonda específica para el cromosoma 18, por lo general centromérica (Figura 14), permite obtener un resultado a partir de esos cultivos, incrementando las probabilidades de un diagnóstico, sin necesidad de repetir la toma de muestra. Para realizar este tipo de estudio es necesario que el médico tratante tenga sospecha del síndrome y lo indique en la solicitud del estudio citogenético, debido a que el FISH es un estudio dirigido y sólo se obtendrá información específica para las sondas utilizadas.

La deleción 18p fue la segunda anomalía del cromosoma 18 detectada con mayor frecuencia en este estudio (8 casos/39años), tiene una incidencia de 1/50,000 nacidos vivos, la cual es mucho menor que la presentada por la trisomía 18. Zuñiga Rodriguez (2010) encontró sólo un caso en 10 años en el HIMFG. En la literatura se reporta una proporción femenino a masculino 3:2 (Maranda B, *et al.*, 2006), en nuestra serie encontramos una proporción 1:1 mujeres:hombres.

Cerca de 50% de las rupturas que producen deleción 18p ocurren en la zona centromérica (Hasi-Zogaj M, *et al.*, 2015), un ejemplo de este tipo de rupturas se observa en la Figura 16; en el resto presentan rupturas al azar en cualquier punto del brazo corto, como se aprecia en la Figura 15. El tamaño de la deleción se encuentra directamente relacionado con las características clínicas que manifiesta el paciente, en este caso el individuo con deleción completa de brazo corto fue referido por un síndrome dismórfico, mientras que el individuo con una deleción parcial lo fue por presentar discapacidad intelectual. A menor tamaño de la deleción se pierde una menor cantidad de genes y por lo tanto, se producen una menor cantidad de alteraciones durante el desarrollo del individuo, la alteración más frecuente que se manifiesta en las deleciones 18p es el retraso en el desarrollo psicomotor e intelectual (Hasi-Zogaj M, *et al.*, 2015).

La monosomía 18q se estima que ocurre en 1/40 000 nacidos vivos, siendo una de las aneusomías más frecuentes en humano (Schaub RL, *et al.*, 2005). Encontramos el reporte de 2 casos de deleción en 18q en los 39 años de estudio. En los últimos 10 años no se han presentado casos de deleción 18q. Ya que la frecuencia reportada es mayor que la de la deleción de 18p, se esperaba encontrar un mayor número de casos de este síndrome. Nuestros resultados difieren con la literatura tanto para la frecuencia publicada por Schaub y colaboradores (2005) como con lo reportado por Zuñiga Rodriguez (2010) de tres casos en 10 años.

En este trabajo se reportan dos translocaciones aparentemente balanceadas que implican al cromosoma 18, ambas en pacientes masculinos. El cromosoma 18 es uno de los cromosomas que participa con mayor frecuencia en las translocaciones recíprocas

balanceadas, entre los cromosomas con los cuales se reportan translocaciones más frecuentes se encuentran el 8 y el 11, seguidos de los cromosomas 1, 3 y 13 (Paththinige CS, *et al.*, 2019). La edad de solicitud de estudio para los pacientes que presentaron translocaciones recíprocas balanceadas suele ser en la adolescencia o en la edad adulta debido a que estos pacientes pueden presentar trastornos en el desarrollo sexual, azoospermia o pérdida gestacional recurrente (Paththinige CS, *et al.*, 2019). Los pacientes en quienes se detectó una translocación fueron enviados a edades mayores que la mayoría de los pacientes con los síndromes antes descritos (Tabla 4).

La primera translocación encontrada en esta serie ocurrió se da los cromosomas 1 y 18, consistente con lo reportado por Paththinige y colaboradores (2019). Sin embargo, no se tiene reporte de los puntos de ruptura, esta translocación fue detectada en un paciente masculino de 15 años, al cuál se le solicitó el estudio por sospecha de síndrome de Silver-Russel, que se caracteriza por crecimiento restringido pre y post-nacimiento, macrocefalia relativa, frente prominente y asimetría corporal, con o sin discapacidad intelectual (Mackay DJG, *et al.*, 2019).

La segunda translocación detectada fue una translocación de brazos completos (Figura 17) en un cariotipo 46,XY,t(8;18)(p10;p10), el cromosoma 8 es el cromosoma con el cual el cromosoma 18 presenta más frecuentemente una translocación (Paththinige CS, *et al.*, 2019). La solicitud de estudio fue presentada en un paciente de 26 años por sospecha de síndrome de Klinefelter, el cual presenta problemas del desarrollo de caracteres sexuales incluyendo ginecomastia. Se realizó cariotipo a la madre y a la hermana del paciente y ambas presentaron un cariotipo normal.

Para la generación de espermatozoides, es necesario que durante la meiosis I se forme una cruz de paquitenio (Figura 20) permitiendo la recombinación y las segregaciones 2:2 que derivan de ella. En caso de ser fértil, los gametos derivados de la segregación alterna producirán cigotos viables, pues contienen el material balanceado, en gameto 1 ambos cromosomas son normales y la célula hija 2 contendrá la translocación balanceada. Para la segregación adyacente I la célula hija 1 presentará disomía 8q y nulisomía 18p, la

célula hija 2 con disomía 18p y nulisomía 8q. En la segregación adyacente II la célula hija 1 deriva en un gameto disómico para 8p y nulisómico para 18q y la célula hija 2 es disómica para 18q y nulisómica para 8p. Los cigotos formados a partir de los gametos derivados de las segregaciones adyacentes no son viables pues presentan un desbalance genómico importante, formando cigotos con trisomías parciales y monosomías parciales de brazos completos. Es probable que el paciente con esta translocación presente problemas reproductivos que varían desde azoospermia hasta pérdida gestacional recurrente derivada de las segregaciones adyacentes.

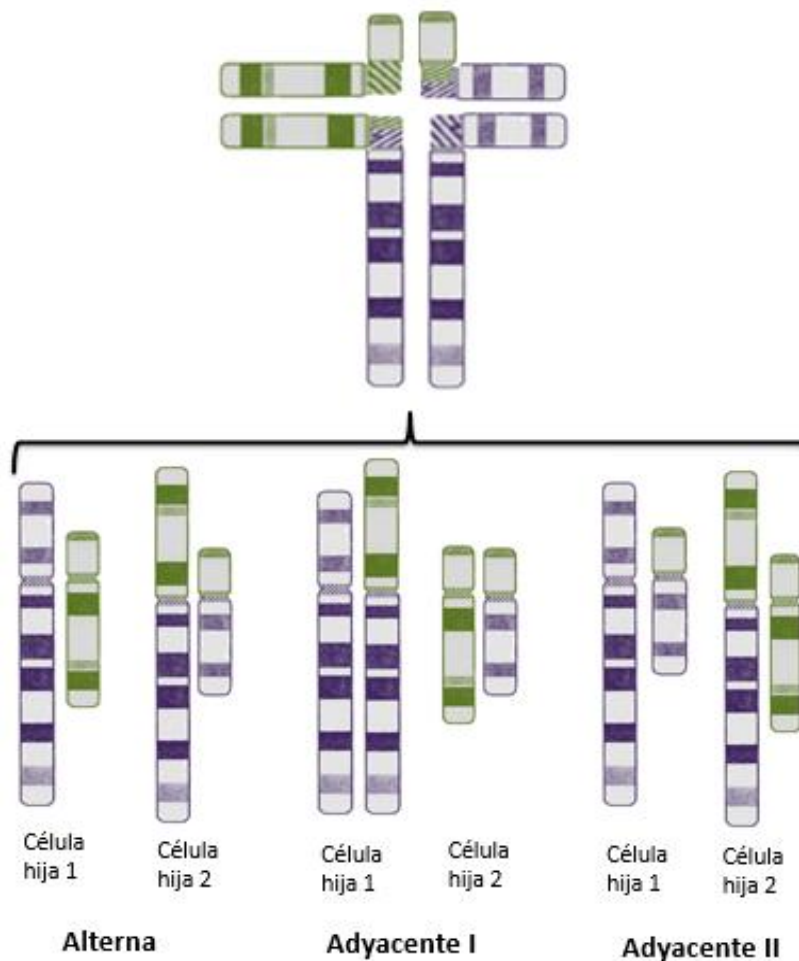


Figura 20. Esquema del tetravalente o cruz de paquíteno que se debe formar durante la profase I entre los cromosomas derivados como resultado de la traslocación de brazos completos entre los cromosomas 8 (morado) y 18 (verde) (Figura 17), formando un derivativo con los brazos cortos de ambos cromosomas y el otro derivativo con los brazos largos de los cromosomas 8 y 18 y los productos de las segregaciones 2:2.

Balkam y colaboradores (2010) reportaron tres pacientes con translocaciones en el cromosoma 18 asociadas con infertilidad o pérdida gestacional recurrente, mostrando una frecuencia más elevada de esta anomalía que la encontrada en este trabajo. En la tesis de Zuñiga Rodriguez (2010) se reportaron 5 translocaciones, 3 no balanceadas y 2 balanceadas que involucran al cromosoma 18. Algunas de estas fueron detectadas por la llegada de un paciente pediátrico que presenta una anomalía del cromosoma 18 y como parte del procedimiento en este tipo de hallazgo se les realiza un cariotipo a los padres detectando una translocación balanceada. Por lo general, los cigotos derivados de la segregación adyacente I en la cruz de paquitenos son los que producen las anomalías (Figura 20).

Las translocaciones son las anomalías cuya detección resultó ser más difícil. Las translocaciones descritas en este trabajo fueron detectadas posteriores a 2007 y pueden estar subdiagnosticada ya que los pacientes con este tipo de anomalías balanceadas no presentan síntomas característicos debido a que no existe pérdida y ganancia de material genético. La causa de consulta de estos pacientes, suele ser por sospecha de un síndrome monogénico, problemas de fertilidad o por estar presente un familiar afectado.

En este trabajo, al igual que para la monosomía 18q, se detectaron dos pacientes femeninas con una tetrasomía 18p, originada por la presencia de un isocromosoma 18p adicional. Esta alteración tiene una prevalencia de 1/180 000 nacidos vivos y afecta a ambos géneros por igual (Plaiasu V, *et al.*, 2011; Silmani W, *et al.*, 2019). Es uno de los cromosomas marcadores supernumerarios pequeños más detectado. Balkam y colaboradores (2010) encontraron dos casos en su serie y un caso reportado en el Departamento de Genética Médica en Marruecos (Aboussar N, *et al.*, 2012).

Por lo general la detección de un isocromosoma 18p se inicia con un cariotipo con bandas GTG donde se presenta un cromosoma marcador metacéntrico supernumerario de tamaño pequeño (Figura 18). En este trabajo para caracterizar al cromosoma marcador, con sospecha de material correspondiente al cromosoma 18, se realizó un FISH con sondas subteloméricas del cromosoma 18p, la sonda utilizada fue la mezcla 11 del paquete comercial Total vision (Vysis, Abbott, Abbott Park, Illinois, EUA). Se observaron dos



cromosomas 18 normales; en el extremo 18p hibridó la sonda subtelomérica en amarillo y la sonda para centrómero del cromosoma 18 en aqua en ambos. Y el cromosoma pequeño marcador, tenía ambos extremos con hibridación para la sonda subtelomérica 18p y al centro se observa la señal para centrómero en aqua (Figura 19). Tanto el cariotipo de bandas GTG como el FISH con sonda subtelomérica 18p se realizan de manera rutinaria para la detección de un i(18)(p) (Silmani W, *et al.*, 2019).

A la paciente con tetrasomía 18p, encontrada en el periodo 2007-2018, le fue solicitado el cariotipo por presentar retraso psicomotor a los 30 años de edad. Se han reportado pacientes con este padecimiento mayores de 30 años (Bawazeer S, *et al.*, 2018), si bien la esperanza de vida reportada para estos pacientes es de 14 años (Soileau B, *et al.*, 2015). La mayoría de los casos descritos son anomalías *de novo*, sin embargo, existen casos familiares heredados por rama materna (Takeda K, *et al.*, 1989) indicando una posibilidad reproductiva para la paciente aquí presentada con riesgo de hasta 50% de transmitir el isocromosoma 18p.

Finalmente, se presenta un caso en el cual se detectó material adicional en el cromosoma 18, el origen de este material es desconocido. La solicitud de estudio fue por sospecha de síndrome de discapacidad intelectual y X frágil en un masculino de 17 años de edad. Para detectar el origen del material adicional es necesario realizar un cariotipo a los padres para conocer si la anomalía es heredada, derivada de una translocación u otro rearrreglo balanceado en los padres o si ocurrió *de novo*. Si es derivada de una anomalía que presentan los padres resulta más sencillo determinar el origen del material extra y se puede comprobar mediante un FISH con una sonda específica que contenga una secuencia localizada en la región de interés. La otra forma de comprobar el origen del material es la realización de un cariotipo molecular en el cual se presentará trisomía para alguna región cromosómica y se puede delimitar el tamaño del material adicional y si existe probable pérdida de material del cromosoma 18 o si corresponde a la duplicación de una región del cromosoma 18.

En este trabajo no se reportan pacientes con anillo del cromosoma 18 a pesar de ser uno de los anillos de autosomas más frecuente (Balci S, *et al.*, 2011), tampoco se encontraron

inversiones pericéntricas del cromosoma 18 ni las recombinaciones derivadas de su segregación meiótica como la documentada por Villaseñor-Dominguez (2016), de la cuál se han reportado 21 casos (Lee MJ, *et al.*, 2019).

El cromosoma 18 tiene una densidad génica baja y es el segundo cromosoma con menor cantidad de genes, después del cromosoma 21. Esto explica porque es posible la sobrevivencia de los pacientes con las anomalías antes descritas, aunque implican una gran cantidad de material genético como en la trisomía 18 que involucra al cromosoma completo, la cantidad de genes que se presentan en triple dosis es pequeña.

El cromosoma 18 y el cromosoma 17 tienen un tamaño similar, pero el cromosoma 17 tiene 4 veces más genes que el cromosoma 18 ([www.ensembl.org](http://www.ensembl.org) consultado 29/07/2019). La densidad génica alta del cromosoma 17 influye en que se hayan descrito 4 veces más síndromes de microdeleción y microduplicación que en el cromosoma 18 y este último no presenta puntos de ruptura recurrentes, que generen un desorden genómico definido (Weise A, *et al.*, 2012).

Durante los últimos años, se han generado nuevas tecnologías para el análisis de aberraciones cromosómicas. Las recomendaciones internacionales sugieren como estudio de primer nivel para detección de aberraciones cromosómicas un cariotipo molecular por microarreglos en caso de discapacidad intelectual ó de un desorden del espectro autista sin algún signo que dirija a un diagnóstico específico (Martin CL y Warburton C, 2015; Pasquier L, *et al.*, 2016). Sin embargo, el alto costo de estas tecnologías dificulta su acceso en muchos países con economías poco desarrolladas como México.

El cariotipo con bandas GTG sigue siendo la primera herramienta para el diagnóstico de anomalías cromosómicas, debido a que es una técnica sencilla y de bajo costo que permite obtener una observación rápida del genoma completo. Igualmente existen aberraciones cromosómicas balanceadas en las que no se presenta pérdida o ganancia de material genético por lo que estudios como a-CGH y SNVa no son capaces de detectarlas (Dutta UR, 2016). El cariotipo y la técnica de FISH pueden ser utilizados para la detección de cromosomas marcadores supernumerarios pequeños y rearrreglos

balanceados especialmente cuando las manifestaciones clínicas evocan un síndrome específico (Silmani W, *et al.*, 2019).

Este trabajo se realizó tomando los reportes de cariotipos en pacientes de edades variadas, desde recién nacidos hasta adultos. Sin embargo, en la actualidad se ha incrementado la detección de anomalías cromosómicas en la etapa prenatal. Esta detección puede realizarse por métodos de tamizaje no invasivos, como análisis de marcadores en suero materno y ultrasonidos, o por métodos invasivos, como amniocentesis. La detección temprana de fetos con cromosomopatías como la trisomía 18 permiten a la pareja tomar decisiones importantes al respecto, incluyendo la terminación del embarazo (Cereda A y Carey JC, 2012).

## 8. CONCLUSIONES

Las anomalías del cromosoma 18 representaron el 2.4% (48 casos) de todas las aberraciones detectadas, siendo la más frecuente la trisomía del cromosoma 18, seguida de la delección 18p.

A 9 467 de los pacientes de primera vez se les solicitó cariotipo, esto representa el 29% de los pacientes. Se analizaron y reportaron 7 781 cariotipos en los 39 años incluidos en este trabajo, de estos resultados de cariotipo 1 969 casos, el 25.3% presentaron anomalías cromosómicas numéricas o estructurales. Estos porcentajes son semejantes a los reportados en otros centros mexicanos y series internacionales revisados.

Las causas más frecuentes por las que se solicitó un cariotipo fueron retraso psicomotor y/o discapacidad intelectual, incluidos los pacientes con síndrome de Down (27.6%), alteraciones del desarrollo sexual (23.5%), pérdida gestacional recurrente (10.1%), probable cromosopatía (9.7%) y defectos congénitos (9.6%).

Las frecuencias de los diferentes tipos de anomalías del cromosoma 18 encontradas concuerdan con lo reportado en la literatura con excepción de la delección 18q cuya frecuencia fue menor que la esperada. No se encontraron inversiones pericéntrica ni sus recombinantes, ni anillos del cromosoma 18, a pesar de ser anomalías relativamente frecuentes.

Para la trisomía 18 en los 39 años de estudio, la incidencia por género (2:1 mujeres:hombres) no concuerda con lo reportado en la literatura, si bien aún se tiene mayor proporción de casos femeninos que masculinos, los casos masculinos son más de los esperados. Para el subperiodo de 2007 a 2018 se tiene una mayor proporción femenina (12:1 mujeres:hombres) de la esperada tanto en trisomía pura como trisomía en mosaico.

En el Servicio de Genética del HGMEI el cariotipo con bandas GTG sigue siendo el estudio más solicitado para la detección de cromosopatías, como lo ha sido durante las últimas décadas, por su bajo costo y facilidad para realizarse. Este trabajo permitió corroborar su utilidad para detectar y analizar las alteraciones correspondientes al cromosoma 18.

## 9. REFERENCIAS

- 1) Aboussair N, Jaouad IC, Dequaqui SC, Sbiti A, Elkerch F, Yahya B, Natiq A y Sefiani A. *Cytogenetic Analysis of 5572 Patients Referred for Suspected Chromosomal Abnormalities in Morocco*. Genet Test Mol Bioma 16(6):569-573,2012
- 2) Balci S, Tümer C, Karaca C y Bartsch O. *Familial Ring (18) Mosaicism in a 23-Year-Old Young Adult With 46,XY,r(18) (::p11→q21::)/46,XY Karyotype, Intellectual Disability, Motor Retardation and Single Maxillary Incisor and in His Phenotypically Normal Mother, Karyotype 47,XX,+r(18)::p11→q21::/46,XX*. Am J Med Genet Part A 155:1129-1135, 2011.
- 3) Balkan M, Akbas H, Isi H, Oral D, Turkyilmaz A, Kalkanli S, Simsek S, Fidanboy M, Alp MN, Gedik A and Budak T. *Cytogenetic analysis of 4216 patients referred for suspected chromosomal abnormalities in Southeast Turkey*. Genet Mol.Res, 9(2): 1094-1103, 2010.
- 4) Bawazeer S, Alshalan M, Alkhalidi A, AlAtwi N, AlBalwi M, Alswaid A, y Alfadhel M. *Tetrasomy 18p: case report and review of literatura*. Appl Clin Genet 11: 9–14, 2018.
- 5) Binkert F, Stranzinger J y Schinzel A. *Partial Trisomy of Chromosome 18(pter->q12) following a Familial 18;21 Translocation t(18;21)(q12;q11)*. Hum Hered 40:81-84, 1990.
- 6) Callen DF, Freemantle CJ, Ringenbergs ML, Baker E, Eyre HJ, Romain D y Haan EA. *The isochromosome 18p syndrome: confirmation cytogenetic diagnosis in nine cases by In Situ Hybridization*. Am J Hum Genet 47:493-498, 1990.
- 7) Capalbo A, Hoffman ER, Cimadomo D, Ubaldi FM y Rienzi L. *Human female meiosis revised: new insights into the mechanisms of chromosome segregation and aneuploidies from advanced genomics and time-lapse imaging*. Hum Reprod 23(6):706-722, 2017.
- 8) Cereda A y Carey JC. *The trisomy 18 syndrome*. Orphanet J Rare Dis, 7:81, 2012.
- 9) Dutta UR. *The history of human cytogenetics in India—A review*. Gene (2016), <http://dx.doi.org/10.1016/j.gene.2016.01.052>
- 10) Emanuel BS y Saitta SC. *From microscopes to microarrays: dissecting recurrent chromosomal rearrangements*. Nat Rev Genet 8:869-883, 2007.
- 11) Ensembl.org consultado el 29/97/2019
- 12) Esparza García E. *Frecuencia y tipo de alteraciones cromosómicas encontradas por citogenética con técnica de bandas GTG realizados en la Unidad de investigación Médica en Genética humana del Hospital de Pediatría “silvestre Frank Freund” del Centro Médico Nacional Siglo XXI en un periodo de 29 años (1986-2015)*. Tesis para obtener el título de especialidad en Genética Médica, Facultad de Medicina, UNAM, 2016.
- 13) Ferguson-Smith MA. *History and Evolution of Cytogenetics*. Mol Cytogenet, 8:19, 2015.

- 14) Fisher JM, Harvey JF, Morton NE y Jacobs PA. *Trisomy 18: Studies of the parent and cell division of origin and the effect of aberrant recombination on nondisjunction*. Am J Hum Genet 56:669-675, 1995.
- 15) Green ED. Nhgri fact sheets, Julio 9, 2015 www.genome.gov.
- 16) Hasi-Zogaj M, Sebold C, Heard P, Carter E, Soileau B, Hill A, Rupert D, Perry B, Atkinson S, O'Donnell L, Gelfond J, Lancaster J, Fox PT, Hale DE, Cody JD. *A review of 18p deletions*. Am J Med Genet Part C Semin Med Genet 169C:251–264, 2015.
- 17) Hook EB. *Exclusion of chromosomal mosaicism tables 90%, 95% and 99% confidence limits and comments on use*. Am J Hum Genet 29:94-97, 1977
- 18) Hu J, Sathanoori M, Kochmar SJ y Surti U. *Application of Multicolor banding for identification of complex chromosome 18 rearrangements*. J Mol Diagn 8(4):521-525, 2006.
- 19) Imataka G, Suzumura H y Arisaka O. *Clinical features and survival in individuals with trisomy 18: a retrospective one-center study of 44 patients who receive intensive care treatment*. Mol Med Rep 13:2457-2466, 2016.
- 20) Ishiguro K. *The cohesin complex in mammalian meiosis*. Genes Cells, 24:6-30, 2019.
- 21) Jacobs PA, Strong JA. *A case of human inter-sexuality having a possible XXY sex-determining mechanism*. Nature, 183:302-303, 1959.
- 22) Kartz SG, Schneider SS, Bartuski A, Trask BJ, Massa H, Overhauser J, Lalande M, Peter M. Lansdorp PM and Silverman GA. *An 18q- syndrome breakpoint resides between the duplicated serpins SCCA1 and SCCA2 and arises via a cryptic rearrangement with satellite III DNA*. Hum Mol Genet 8(1): 87–92, 1999.
- 23) Kirby RS, *The prevalence of selected major birth defects in the United States*. Semin Perinatol 41: 338-344, 2017.
- 24) Kloosterman WP y Hochstenbach R. *Deciphering the pathogenic consequences of chromosomal aberrations in human genetic disease*. Mol Cytogen 7:100, 2014.
- 25) Kolialexi A, Kitsiou S, Fryssira H, Sofocleous C. Kouvidi E, Tsangaris GT, Salavoura K y Mavrou A. *Identification of autosomal supernumerary chromosome markers (SMCs) by Fluorescent In Situ Hybridization (FISH)*. In Vivo 20:473-478, 2006.
- 26) Koumbaris G, Hatzisevastou-Loukidou H, Alexandrou A, Ioannides M, Christodoulou C, Fitzgerald T, Rajan D, Clayton S, Kitsiou-Tzeli S, Vermeesch JR, Skordis N, Antoniou P, Kurg A, Georgiou I, Carter NP y Patsalis PC. *FoSTeS, MMBIR and NAHR at the human proximal Xp region and the mechanisms of human Xq isochromosome formation*. Hum Mol Genet 15; 20(10):1925–1936, 2011.

- 27) Kubelka-Sabit K, Jasar D, Filipovsk V, Bozinovsk G, Plaseska-Karanfilska D. *Molecular and histological characteristics of early triploid and partial molar pregnancies*. Pol J Pathol 68 (2): 138-143, 2017.
- 28) Lee MJ, Park SH, Shim SH y Moon M. *Prenatal diagnosis and molecular cytogenetic characterization of partial dup(18q)/del(18p) due to a paternal pericentric inversion 18 in a fetus with multiple anomalies*. Taiwan J Obstet Gynecol, 58;318-323,2019
- 29) Lejeune J, Gautier M, Turpin R. *Study of somatic chromosomes from 9 mongoloid children*. C R Hebd Seances Acad Sci 16 ;248(11) :1721-2, 1959.
- 30) Liehr T. *From Human Cytogenetics to Human Chromosomics*. Int J Mol. Sci, 20;826, 2019.
- 31) Little BB, Ramin S, Cambridge BS, Schneider NR, Cohen DS, Snell LM, Harrod M, and Johnston WL. *Risk of Chromosomal Abnormalities, with Emphasis on Live-Born Offspring of Young Mothers*, Am J Hum Genet, 57:1178-1185, 1995.
- 32) López Martínez MS. *Alteraciones cromosómicas encontradas en el laboratorio de Citogenética del Centro Médico Nacional "20 de Noviembre"*. Tesis para obtener el título de especialista en genética médica, Facultad de Medicina, UANM, 2017.
- 33) Mackay DJG, Bliet J, Lombardi MP, Russo S, Calzari L, Guzzetti S, Izzi C, Selicorni A, Melis D, Temple K, Maher E, Brioude F, Netchine I y Eggermann T. *Discrepant molecular and clinical diagnoses in Beckwith-Wiedemann and Silver-Russell syndromes*. Genet Res (Camb) 4;101:e3. doi: 10.1017/S001667231900003X, 2019.
- 34) MacLennan M, Crichton JH, Playfoot CJ y Adams IR. *Oocyte development, meiosis and aneuploidy*. Semin Cell Dev Biol 45; 68-76, 2015.
- 35) Maranda B, Lemieux N y Lemyre E. *Familial deletion 18p síndrome: case report*. BMC Med Genet 7:60, 2006.
- 36) Marical H, Le Bris MJ, Douet-Guilbert N, Parent P, Descourt JP, Morel F y de Braekeleer M. *A case of Direct 18p Duplication Characterized by Molecular Cytogenetic Analysis*. Am J Med Genet Part A 143A:2192-2195, 2007.
- 37) Martin CL y Warburton C. *Detection of Chromosomal Aberrations in Clinical Practice: From Karyotype to Genome Sequence*. Annu Rev Genomics Hum Genet 16:309–26, 2015.
- 38) McKinlay Gardner RJ, Sutherland GR y Shaffer LG. *Chromosome abnormalities and genetic counseling*. Oxford, 4th edition, USA, New York, 634, 2012.
- 39) Muss B y Schwanit G. *Characterization of Inversions as a Type of Structural Chromosome Aberration*. Int J Hum Genet 7(2): 141-161, 2007.

- 40) Nazaryan-Petersen L, Bertelsen B, Bak M, Jonson L, Tommerup N, Hancks DC y Turner Z. *Germline Chromothripsis Driven by L1-Mediated Retrotransposition and Alu/Alu Homologous Recombination*. Hum Mutat 37(4) 385–395, 2016.
- 41) Nussbaum RL, McInnes RR y Willard HF. *Thompson & Thompson Genética en medicina*. Elsevier Masson, 7a edición, España Barcelona, 584, 2008.
- 42) Painter T. *Studies in mammalian spermatogenesis, II. The spermatogenesis of man*. J Exp Zool 37:291–338, 1923.
- 43) Pal S, Siti MI, Ankanthil R y Zilfalil BA. *Two cases of isochromosome 18q syndrome*. Singapore Med J 48(5): e146, 2007.
- 44) Pardue ML y Gall JG. *Molecular Hybridization of radioactive DNA to the DNA of cytological preparations*. Proc Natl Acad Sci USA, 64(2):600-604, 1969.
- 45) Pasquier L, Fradin M, Chérot E, Martin-Coigna D, Colin E, Journel H, Demurger F, Akloul L, Quélin C, Jauffret V, Lucas J. Belaud-Rotureau MA, Odent S y Jaillard S, *Karyotype is not dead (yet)!* Eur J Med Genet 59: 11-15, 2016.
- 46) Paththinige CS, Sirisena ND, Kariyawasam UGIU y Kissanayeke VHW. *The Frequency and Spectrum of Chromosomal Translocations in a Cohort of Sri Lankans*. BioMed Res Int, 2019, doi.org/10.1155/2019/9797104.
- 47) Plaiasu V, Ochiana D, Motel G y Georgescu A. *A Rare Chromosomal Disorder- Isochromosome 18p Syndrome*. Maedica, 6(2):132-136, 2011.
- 48) PoliPalli SK, Karra VK, Jindal A, Puppala M, Singh P, Rawat K, Kapoor S. *Cytogenetic Analysis for Suspected Chromosomal Abnormalities; A Five Years Experience*. J Clin Diagn Res, 10(9): GC01-GC05, 2016.
- 49) Potapova T y Gorbsky GJ. *The Consequences of Chromosome Segregation Errors in Mitosis and Meiosis*. Biology 6(12) 2017.
- 50) Radford SJ, Nguyen AL, Schindler K y McKim KS. *The chromosomal basis of meiotic acentrosomal spindle assembly and function in oocytes*. Chromosoma, 126:351-364, 2017.
- 51) Romana SP y Vekemans. *Clinical Molecular Cytogenetics*. ENCYCLOPEDIA OF LIFE SCIENCES, John Wiley & Sons, 2005. doi.org/10.1038/npg.els.0005573
- 52) Ruddle FH. *Theophilus Painter: First Steps Toward an Understanding of the Human Genome*. J Exp Zool 301A:375-377, 2004.
- 53) Salazar Montes AM, Sandoval Rodríguez AS y Armenáriz Borunda JS, *Biología molecular, fundamentos y aplicaciones en las ciencias de la salud* www.accesmedicina.com, 2014.
- 54) Schaub RL, Hale DE, Rose SR, Leach RJ y Cody JD. *The spectrum of thyroid abnormalities in individuals with 18q deletions*. J Clin Endocrinol Metab 90(4)2259–2263, 2005.



- 55) Shah MS, Cinnioglu C, Maisenbacher M, Comstock I, Kort J y Lathi RB. *Comparison of cytogenetics and molecular karyotyping for chromosome testing of miscarriage specimens*. Fertil Steril, 107(4):1028-2033, 2017.
- 56) Silmani W, Khelifa HB, Dimassi S, Chioukh FZ, Jelloul A, Kammoun M, Hannachi H, Bouslah S, Jammali N, Sanlaville D, Saad A y Mougou-Zerelli S. *Clinical and molecular findings in nine new cases of tetrasomy 18p síndrome: FISH and array CGH characterization*. Mol Cytogenet 12:5, 2019.
- 57) Soileau B, Hasi M, Sebold C, Hill A, O'Donnell L, Hale DE, Cody JD. *Adults with Chromosome 18 Abnormalities*. J Genet Counsel, 24:663-674, 2015.
- 58) Speicher MR. *Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) Techniques*. ENCYCLOPEDIA OF LIFE SCIENCES, John Wiley & Sons, 2005. doi.org/10.1038/npg.els.0005779
- 59) Spivak G. *Nucleotide excision repair in humans*. DNA Repair 36:13-18, 2015.
- 60) Taylor TH, Gitlin SA, Patrick JL, Crain JL, Wilson JM y Griffin DK. *The origin, mechanisms, incidence and clinical consequences of chromosomal mosaicism in humans*. Hum Reprod Update 20(4):471-481, 2014.
- 61) Takeda K, Okamura T y Hasegawa T. *Sibs with tetrasomy 18p born to a mother with trisomy 18p*. J Med Genet, 26:195–197, 1989.
- 62) Tjio JH y Levan A. *The Chromosome Number of Man*. Hereditas, 42, 1-6, 1956.
- 63) Toker A y Salzer L. *Trisomy 18: How Far Should We Go?* IMAJ, 14;515-517, 2012.
- 64) Touati SA y Wassmann K. *How oocytes try to get it right: spindle checkpoint control in meiosis*. Chromosoma 125:321–335, 2016.
- 65) Turlea C y De Grouchy J. *Trisomy 18qter and trisomy mapping of chromosome 18*. Clin Genet 12: 361-371, 1977.
- 66) Turleau C, Chavin-Colin F, Narbouton R, Asensi D y De Grouchy J. *Trisomy 18q-. Trisomy mapping of chromosome 18 revisited*. Clin Genet 18 :20-26, 1980.
- 67) Turleau C. *Monosomy 18p Review*. Orphanet J Rare Dis 3:4, 2008.
- 68) Turnpenny PE y Ellard S. *Emery's Elements of Medical Genetics*. Elsevier Churchill Livingstone, 14 edición, Philadelphia EUA, 423, 2012.
- 69) van Kessel AG, Silverman G. *Chromosome 18*. ENCYCLOPEDIA OF LIFE SCIENCES, John Wiley & Sons, 2005. doi.org/10.1038/npg.els.0005827
- 70) Verma RS y Babu A. *Human Chromosomes Principles and Techniques*. McGraw-Hill, 2th edition, USA, New York, 1995
- 71) Villalpando Muñoz MY. *Prevalencia de aberraciones cromosómicas en la población estudiada en el Servicio de Genética del Hospital General de México en el periodo comprendido entre*

- enero de 1980 y diciembre de 2006. Tesis para obtener el título de Química Farmacéutica Bióloga, Facultad de Química, UNAM, 2010.
- 72) Villaseñor Domínguez A. *Análisis clínico, citogenético y molecular de dos casos con alteración estructural del cromosoma 18*. Tesis para obtener el título de Especialista en Genética Médica, Facultad de Medicina, UNAM, 2016.
- 73) Vorsanova SG, Yurov YB y Iourov IY. *Human interphase chromosomes: review of available molecular cytogenetic technologies*. Mol Cytogenet 3:1, 2010.
- 74) Webster A y Schuh M. *Mechanism of aneuploidy in human eggs*. Trends Cell Biol 27(1):55-68, 2017.
- 75) Yao H, Yang C, Huang X, Yang L, Zhao W, Yin D, Qin Y, Mu F, Liu L, Tian P, Liu Z y Yang Y. *Breakpoints and deleted genes identification of ring chromosome 18 in a Chinese girl by whole-genome low-coverage sequencing: a case report study*. BMC Med Genet 17:49, 2016.
- 76) Zanders SE y Malik HS. *Chromosome Segregation: Human Female Meiosis Breaks All the Rules*. Curr Biol 25, R654-R676, August 3, 2015.
- 77) Zuñiga Rodriguez FG. *Análisis de alteraciones del cromosoma 18 en pacientes atendidos en el Departamento de Genética del Hospital Infantil de México Federico Gómez de 1998 a 2008. Revisión de 2 casos*. Tesis para obtener el título de Especialista en Genética Médica, Facultad de Medicina, UNAM, 2010.

## ANEXO I. Técnica de Cariotipo con Bandas GTG

### Cultivo, cosecha y preparación de laminillas

El cariotipo con bandas GTG se realizó por cultivo de células a partir de una muestra de sangre periférica heparinizada, 0.5ml de sangre completa se siembra en un tubo estéril de 15ml con 4.5ml de medio RPMI 1640, un medio enriquecido para crecimiento de células de mamífero. Se utilizó fitohemaglutinina (FHA) como mitógeno, una lectina que se une a la membrana celular de los linfocitos T estimulando la división celular. El cultivo se realiza por duplicado y se incuba 72 horas a 37°C.

Pasadas las 72 horas se procede a la cosecha. Se agregó colchicina en concentración 0.02%, que produce un arresto mitótico de las células en división durante la metafase interfiriendo con la organización de microtúbulos, en particular con la formación del huso mitótico. Se incubo a 37°C durante 30 minutos, terminado el tiempo se centrifugó a 3000 rpm durante 5 minutos y se decantó el sobrenadante. El botón se resuspendió en una solución hipotónica 0.075M de cloruro de potasio (KCl), de igual manera se incubó a 37°C durante 30 minutos y se procedió a la prefijación agregando lentamente 2ml de fijador de Carnoy (metanol absoluto-ácido acético glaciar 3:1). Se centrifugó de nuevo a 3000 rpm durante 5 minutos y se decantó, al botón se le agrega más fijador y este ciclo de lavado se repitió 2-3 veces hasta que el botón se observó limpio. Y se prepararon las laminillas mediante el goteo y secado al aire. Para su deshidratación se guardaron a temperatura ambiente de 1-3 días o en incubadora a 37°C durante una noche (Figura 21) (modificado de Verma RS y Babu A, 1995).

## Técnica de Cariotipo

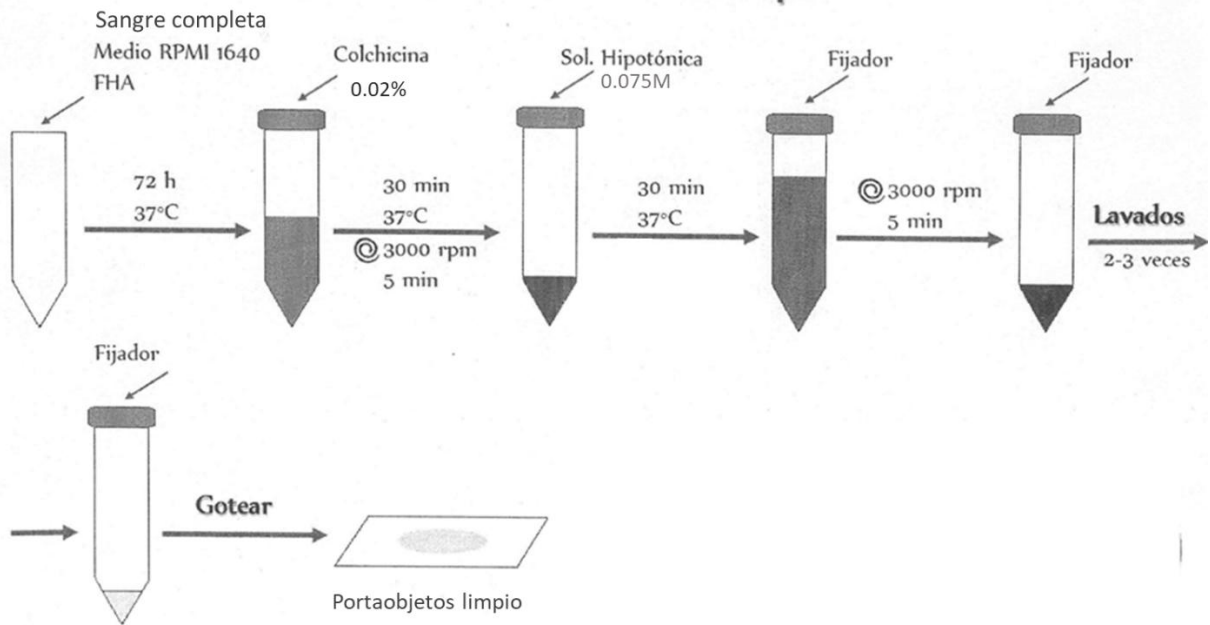


Figura 21. Técnica de cultivo y cosecha de linfocitos para cariotipo utilizada en el Servicio de Genética, HGMEI. PHA Fitohemaglutinina.

Para la técnica de tinción de bandas GTG, las laminillas se sumergieron en una solución de tripsina 0.02% en amortiguador de fosfatos pH 7 (amortiguador de Sorensen 0.06M) durante 7-10 minutos.

Se enjuagaron con solución amortiguadora de fosfatos pH 6.8 (2-30 segundos) y posteriormente se tiñeron con colorante de Giemsa durante 2-5 minutos. Se lavaron con agua corriente y se dejaron secar al aire. Finalmente, las laminillas se montaron con 3 gotas de resina sobre la muestra teñida y se coloca un cubreobjetos evitando la formación de burbujas (modificado de Verma RS y Babu A, 1995).

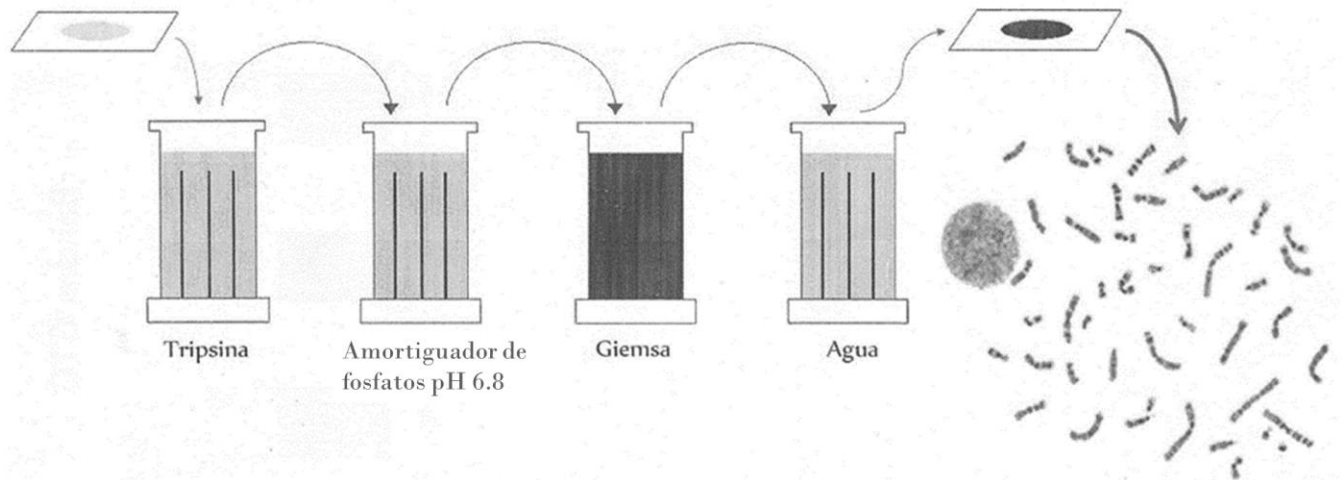


Figura 22. Técnica de tinción de bandas GTG utilizada en el Servicio de Genética, HGMEI.

## REACTIVOS

Amortiguador de Sorensen pH 6.8 ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  7.08g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  6.72g por litro)

Amortiguador de Sorensen pH 7.0 ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  8.65g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  5.26g por litro)

Medio RPMI 1640 Gibco, Thermo Fisher Scientific, Third Avenue, Waltham, MA, EUA

Fitohemaglutinina (FHA) Gibco, Thermo Fisher Scientific, 168 Third Avenue, Waltham, MA, EUA

Colchicina Sigma, Spruce Street, San Louis, Missouri, EUA

KCl Merck, KGaA, Darmstadt, Alemania

$\text{Na}_2\text{HPO}_4$  Merck, KGaA, Darmstadt, Alemania

$\text{KH}_2\text{PO}_4$  Merck, KGaA, Darmstadt, Alemania

Colorante de Giemsa, Hycel Zapopan, Jalisco, México

Ácido acético glacial Grupo Internacional ICR, Iztapalapa, CDMX, México

Metanol Grupo Internacional ICR, Iztapalapa, CDMX, México

## ANEXO II. Técnica de Hibridación *in situ* Fluorescente

Para esta técnica el cultivo de linfocitos de sangre periférica y su cosecha se realizó de acuerdo a lo descrito en el Anexo I. Para la preparación de las laminillas se utilizó en un portaobjetos limpio, en el cual se coloca fijador de Carnoy, suficiente para formar una capa sobre él portaobjetos y el goteo de la preparación se realizó con la punta de la micropipeta pegada a la laminilla y con una inclinación de 45° y se deja secar al aire. Se colocaron 10µL del botón celular concentrado, para asegurar que se tuviera el material suficiente para su análisis. La hibridación se realizó en el primer día y al día siguiente se procedió al lavado, montaje y observación de acuerdo a las del fabricante de la sonda utilizadas (modificado de Vysis, Abbott, Abbott Park, Illinois, EUA).

### Día 1. Hibridación

Se coloca la laminilla en una solución salina citratada doble (2x SSC) con pH 7.0 a 37°C durante 30 minutos. Posteriormente se pasa la laminilla a baños de etanol al 70%, 85% y 100% durante dos minutos en cada uno, de menor a mayor concentración para deshidratar el material y se deja secar al aire.

Evitando la exposición a la luz se prepara la mezcla de hibridación en un tubo para microcentrífuga colocando 0.5µL de cada sonda a utilizar y completar con solución amortiguadora de hibridación para 5 µL. Se microcentrífuga de 1-3 segundos y se coloca sobre la laminilla, en la zona donde se localiza el material y se cubre con un cubreobjetos de 18x18mm, limpio, evitando la formación de burbujas y se sella para evitar la evaporación. Se procede a la co-desnaturalización sobre una platina caliente (71°C durante 2 minutos). Se incubó a 37°C en cámara húmeda (24-48 horas).

### Día 2. Lavados

Se saca la laminilla de la cámara húmeda, y se retira el cubreobjetos con cuidado para evitar rallar el material. Sumergir en la solución amortiguadora de lavado 1 doble a 65° C por 10 minutos. Pasar la laminilla a la solución amortiguadora de lavado 2 a temperatura

ambiente durante 1 minuto. Posteriormente se coloca la laminilla en baños de etanol al 70%, 85% y 100%, 2 minutos en cada uno. Para finalizar se colocan con 6µL de contratinción DAPI con solución antidesvanecedora, y se cubre usando un cubreobjetos de 22x22mm evitando la formación de burbujas.

En ese momento se puede observar al microscopio de fluorescencia utilizando el filtro correcto según la marca de la sonda a observar (de acuerdo a las indicaciones del fabricante del fluorocromo con que se encuentra marcada la sonda).

## REACTIVOS

Solución amortiguadora de lavado 1. Solución de citratos doble (2X SSC)/0.1% NP-40

Solución amortiguadora de lavado 2. Solución de citratos (1X SSC)/0.3% NP-40