



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**

**CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI  
UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD  
HOSPITAL DE PEDIATRÍA “DR. SILVESTRE FRENK FREUND”**

**FRECUENCIA Y CARACTERIZACIÓN CLÍNICO-MOLECULAR DE LAS  
VARIANTES EN EL NÚMERO DE COPIAS EN UNA SERIE DE PACIENTES CON  
NEUROREGRESIÓN Y ANOMALÍAS MORFOLÓGICAS  
Y/O FUNCIONALES CONGÉNITAS DE LA  
UMAE HOSPITAL DE PEDIATRÍA CMN SIGLO XXI**

Deriva de una enmienda del proyecto original  
“Estudio genómico en niños mexicanos con malformaciones congénitas múltiples”  
con número de registro: R-2016-785-044  
Enmienda CNIC- 2129611

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN:  
**GENÉTICA MÉDICA**

**PRESENTA**

**CELIA ELIANA MARTÍNEZ RAMÍREZ**

**TUTORES**

**DRA. HAYDEÉ ROSAS VARGAS**

JEFA DE UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN GENÉTICA HUMANA.

**DR. ALAN CÁRDENAS CONEJO**

PROFESOR ADJUNTO Y MÉDICO ADSCRITO AL DEPARTAMENTO DE GENÉTICA MÉDICA

**Q.F.B LUZ MARÍA GARDUÑO ZARAZÚA**

RESPONSABLE DEL LABORATORIO DE CITOGENÉTICA Y CITOGENÓMICA  
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN MÉDICA EN GENÉTICA HUMANA



Ciudad de México, Agosto de 2023



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

### **Identificación de los investigadores:**

Alumna: Dra. Celia Eliana Martínez Ramírez

Dirección: Av. Cuauhtémoc 330. Colonia Doctores. Delegación Cuauhtémoc. CP 06720. México D.F. Teléfono: 56 27 69 00 Extensión: 22281. Correo electrónico: celiarmartinez@ramirezz.com

### **TUTORES**

Dra. Haydeé Rosas Vargas, Investigador Titular A (Miembro Del Sistema Nacional de Investigadores). Jefa de Unidad de Investigación en Genética Humana en UMAE Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI. Dirección: Av. Cuauhtémoc 330. Colonia Doctores. Delegación Cuauhtémoc., CP 06720. México D.F. Teléfono: 56 27 69 00 Extensión. 21941 y 21945. Correo electrónico: hayrov@gmail.com

Dr. Alan Cárdenas Conejo, Especialista en Genética Médica. Departamento de Genética Médica. UMAE Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI Dirección: Av. Cuauhtémoc 330. Colonia Doctores. Delegación Cuauhtémoc., CP 06720. México D.F. Teléfono: 56 27 69 00 Extensión. 22281. Correo electrónico: alan.cardenasc@imss.gob.mx

Q.F.B Luz María Garduño Zarazúa, Responsable del Laboratorio de Citogenética y Citogenómica Unidad de Investigación Médica en Genética Humana en UMAE Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI Dirección: Av. Cuauhtémoc 330. Colonia Doctores. Delegación Cuauhtémoc., CP 06720. México D.F. Teléfono: 56 27 69 00 Extensión. 21941 y 21945. Correo electrónico: luzmazarazua@gmail.com

## **AGRADECIMIENTOS**

*Quisiera aprovechar este espacio para agradecer a todas aquellas personas que han formado parte de este largo y satisfactorio trayecto personal y profesional.*

*A los pacientes y sus familiares por su confianza y paciencia para dar un paso más en la integración diagnóstica, para mejorar su calidad de vida, explicar un por qué y poder brindar un asesoramiento genético integral.*

*A mi familia, por su comprensión y paciencia, sé que no ha sido fácil el camino hasta ahora, agradezco cada uno de esos momentos que han estado a mi lado para apoyarme, por su estímulo constante y por darme esa fortaleza para seguir adelante. Gracias por haberme forjado para ser la persona que soy hoy en día.*

*Al Dr. Alan Cárdenas quien forma una gran parte importante en este trabajo, por guiarme, enseñarme y motivarme a siempre ver y dar lo mejor por y para los pacientes.*

*Al Dr. Juan Carlos Huicochea por ser un gran ejemplo en todos los sentidos, por enseñarme la importancia de la empatía, nobleza y respeto hacia los pacientes y sus familiares.*

*A la QFB Luz María, por su tiempo, sobre todo su paciencia y enseñanzas para llevar a cabo este proyecto y por su bonita amistad.*

*A mis compañeros, colegas y grandes amigos Ana Paula, Pedrito, David, Emilio, Daniel, Sam, Héctor, que durante estos tres años me han acompañado en este camino, brindándome su comprensión, apoyo y enseñanzas, que sin ellos esto no hubiera sido posible. Gracias por su amistad.*

*A mis amigas por siempre empujarme y darme esa confianza para no rendirme, por escucharme en cada momento y por siempre estar.*

*Finalmente, agradezco a todas aquellas personas, maestros de vida, que de un modo u otro fueron parte de mi formación, invirtieron tiempo en sus enseñanzas, me brindaron consejos y ejemplos de humildad, por que gracias a todo eso, han fomentado en mí ese deseo de ser una mejor persona cada día y dar lo mejor siempre para mis pacientes.*

*Con amor y gratitud,*

*Bibi*

# ÍNDICE

<b>ABREVIATURAS</b> .....	<b>5</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>6</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>7</b>
<b>MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>8</b>
<b>NEUROREGRESIÓN</b> .....	<b>8</b>
<i>Definición</i> .....	<b>8</b>
<i>Epidemiología</i> .....	<b>8</b>
<i>Causas asociadas</i> .....	<b>9</b>
<b>ANOMALÍAS CONGÉNITAS</b> .....	<b>9</b>
<b>ANOMALÍAS MORFOLÓGICAS CONGÉNITAS</b> .....	<b>10</b>
<i>Definición</i> .....	<b>10</b>
<i>Clasificación</i> :.....	<b>10</b>
<b>ANOMALÍAS FUNCIONALES CONGÉNITAS</b> .....	<b>12</b>
<b>ASESORAMIENTO GENÉTICO</b> .....	<b>13</b>
<b>HERRAMIENTAS DIAGNÓSTICAS CITOGÉNÉTICAS Y MOLECULARES</b> .....	<b>14</b>
<i>Cariotipo</i> .....	<b>14</b>
<i>Microarreglos cromosómicos</i> .....	<b>16</b>
<b>ANTECEDENTES</b> .....	<b>19</b>
<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>19</b>
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	<b>20</b>
<b>PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN</b> .....	<b>20</b>
<b>OBJETIVO GENERAL:</b> .....	<b>20</b>
<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	<b>20</b>
<b>HIPÓTESIS:</b> .....	<b>21</b>
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	<b>21</b>
<b>ANÁLISIS</b> .....	<b>22</b>
<b>DISEÑO DE ESTUDIO</b> .....	<b>22</b>
<b>POBLACIÓN O UNIVERSO DE ESTUDIO:</b> .....	<b>22</b>
<b>LUGAR DONDE SE DESARROLLÓ EL ESTUDIO:</b> .....	<b>23</b>
<b>CRITERIOS DE SELECCIÓN</b> .....	<b>23</b>
<b>CRITERIOS DE INCLUSIÓN:</b> .....	<b>23</b>
<b>CRITERIOS DE NO INCLUSIÓN:</b> .....	<b>23</b>
<b>CRITERIOS DE ELIMINACIÓN</b> .....	<b>23</b>
<b>TIPO DE MUESTREO:</b> .....	<b>23</b>
<b>TAMAÑO DE LA MUESTRA:</b> .....	<b>24</b>
<b>ANÁLISIS ESTADÍSTICO:</b> .....	<b>24</b>
<b>DEFINICIÓN OPERATIVA DE VARIABLES</b> .....	<b>24</b>
<b>DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO</b> .....	<b>31</b>
<b>DIAGRAMA DE FLUJO DE ESTRATEGIA DE TRABAJO</b> .....	<b>32</b>
<b>ACTIVIDADES ESPECÍFICAS DEL ALUMNO</b> .....	<b>32</b>

<b>ASPECTOS ÉTICOS-LEGALES .....</b>	<b>33</b>
RIESGO DE LA INVESTIGACIÓN .....	33
BENEFICIOS POSIBLES PARA PARTICIPANTES Y SOCIEDAD .....	33
BALANCE RIESGO/BENEFICIO.....	34
CONFIDENCIALIDAD Y PRIVACIDAD DE LA INFORMACIÓN DE LOS PARTICIPANTES .....	34
CARTAS DE CONSENTIMIENTO .....	34
SELECCIÓN DE PARTICIPANTES .....	35
CONFLICTO DE INTERESES.....	35
<b>RECURSOS, FINANCIAMIENTO, FACTIBILIDAD.....</b>	<b>35</b>
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>38</b>
DESCRIPCIÓN DEL PACIENTE Y RESULTADOS DE MICROARREGLOS SNP CASO MCM.001.21.....	38
DESCRIPCIÓN DEL PACIENTE Y RESULTADOS DE MICROARREGLOS SNP CASO MCM.002.22.....	41
DESCRIPCIÓN DEL PACIENTE Y RESULTADOS DE MICROARREGLOS SNP CASO MCM.003.22.....	46
DESCRIPCIÓN DEL PACIENTE Y RESULTADOS DE MICROARREGLOS SNP CASO MCM.004.22.....	49
DESCRIPCIÓN DEL PACIENTE Y RESULTADOS DE MICROARREGLOS SNP CASO MCM.005.22.....	51
DESCRIPCIÓN DEL PACIENTE Y RESULTADOS DE MICROARREGLOS SNP CASO MCM.006.22.....	54
DESCRIPCIÓN DEL PACIENTE Y RESULTADOS DE MICROARREGLOS SNP CASO MCM.007.22.....	57
DESCRIPCIÓN DEL PACIENTE Y RESULTADOS DE MICROARREGLOS SNP CASO MCM.008.22.....	59
<b>DISCUSIÓN DE CASOS.....</b>	<b>67</b>
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>71</b>
<b>CONCLUSIÓN .....</b>	<b>75</b>
<b>LIMITACIONES .....</b>	<b>76</b>
<b>PERSPECTIVAS A FUTURO.....</b>	<b>76</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>76</b>
ANEXO 1. DICTAMEN ENMIENDA.....	80
ANEXO 2. CARTAS DE CONSENTIMIENTO DEL PROTOCOLO .....	81
ANEXO 3. HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS .....	87
ANEXO 4. EXTRACCIÓN DE DNA DE SANGRE PERIFÉRICA .....	91
ANEXO 5. PROCEDIMIENTO MICROARREGLOS .....	93

## **ABREVIATURAS**

**CNV-** Variantes en el Número de Copias

**TEA-** trastorno del Espectro Autista

**OMIM** Online Mendelian Inheritance in Man

**DECIPHER** Base de Datos de desequilibrios cromosómicos y fenotipo en humanos usando recursos de Ensembl.

**SNPs** Polimorfismos de Solo un Nucleótido

**aSNP** microarreglo SNP

**DI** Discapacidad intelectual

## RESUMEN

**Antecedentes.** Las anomalías congénitas tienen una prevalencia de 2-3% en la población general (1) y pueden ocurrir como fenómenos aislados o como manifestaciones componentes de síndromes más complejos y son causalmente heterogéneos (2) ya sea de origen genético, ambientales, infecciosos, enfermedad materna o una combinación de estos. Dentro de las causas genéticas, las alteraciones cromosómicas representan el 6-10% del total. Estas pueden ser numéricas y estructurales (3). La neuroregresión, aunque no existe una definición estandarizada, la podemos definir como la pérdida de habilidades previamente adquiridas que no son causadas por una lesión cerebral u otros eventos traumáticos (4), infecciosos o la ausencia de progresión funcional de los mismos posterior a un desarrollo aparentemente normal durante los primeros uno o dos años de vida (5). Para fines de nuestro estudio, se tomó esta definición incluyendo que presentaran o no alteraciones del lenguaje. En la literatura existen reportes en los cuales se describen variantes en el número de copias (CNVs) patogénicas como el origen de la presencia de anomalías morfológicas congénitas y retraso global del desarrollo, así como también con la presencia de trastorno de espectro autista. **Objetivo.** Determinar la frecuencia y caracterización clínico-molecular de las variantes en el número de copias (CNVs) en una serie de pacientes con neuroregresión y anomalías morfológicas y/o funcionales congénitas de la UMAE Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI **Material y métodos.** Estudio de serie de casos. Se eligieron ocho pacientes conforme cumplieron criterios de inclusión. El Departamento Clínico de Genética Médica del Hospital de Pediatría del CMN Siglo XXI examinó y clasificó el tipo de anomalía morfológica y/o funcional congénita presente en los pacientes aunado a la presencia de neuroregresión. Se solicitó el consentimiento debidamente informado a las familias de los niños que cumplieron los criterios de inclusión para la toma de muestra de sangre periférica. Se tomaron las muestras de sangre periférica por venopunción, la cual se utilizó para las pruebas de citogenética clásica y para la extracción de DNA con el fin de realizar el análisis genómico. El procesamiento de muestras, técnicas de citogenética molecular, tanto extracción de DNA y microarreglos SNP fueron realizados en la Unidad de Investigación Médica en Genética Humana. Las CNVs se analizaron y evaluaron en función del fenotipo. Para la interpretación y análisis de CNVs, se utilizaron las bases de datos Franklin by Genoox, Varsome, DECIPHER, Database of Genomic Variants y OMIM. Se caracterizaron las anomalías morfológicas y/o funcionales de cada uno de los casos y se interpretaron las CNVs para establecer su significancia clínica. Una vez obtenidos los resultados, se citó a los padres del paciente para brindar el asesoramiento genético integral, el cual fue efectuado por los médicos adscritos al servicio de Genética Médica.

**Resultados y conclusión.** Se incluyeron a ocho pacientes y sus progenitores, respecto a las características demográficas, la distribución por sexo fue la siguiente: seis pacientes (75%) fueron del sexo femenino y dos pacientes (25%) fueron del sexo masculino, la edad más temprana a la que se le brindó atención a un paciente con anomalías morfológicas y/o funcionales congénitas y neuroregresión fue de 10 meses y la edad máxima fue de 12 años. Se reportaron un total de 34 CNVs en todos los casos, siendo 20 (58.8%) clasificadas como variantes benignas, 13 (38.2%) como variantes de significado incierto y 1 (3%) como variante patogénica. En el caso MCM.008.22 se observó un síndrome de microdelección 15q21.2q22.31, la región comprende una eliminación de 14,188 Kbp que incluyó a 76 genes OMIM. El mecanismo que por el cual se originó la variante patogénica fue por una delección *de novo*. El rendimiento diagnóstico de microarreglos para neuroregresión y anomalías congénitas fue del 12.5%.

**Recursos e infraestructura.** La fase clínica del proyecto tuvo lugar en la consulta externa del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI, el resto de los procedimientos se realizó en la Unidad de Investigación Médica en Genética Humana.

**Experiencia del grupo de investigación.** Se contó con la participación de investigadores expertos en el área de la genética médica, citogenética y biología molecular.

**Tiempo en que se desarrolló el proyecto.** 2 años

## INTRODUCCIÓN

Las anomalías congénitas tienen una prevalencia de 2-3% en la población general (1) y pueden ocurrir como fenómenos aislados o como manifestaciones componentes de síndromes más complejos y son causalmente heterogéneos (2) ya sea de origen genético, ambientales, infecciosos, enfermedad materna o una combinación de estos; con frecuencia es difícil determinar las causas exactas. Las anomalías congénitas pueden ser morfológicas y/o funcionales. La clave para una buena práctica en la consulta de Genética Médica es la observación meticulosa y precisa, la medición y la documentación de los hallazgos clínicos encontrados en la exploración física dismorfológica (6), esto con el fin de poder determinar el origen y realizar una correlación con el desarrollo embrionario, encaminado a establecer las causas que pudieran explicar el fenotipo clínico y/o funcional presente en el paciente. Es importante mencionar que desde el primer contacto, durante la etapa inicial de la atención médica en salud del paciente con sospecha de una entidad de origen genético, se debe realizar una historia clínica detallada. Es posible encontrar una gran variabilidad y complejidad del paciente dismorfológico; por ello es muy importante determinar, desde el punto de vista clínico en el estudio del paciente dismorfológico, la presencia de anomalías morfológicas congénitas mayores y menores, si es pre o postnatal, si presenta una anomalía única o presenta múltiples anomalías (7). También debemos considerar si pudiera tratarse de una entidad de origen multifactorial. Así mismo, de acuerdo a nuestra sospecha diagnóstica clínica, podemos determinar que estudio ya sea de citogenética o de biología molecular podría considerarse para establecer un diagnóstico etiológico, según sea el caso. Debemos recordar que existen limitantes de estos estudios dependiendo la metodología utilizada. En nuestro estudio, mediante el análisis y la caracterización de variantes en el número de copias así como también la descripción de las características clínicas en un grupo de pacientes con neuroregresión, realizamos un primer abordaje clínico-molecular para de este modo intentar establecer el origen de estos hallazgos. Hasta el momento, no se ha establecido una definición operacional de la neuroregresión por lo que resulta complicado poder establecer el origen de esta cuando se asocia a la presencia de anomalías congénitas. Tampoco se ha reconocido qué estudio ya sea de citogenética o de biología molecular podría ser de utilidad para determinar el origen de la neuroregresión. Por ello consideramos necesario caracterizar una serie de casos, con el fin de establecer un diagnóstico clínico en particular, ya sea que esté causado o no por variantes en el número de copias, para poder conocer el origen primario de la neuroregresión y con base en ello, ofrecer un asesoramiento genético integral.

## **MARCO TEÓRICO**

### **NEUROREGRESIÓN**

#### Definición

La neuroregresión fue descrita por primera vez hace más de 110 años por Theodor Heller, quien escribió sobre una enfermedad que denominó "Dementia Infantilis", en la que los niños perdían repentinamente funciones adaptativas, como la sociabilidad y el lenguaje, y desarrollaban comportamientos estereotipados tras un desarrollo mayoritariamente normal hasta su tercer o cuarto año de vida sin una causa clara, como una enfermedad aguda, convulsiones o traumatismos (8).

Hoy en día, se ha definido a la neuroregresión como la pérdida de habilidades previamente adquiridas que no son causadas por una lesión cerebral u otros eventos traumáticos (4), infecciosos o la ausencia de progresión funcional de los mismos posterior a un desarrollo aparentemente normal durante los primeros uno o dos años de vida (5). Para fines de nuestro estudio, se tomará esta definición incluyendo que presenten o no alteraciones del lenguaje. Sin embargo, después de más de 70 años de investigación sobre este concepto, todavía no existe una definición publicada y estandarizada de cómo debe operacionalizarse específicamente la "neuroregresión" (5) ni tampoco existen medidas estándar para capturar la regresión del desarrollo y sus antecedentes. En la práctica clínica y la investigación, no siempre es posible documentar de manera precisa y completa el logro de habilidades, el inicio de su pérdida y la trayectoria de desarrollo antes y después de la pérdida de habilidades. En la actualidad, no existe un método retrospectivo estándar de oro para medir la aparición, el inicio y otras características de la regresión del desarrollo en niños con trastorno del espectro de autismo (TEA) (5).

#### **Epidemiología**

No existen datos específicos en la literatura que reporten la prevalencia de neuroregresión. Existen múltiples estudios en los cuales describen neuroregresión como parte del trastorno del espectro autista, sin embargo, dado que las definiciones operativas circunscriben necesariamente el alcance de cualquier fenómeno considerado,

es probable que la variabilidad de las definiciones influya en la prevalencia reportada de la neuroregresión.

Las tasas de prevalencia de neuroregresión difieren según los cuatro tipos de neuroregresión descritos en TEA: regresión del lenguaje, 24,9%; regresión del lenguaje/social (38,1%); regresión mixta u otros dominios de regresión como la pérdida de habilidades adaptativas, 32,5%; y regresión no especificada cuando no se proporcionó una definición operativa de regresión, 39,1%. En general, la tasa de prevalencia media ponderada para cualquier tipo de regresión del desarrollo es de 32,1%; IC del 95 % [29,5; 34,8] (9).

### **Causas asociadas**

La neuroregresión puede estar presente de forma aislada, asociada a alteraciones neurológicas como trastorno de espectro autista, que es la condición mas frecuentemente asociada (10) y discapacidad intelectual o también puede encontrarse asociada a un síndrome con la presencia de diversas anomalías morfológicas congénitas con un posible origen monogénico, cromosómico o multifactorial.

Se han descrito en la literatura síndromes de origen monogénico (Síndrome de Rett), errores innatos del metabolismo y de origen multifactorial, pero no se ha profundizado en el establecimiento de posibles alteraciones cromosómicas estructurales (deleciones y duplicaciones) como causas de neuroregresión y anomalías morfológicas y/o funcionales congénitas.

Hasta el día de hoy, el origen preciso de la neuroregresión sigue siendo en gran parte desconocidos, se cree que es una compleja interacción entre factores biológicos y ambientales (4).

### **ANOMALÍAS CONGÉNITAS**

Las anomalías congénitas tienen una prevalencia de 2-3% en la población general (1) y pueden ocurrir como fenómenos aislados o como manifestaciones componentes de síndromes más complejos y son causalmente heterogéneos (2) ya sea de origen genético, ambientales, infecciosos, enfermedad materna o una combinación de estos; con frecuencia es difícil determinar las causas exactas. Las anomalías congénitas pueden ser morfológicas y/o funcionales.

## **ANOMALÍAS MORFOLÓGICAS CONGÉNITAS**

### **Definición**

Un grupo internacional de clínicos que trabajan en el campo de la dismorfología ha establecido un proceso para la normalización de los términos utilizados para describir la morfología humana, que tiene como objetivo estandarizar estos términos y desarrollar un consenso con respecto a sus definiciones. Las anomalías morfológicas se definen como un fenotipo anatómico microscópico y macroscópico que representa una desviación de la población de referencia. Se utiliza la palabra morfológico como calificativo de anomalía para distinguir los atributos estructurales o anatómicos de los fisiológicos.

**Clasificación:** Las anomalías morfológicas congénitas se clasifican en mayores y menores.

**Mayores:** cuando tienen una consecuencia significativa para la salud o apariencia al momento de la evaluación, la tuvo o la tendrá en un futuro

**Menores:** cuando tienen consecuencias mínimas o que no tienen consecuencias para la salud, pero puede tener un impacto en la apariencia.

Las anomalías, ya sean mayores o menores (incluidas malformaciones, deformaciones, alteraciones, displasias y secuencias), pueden presentarse como fenómenos aislados o como manifestaciones de patrones o síndromes más amplios y son causalmente heterogéneas (2). Estas a su vez, se clasifican dependiendo el origen o el momento específico en el desarrollo normal en el que se llevó a cabo la alteración para que se originara la anomalía.

**Malformación:** Anomalía morfológica congénita no progresiva de un solo órgano o parte del cuerpo debida a una alteración en el programa de desarrollo primario. Las malformaciones suelen surgir durante el periodo embrionario. Una malformación, puede producirse como fenómeno aislado o como manifestación componente de patrones más amplios (2).

**Deformación:** Alteración de la forma o posición de una parte del cuerpo debida a fuerzas mecánicas aberrantes que distorsionan una estructura que, por lo demás, es normal. Las deformaciones pueden dar lugar a una pérdida de simetría, una alineación alterada, una posición anormal o una configuración distorsionada. Las deformaciones son causalmente heterogéneas y pueden producirse como consecuencia de fuerzas mecánicas extrínsecas o intrínsecas. Las deformaciones pueden producirse en cualquier momento de la gestación o después del nacimiento, generalmente posterior a la organogénesis. Las deformaciones suelen ser reversibles después del nacimiento, dependiendo de su duración y del grado de crecimiento posterior a la fuerza de compresión inicial (2).

**Disrupción:** Anomalía morfológica congénita no progresiva debida a la ruptura de una estructura corporal que tenía un potencial de desarrollo normal. El momento y la naturaleza del evento perturbador determinarán las consecuencias posteriores y pueden dar lugar a la perturbación del crecimiento y desarrollo normales y a la destrucción del tejido existente. Existen muchos orígenes posibles de las alteraciones, incluidos los vasculares, infecciosos, teratogénicos y mecánicos. Una alteración temprana puede dar lugar a una malformación secundaria (2).

**Displasia:** Anomalía morfológica que surge prenatal o postnatalmente de una alteración dinámica o continuada de la constitución celular, la organización tisular o la función dentro de un órgano específico o un tipo de tejido específico. Dado que el defecto puede afectar a todos los sitios anatómicos en los que está presente el elemento tisular afectado, puede haber una afectación generalizada, que no se limita a un único órgano. Dado que el propio tejido es intrínsecamente anómalo, la repercusión clínica puede persistir o empeorar mientras ese tejido siga creciendo o funcionando (2).

**Síndrome:** es un patrón de anomalías, al menos una de las cuales es morfológica, que se sabe o se cree que están relacionadas causalmente (etiológicamente), pero que no necesariamente su patogenia están relacionadas entre sí (2).

**Secuencia:** Una o más anomalías morfológicas secundarias conocidas o presumibles en cascada a partir de una única malformación, alteración, displasia o deformación. Una secuencia es un proceso mecánico que comprende una serie de acontecimientos que son consecuencia de una anomalía. Las anomalías derivadas no se atribuyen directamente a la causa primaria (etiología), como una variante patogénica en un gen. Uno de los retos a la hora de definir y describir una secuencia es distinguir y describir el orden de los efectos primarios, secundarios o terciarios (2).

**Asociación:** es un patrón de anomalías, de las que al menos dos son morfológicas, que se presentan juntas con mayor frecuencia de lo esperado por azar, y en el que no se ha identificado una relación causal (2).

### **ANOMALÍAS FUNCIONALES CONGÉNITAS**

Las anomalías funcionales congénitas son aquellas que interrumpen procesos biológicos del desarrollo, es decir, las funciones fisiológicas, que no implican algún cambio macroscópico de la anatomía normal. Estas pueden ser alteraciones hematológicas, inmunológicas, metabólicas, pero también incluye alteraciones a nivel del sistema nervioso central como alteraciones del aprendizaje y del lenguaje, discapacidad intelectual, crisis epilépticas, trastornos del comportamiento y del neurodesarrollo, pérdida de habilidades previamente adquiridas o regresión del neurodesarrollo, trastorno del espectro de autismo, entre otras. También forman parte los problemas auditivos (hipoacusia neurosensorial y conductivo) y visuales (ceguera). Los trastornos metabólicos pueden implicar problemas en los procesos que ayudan al organismo a descomponer determinadas sustancias o también puede ser secundario a alteraciones en la función de algunas glándulas en específico. Recientemente, se incluye dentro de las anomalías funcionales, las alteraciones inmunológicas, como son las enfermedades autoinmunes y el cáncer.

Dentro de las causas genéticas del origen de las anomalías morfológicas, las alteraciones cromosómicas representan del 6-10% del total. Estas pueden ser numéricas y estructurales. Las alteraciones numéricas consisten en la ganancia y/o pérdida de uno o varios cromosomas. Por otra parte, los cambios en la estructura de uno o varios

cromosomas (deleciones, duplicaciones, inversiones, translocaciones) corresponden a anomalías estructurales (3). En nuestro país, existen pocos estudios sobre la frecuencia y tipo de alteraciones cromosómicas en pacientes con anomalías morfológicas y trastornos del neurodesarrollo, en particular, los resultados de una tesis de especialidad en nuestro hospital, mostraron una frecuencia del 25% de las CNVs eran *de novo* y en el 50% se clasificaron como patogénicas (11).

### **ASESORAMIENTO GENÉTICO**

El médico genetista, al menos en nuestro medio tiene una función que es dual, dado que es el encargado de llevar a cabo el proceso diagnóstico y también el responsable del proceso de comunicación, conocido como asesoramiento genético (12). La Sociedad Nacional de Asesores en Genética definen el asesoramiento genético como el proceso de ayudar a las personas a comprender y adaptarse a las implicaciones médicas, psicológicas y familiares de las contribuciones genéticas a la enfermedad (13). Como parte fundamental del asesoramiento genético, es importante establecer un enfoque clínico de las enfermedades genéticas que aborde a la persona en su totalidad y en su contexto familiar (14). El establecer un diagnóstico de certeza, permite al médico genetista otorgar tanto un seguimiento específico e individualizado, pero lo más importante, le permitirá brindar un asesoramiento genético integral al paciente y al resto de la familia, ya que de este modo se podrá calcular un riesgo de recurrencia para la futura descendencia del paciente y para los progenitores. Para la familia, es también de importancia obtener un diagnóstico, ya que esto disminuye la incertidumbre en cuanto al origen de la condición en estudio y también ofrece un alivio emocional.

En la actualidad, se conoce que existen muchos casos en los cuales no se llega a una conclusión diagnóstica, esto representa una razón de incertidumbre, tanto para la familia como para el médico y en aquellos pacientes con un diagnóstico pueden presentarse factores que modifiquen las circunstancias en que se produce el asesoramiento genético, como la imprevisibilidad. La incertidumbre se puede presentar en la fase de estudio de un paciente debido a las particularidades del proceso y durante la elección de pruebas diagnósticas apropiadas (12). Como se ha mencionado previamente, debido a la falta de información acerca del origen de la neuroregresión en

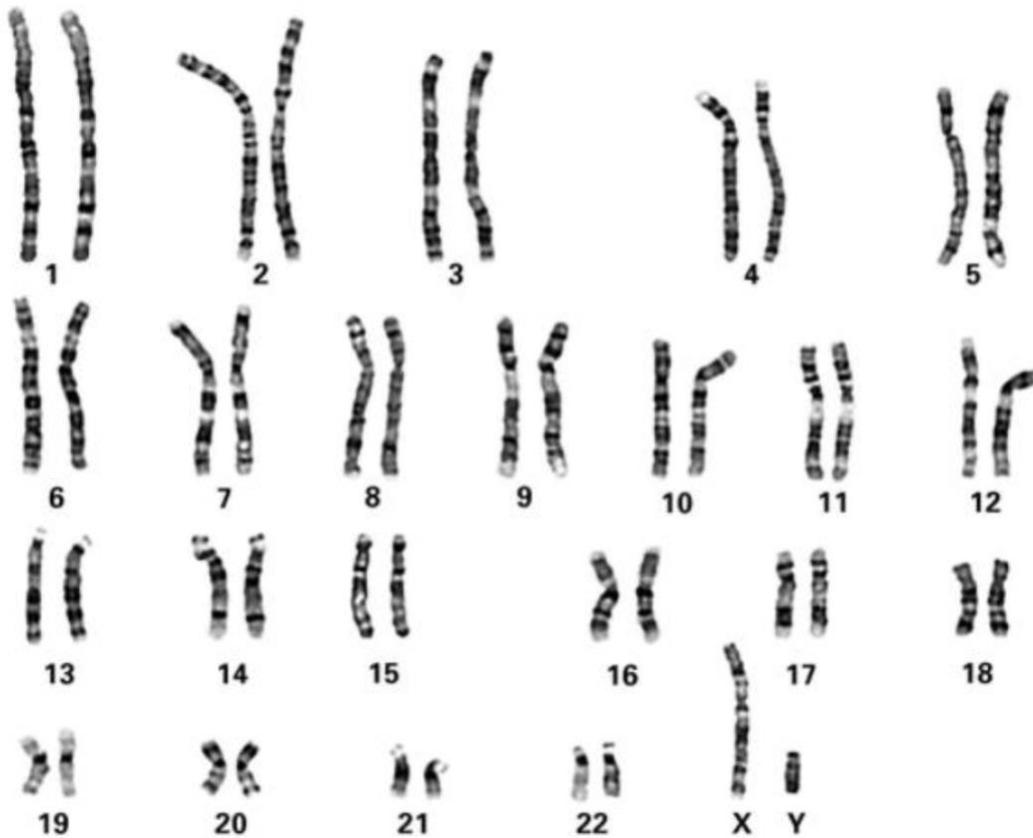
pacientes con presencia de anomalías congénitas, es un tanto complicado brindar un asesoramiento genético que no genere preocupación en la familia, ya que estos pacientes llevan algunos años sin poder establecer un diagnóstico de certeza. Dependiendo de la etiología subyacente de la neuroregresión, el riesgo de recurrencia puede variar desde un 25 hasta un 50%. Para aquellas familias en las que no se ha realizado un diagnóstico definitivo tras una investigación exhaustiva, existe un alto riesgo de recurrencia y el modelo de herencia más probable es autosómico recesivo (6). En el caso que sea secundario a una microdelección o microduplicación *de novo*, el riesgo de recurrencia sería bajo, menor al 1%. Por esto, es de relevancia mencionar la importancia de realizar un estudio citogenético o de biología molecular en los pacientes con neuroregresión y anomalías congénitas, para poder establecer un diagnóstico de certeza y de este modo brindar un asesoramiento informado a la familia.

## **HERRAMIENTAS DIAGNÓSTICAS CITOGENÉTICAS Y MOLECULARES**

### **Cariotipo**

La observación del número exacto de los cromosomas humanos se realizó desde 1956, por Joe-Hin Tjio y Albert Levan, quienes encontraron que el ser humano tenía 46 cromosomas. El bandedo cromosómico en células humanas se desarrolló por Torbjörn Caspersson en 1971, cuando mediante tinción directa de los cromosomas con quinacrina, se reveló en un patrón fluorescente brillante-opaco, la organización fundamental de bandas de los cromosomas humanos, que permitió por primera vez identificarlos de manera individual y por regiones (7).

Siempre que el genetista clínico sospeche que una anomalía citogenómica subyace a la condición de un paciente determinado, debe plantearse la realización de un análisis citogenómico (15). El estudio citogenético utilizado con mayor frecuencia en nuestro medio para la detección de anomalías cromosómicas numéricas o estructurales como causas de trastornos del neurodesarrollo y múltiples anomalías congénitas continua siendo el cariotipo con bandas GTG (Giemsa-Tripsina-Giemsa), alcanza una resolución en el rango de 450 a 550 bandas, que sólo permiten establecer anomalías que implican un segmento de 5Mb o mayor (16).



**Figura 1.** Cariograma con bandas G, figura tomada de ISCN 2020 (17)

En 2019, la Asociación Europea de Citogenetistas proporcionó una actualización de las indicaciones de cariotipo las cuales se observan en el siguiente cuadro 1 (deben considerarse criterios mínimos aceptables para el análisis cromosómico/citogenómico constitucional) (15):

<b>Principales indicaciones clínicas para el diagnóstico prenatal:</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ultrasonido fetal anormal</li> <li>• Resultado de NIPT de alto riesgo que indique un mayor riesgo de un feto cromosómicamente anormal</li> <li>• Rearreglo cromosómico en alguno de los progenitores, mosaicismo o aneuploidía previa</li> <li>• Nacido vivo o muerto con una anomalía cromosómica.</li> <li>• Posible mosaicismo fetal detectado mediante estudio prenatal previo</li> <li>• Alteración monogénica (ej. Fibrosis Quística, Síndrome Noonan, etc.)</li> </ul>
<b>Principales indicaciones clínicas para el diagnóstico postnatal:</b>

- Fenotipo clínico anormal
- Múltiples anomalías congénitas
- Patrón de crecimiento anormal clínicamente significativo: talla baja, sobrecrecimiento, microcefalia, macrocefalia
- Amenorrea primaria o secundaria o insuficiencia ovárica
- Genitales atípicos o diferencias del desarrollo sexual
- Infertilidad de etiología desconocida
- Anomalías espermáticas: azoospermia, oligospermia grave.
- Feto malformado o mortinato de etiología desconocida
- Déficit intelectual o retardo en el desarrollo
- Tercer aborto o aborto(s) espontáneo(s) posterior(es): productos de la concepción
- Historia familiar significativa de reordenamientos cromosómicos
- Antecedentes familiares significativos de discapacidad intelectual de posible origen cromosómico cuando no sea posible estudiar al individuo afectado
- Enfermedad monogénica con modelo de herencia recesiva ligada al cromosoma X en una mujer

**Otras indicaciones postnatales puede incluir:**

- Seguimiento para los padres de un individuo con una anomalía cromosómica detectada en una muestra de manera pre o postnatal
- Delineación de un resultado citogenómico anormal
- Epilepsia refractaria para exclusión de mosaicismo

Esta lista se ofrece como orientación para delinear el tipo de indicaciones de derivación y del alcance esperado de un servicio de citogenómica (15)

Dentro de las limitaciones de este estudio incluyen que este método no puede detectar pequeños reordenamientos por debajo de la resolución, variantes nucleotídicas, mosaicismo < 10% (ya que el número de metafases estudiadas puede ser insuficiente), UPD. Debemos considerar la utilización de citogenética convencional y/o biología molecular de manera individual o en combinación, como herramientas necesarias que nos permitan establecer un diagnóstico de precisión para el mayor beneficio del paciente.

### **Microarreglos cromosómicos**

El análisis genómico basado en microarreglos se utiliza para detectar desequilibrios cromosómicos con una resolución significativamente mayor que el análisis citogenético convencional, debido a su mayor rendimiento diagnóstico, este estudio se recomienda como prueba diagnóstica de primera instancia para pacientes con DI, TEA, trastornos del neurodesarrollo y/o anomalías congénitas (15).

Es una técnica que permite evaluar alteraciones en el número de copias, denominadas variantes en el número de copias (CNVs) (18), las cuales se definen como fragmentos de DNA mayores de 50pb en tamaño y puede incluir una parte del gen, todo el gen o una región extensa del genoma (19). Las CNVs están clasificadas según su significancia clínica siguiendo las recomendaciones del Colegio Americano de Genética y Genómica (ACMG) y la Asociación de Patología Molecular (AMP) en 5 tipos (20):

**Patogénica:** CNVs reportadas en asociación con fenotipos clínicos consistentes en múltiples publicaciones revisadas por pares, con penetrancia y expresividad bien documentadas, incluso si son reducidas y / o variables. CNVs únicas que se superponen completamente con una región sensible a la dosis establecida. CNVs multigénicas en las que se sabe que al menos un gen es sensible a la dosis.

**Probablemente patogénica:** Estas variantes tienen pruebas sólidas que sugieren que, en última instancia, se determinará que causan enfermedades, pero aún no lo suficiente como para afirmar definitivamente su patogenicidad.

**De significado incierto:** Representa una amplia categoría y puede incluir reportes que posteriormente con evidencia adicional, demuestren ser patogénicas o benignas.

**Probablemente benigna:** Estas variantes tienen pruebas sólidas que sugieren que es probable que no estén involucradas con alguna enfermedad Mendeliana, pero aún no tienen pruebas suficientes para afirmar esto definitivamente.

**Benigna:** Estas CNVs se han informado típicamente en múltiples publicaciones revisadas o en bases de datos seleccionadas como variantes benignas, particularmente si la naturaleza de la variación del número de copias ha sido bien caracterizada. La CNV debe documentarse en >1% de la población.

Las metodologías de microarreglos, incluyen la hibridación genómica comparativa por microarreglos (aCGH) y los microarreglos por detección de polimorfismos de nucleótido único (aSNP por sus siglas en inglés) (21). Habitualmente se utiliza el aSNP que, dependiendo de la plataforma, tiene una resolución de 10 a 100 veces mayor que el

cariotipo, lo que permite observar pérdidas o ganancias más pequeñas a lo largo de casi todo el genoma (16). Los beneficios del uso de aSNPs (21):

- a. Capacidad para analizar el DNA de casi cualquier tejido, incluidos los tejidos archivados o los que no pueden cultivarse.
- b. Detección de anomalías citogenéticamente crípticas mediante el análisis cromosómico estándar de banda G.
- c. Capacidad de personalizar la plataforma para concentrar las sondas en áreas de interés.
- d. Mejor definición y caracterización de las anomalías detectadas por un estudio cromosómico standard.
- e. Interpretación de datos objetivos, en lugar de una valoración visual subjetiva de las intensidades de las bandas.
- f. Capacidad para detectar pérdida de heterocigocidad (LOH) de copia neutra con plataformas que incorporan sondas SNP.

Algunas de las limitaciones de este estudio son la falta de detección de reordenamientos cromosómicos balanceados, el mecanismo cromosómico de un desequilibrio genético puede no estar dilucidado, mosaicos bajos, poliploidías y no se detectarán las CNVs de regiones genómicas no representadas en la plataforma. Ninguna plataforma de microarreglos detectará todas las variantes asociadas a un síndrome determinado. Por lo tanto, debe tenerse en cuenta que la no detección de una CNV en cualquier locus no excluye el diagnóstico de una condición asociada a ese locus (21). La resolución y el consiguiente rendimiento diagnóstico de un microarreglos específico están directamente relacionados con el número, el tamaño y los tipos de sondas utilizadas en el estudio, así como con su distribución en todo el genoma (22). El análisis de la información paciente-padre/madre (análisis en trío) puede utilizarse para detectar la presencia de UPD (isodisomía) cromosómica en el paciente y/o para determinar el origen parental de una CNV *de novo* (15).

## **ANTECEDENTES**

Se han realizado múltiples estudios en donde el estudio de microarreglos se recomienda actualmente como prueba de primer instancia para la evaluación en individuos con discapacidad intelectual, trastornos del espectro autista y/o anomalías congénitas múltiples sin un patrón clínico reconocible por el médico especialista en genética y que se hubiere contado con un cariotipo normal (18), proporcionando un diagnóstico etiológico en un 15-20% de los casos mediante la identificación de las CNVs (23), pero hasta el momento no se ha incluido la evaluación de CNVs en individuos con neuroregresión. Aún existen mecanismos moleculares por explorar que permitan esclarecer parte del origen de la neuroregresión y su posible vínculo a una interacción compleja entre factores biológicos y ambientales (4), donde las CNVs podrían ayudar a determinar una posible etiología de la neuroregresión. Actualmente, no logramos identificar en la literatura internacional información bibliográfica acerca del origen de la neuroregresión y anomalías morfológicas y/o funcionales en pacientes con estudio citogenético convencional normal.

## **JUSTIFICACIÓN**

La neuroregresión se define como la ausencia de progresión funcional de habilidades previamente adquiridas posterior a un desarrollo aparentemente normal durante los primeros uno o dos años de vida. Puede estar presente de forma aislada, asociada a un síndrome que se encuentre relacionado a diversas anomalías morfológicas congénitas con un posible origen monogénico, cromosómico o multifactorial o asociada a alteraciones neurológicas como espectro autista y discapacidad intelectual. En un metaanálisis, se estimó que la prevalencia de neuroregresión en niños con trastorno del espectro autista fue del 32.1% (24). Todavía no existe una definición estandarizada publicada para describir específicamente la "regresión". El presente trabajo determinó la frecuencia y la caracterización clínico-molecular de las variantes en el número de copias en una serie de casos de niños con neuroregresión y anomalías morfológicas y/o funcionales congénitas, con el fin de establecer un diagnóstico clínico en particular, el origen primario de la neuroregresión y con base en ello, ofrecer un asesoramiento genético integral.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

En nuestro país, los pocos estudios que informan sobre la frecuencia y tipo de anomalías cromosómicas en pacientes con anomalías morfológicas y/o funcionales congénitas datan de hace ya algunos años, y los más recientes sólo muestran resultados de anomalías cromosómicas comunes visibles por cariotipo a pesar de que actualmente existen técnicas con mucho mejor resolución. En nuestro medio, no existen trabajos de investigación en los cuales se realice una descripción clínico-molecular en variantes en el numero de copias en pacientes con anomalías morfológicas y/o funcionales congénitas en pacientes con neuroregresión, es así como surge la siguiente pregunta de investigación:

### **PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

En una serie de pacientes que cuentan con evaluación dismorfológica, neuroregresión y cariotipo normal atendidos en el departamento clínico de Genética Médica de UMAE Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI

¿Cual es la frecuencia y caracterización clínico-molecular de las variantes en el número de copias descritas en esta serie de casos?

**OBJETIVO GENERAL:** Determinar la frecuencia y caracterización clínico-molecular de las variantes en el número de copias (CNVs) en una serie de pacientes con neuroregresión y anomalías morfológicas y/o funcionales congénitas de la UMAE Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Identificar por medio de estudio de microarreglos (aSNP) las variantes en el número de copias en los pacientes con anomalías morfológicas y neuroregresión con un análisis en trío.

2. Describir y caracterizar las variantes en el número de copias en los pacientes con neuroregresión y anomalías morfológicas y/o funcionales congénitas.
3. Describir las anomalías morfológicas y funcionales presentes en los pacientes con neuroregresión.
4. Establecer un diagnóstico citogenómico definitivo según la presencia de neuroregresión, anomalías morfológicas presentes y las variantes en el número de copias para poder ofrecer un asesoramiento genético integral con base al análisis clínico-molecular.

**HIPÓTESIS:** En una serie de pacientes que cuentan con evaluación dismorfológica, neuroregresión y cariotipo normal atendidos en el departamento clínico de Genética Médica de UMAE Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI la frecuencia de las CNVs probablemente patogénicas o patogénicas será al menos de 10-25% y la más frecuente será por una delección (11,25).

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

El Departamento Clínico de Genética Médica del Hospital de Pediatría del CMN Siglo XXI examinó y clasificó el tipo de anomalía morfológica y/o funcional congénita en los pacientes. Posteriormente, se solicitó el consentimiento debidamente informado a las familias de los niños que cumplieron los criterios de inclusión para la toma de muestra de sangre periférica. Si los padres biológicos accedieron a participar para completar el análisis de tríos (menor afectado y sus padres), se les pidió que firmaran la carta de consentimiento y asentimiento informado según fuese el caso y se tomaron las muestras de sangre periférica por venopunción, la cual se utilizó para las pruebas de citogenética clásica y para la extracción de DNA con el fin de realizar el análisis genómico. Una vez obtenidos los resultados, se citó a los padres de los pacientes para el asesoramiento genético, el cual será efectuado por los médicos adscritos al servicio de Genética Clínica, el Dr. Alan Cárdenas Conejo y el Dr. Juan Carlos Huicochea Montiel. El procesamiento de muestras, técnicas de citogenética molecular, tanto extracción de DNA como microarreglos fueron realizados en la Unidad de Investigación Médica en Genética

Humana. Las CNVs se analizaron y evaluaron en función del fenotipo. Para la interpretación se utilizaron las bases de datos Franklin by Genoox, Varsome, DECIPHER, Database of Genomic Variants, Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM).

## **ANÁLISIS**

- **Métodos de laboratorio**

- Toma de muestra de sangre periférica para extracción de DNA

Para este estudio, donde se realizó la extracción de DNA para los microarreglos, se tomaron las muestras de sangre periférica de la siguiente manera: a cada paciente se le tomó un total de 3 ml (niños) o 5 ml (adultos) de sangre periférica mediante venopunción y se colectó en un tubo con EDTA.

- Para la **extracción de DNA** del total de las 24 muestras se realizó conforme al instructivo de procedimientos de Gentra Puregene 2011 (**ver ANEXO 4**). La concentración y la pureza del DNA se cuantificó con un kit de dispositivo de espectrofotómetro Nano-Drop (Thermo Scientific, EE.UU.) y se almacenaron en alícuotas a - 20 °C.
- Para el **procedimiento de microarreglos** se utilizó el protocolo CytoScan™ 750K Array: CytoScan750K Array\_450 (**ver ANEXO 5**)
- **Análisis de datos de los microarreglos SNPs**
  - Para el análisis e interpretación de datos se utilizó el programa Chromosome Analysis Suite, Affymetrix (ChAS) Versión 4.4.

## **Diseño de estudio**

Serie de Casos

**Población o universo de estudio:** Estuvo constituida por una serie de ocho pacientes con neuroregresión y anomalías morfológicas y/o funcionales congénitas y también se incluyeron a los padres biológicos con la finalidad de realizar análisis de tríos para así determinar el origen de la variante y tener un indicio de su relevancia clínica.

**Lugar donde se desarrolló el estudio:** Departamento de Genética Médica de UMAE Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI

## **CRITERIOS DE SELECCIÓN**

### **Criterios de inclusión:**

1. Pacientes que contaran con evaluación dismorfológica por el departamento clínico de Genética Médica de UMAE Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI.
2. Pacientes con neuroregresión, con una o más anomalías morfológicas y/o funcionales, cariotipo normal y en quien se haya descartado una sospecha de condición sindrómica monogénica en específico (Síndrome Rett, Síndrome Dravet, errores innatos del metabolismo).
3. Que hubieren firmado carta de consentimiento y asentimiento informado según fuere el caso.

### **Criterios de no inclusión:**

1. Pacientes con neuroregresión y anomalías morfológicas congénitas que presentaran antecedentes o datos clínicos sugestivos de neuroinfección o traumatismo craneoencefálico establecidos por departamentos médicos correspondientes.

### **Criterios de Eliminación**

1. Pacientes y sus padres que posterior a la firma de la carta de consentimiento y asentimiento informado decidieran retirar su participación.
2. Muestra de DNA que no permitiera su procesamiento debido a degradación u otro factor técnico que impida su análisis y que no haya sido posible contactar nuevamente al participante.

**TIPO DE MUESTREO:** no probabilístico de casos consecutivos que cumplieran con los criterios de inclusión.

**TAMAÑO DE LA MUESTRA:** ocho pacientes con sus padres biológicos (total 24 muestras sanguíneas)

**ANÁLISIS ESTADÍSTICO:** las variables cuantitativas se expresaron con frecuencias y porcentajes y las cualitativas en medidas de tendencia central.

## DEFINICIÓN OPERATIVA DE VARIABLES

### Variables Demográficas

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Clasificación	Escala de medición
<b>Edad</b>	Tiempo que ha vivido una persona	Se registró la edad expresada en años al momento de la firma del consentimiento informado.	Cuantitativa continua	Años Meses
<b>Sexo</b>	Conjunto de características biológicas que caracterizan a la especie humana	Distinción de un individuo como hombre o mujer con cariotipo	Cualitativa Nominal Dicotómica	Femenina Masculino
<b>Peso</b>	La fuerza con que la tierra atrae un cuerpo y la magnitud de dicha fuerza	Valor obtenido en báscula previamente calibrada	Cuantitativa Continua	Kilogramos
<b>Talla</b>	Distancia desde el punto más alto de la cabeza hasta la planta del pie en el plano sagital medio con el individuo de pie en una posición vertical	La longitud corporal debe medirse hasta los 2 años acostado. Desde esta edad en adelante se midió en posición de pie con un estadímetro.	Cuantitativa Continua	Centímetros

### Variable independiente:

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Clasificación	Escala de medición
<b>Variantes en el número de copias (CNVs)</b>	Se define como una variante en el número de copia (CNV) a un fragmentos de DNA mayores de 50pb en tamaño y puede incluir una parte del gen, todo	Las CNVs están clasificadas según su significancia clínica siguiendo las recomendaciones del Colegio Americano de Genética y Genómica	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presente Ausente

	el gen o una región extensa del genoma.	(ACMG) y la Asociación de Patología Molecular (AMP) en 5 tipos (20) para la interpretación se utilizarán las bases de datos Franklin by Genoox, Varsome DECIPHER, Database of Genomic Variants y Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM).		
--	---	--	--	--

### Variables Dependientes

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Clasificación	Escala de medición
<b>Neuroregresión</b>	Se define como la ausencia de progresión funcional de habilidades previamente adquiridas posterior a un desarrollo aparentemente normal durante los primeros uno o dos años de vida.	Que se cumpla la Definición conceptual incluyendo alteraciones o no del lenguaje con o sin previa evaluación por departamento de neurología y/o paidopsiquiatría como parte del proceso de atención medica habitual del paciente.	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presente Ausente
<b>Anomalías morfológicas<sup>a</sup></b>	Se define como el fenotipo anatómico microscópico y macroscópico que representa una desviación de la población de referencia. Pueden ser mayores o menores	Se determinó la presencia y tipo de acuerdo a la evaluación por el departamento de Genética Médica	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presente Ausente
<b>Anomalías funcionales</b>	Son aquellas que interrumpen procesos biológicos del desarrollo, es decir, las funciones fisiológicas, que no implican algún cambio macroscópico de la anatomía normal.	Se determinó la presencia y tipo de acuerdo a evaluación por el departamento de Genética Médica	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presente Ausente

<b>Variable</b>	<b>Definición conceptual</b>	<b>Definición operacional</b>	<b>Clasificación</b>	<b>Escala de medición</b>
<b>Microcefalia<sup>a</sup></b>	Circunferencia occipito-frontal (cabeza) menor al percentil 3 en comparación con estándares normales según edad y sexo	Se realizó medición del perímetro cefálico con una cinta métrica tomando como puntos de referencia anatómicos el opistocráneo y la glabella, posteriormente se percentiló el resultado obtenido en las tablas para perímetro cefálico de la OMS según edad y sexo.	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presente Ausente
<b>Macrocefalia<sup>a</sup></b>	Circunferencia occipito-frontal (cabeza) mayor al percentil 97 comparado con estándares normales según edad y sexo.	Se realizó medición del perímetro cefálico con una cinta métrica, tomando como puntos de referencia el opistocráneo y glabella y se percentiló el resultado obtenido en las tablas para perímetro cefálico de la OMS según edad y sexo	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presente Ausente
<b>Braquicefalia<sup>a</sup></b>	Índice cefálico mayor a 81 %.	Con un calibrador antropométrico se tomó la dimensión máxima del eje sagital tomando como puntos de referencia la glabella y el opistocráneo y luego se tomará el diámetro máximo biparietal, teniendo como punto de referencia el eurion, de esta forma obtendremos los valores numéricos para calcular el índice cefálico, posteriormente, se realizó una división del resultado del ancho sobre la longitud y se multiplicará por 100, si el valor está	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presente Ausente

		entre 76-80.9% se considerará normal, si se encuentra mayor al 80.9 % se definirá braquicefalia.		
<b>Dolicocefalia<sup>a</sup></b>	Índice cefálico menor al 76 %.	Con un calibrador antropométrico se tomó la dimensión máxima del eje sagital tomando como puntos de referencia la glabella y el opistocráneo y luego se tomó el diámetro máximo biparietal, teniendo como punto de referencia el eurion, de esta forma obtendremos los valores numéricos para calcular el índice cefálico, posteriormente, se realizó una división del resultado del ancho sobre la longitud y se multiplicó por 100, si el valor está entre 76-80.9% se consideró normal, si se encuentra menor al 76% se definirá dolicocefalia	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presente Ausente
<b>Frente amplia<sup>a</sup></b>	Distancia entre los fronto-temporales es superior a 2DE por encima de la media.  Distancia aparentemente aumentada entre ambos lados de la frente (subjetiva)	Con un calibrador antropométrico se tomó una medida entre fronto-temporales si encuentra mayor a 2DE se definió frente amplia, o se apreciará de manera subjetiva	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presente Ausente
<b>Frente estrecha<sup>a</sup></b>	Distancia entre fronto-temporales es inferior en más de 2DE a la media.  Región intertemporal aparentemente estrecha (subjetiva)	Con un calibrador antropométrico se tomó la distancia entre fronto-temporales, si es inferior a más de 2DE se definió frente estrecha, o se apreciará de manera subjetiva	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presente Ausente

<b>Fisuras palpebrales largas<sup>a</sup></b>	La distancia entre el canto medial y lateral es más de 2 SD por encima del promedio para la edad.	Para realizar la medición se toma un calibrador de Vernier y se midió la distancia entre el canto interno con el canto externo del ojo. El resultado se percentiló en tablas según edad y sexo, o se apreciará de manera subjetiva	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presente Ausente
<b>Hipertelorismo<sup>a</sup></b>	Distancia interpupilar por encima de 2 SD de la media (recién nacidos 27-41 semanas de edad gestacional) o distancia interpupilar por encima del percentil 97 (0-15 años de edad).	Se realizó medición de la distancia interpupilar con calibrador de Vernier y se percentiló resultado en las tablas para distancia interpupilar.	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presente Ausente
<b>Telecanto<sup>a</sup></b>	Distancia entre los cantos internos más de 2 DE por encima de la media  Distancia aparentemente mayor entre los cantos internos (subjetivo)	Se realizó medición de la distancia interpupilar con calibrador de Vernier y se percentiló resultado en las tablas para distancia intercantal.	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presente Ausente
<b>Epicanto<sup>a</sup></b>	Un pliegue de la piel comenzando por encima del aspecto medial del párpado superior y arqueándose hacia abajo para cubrir y pasar por delante y lateral al canto interno.	Se apreció de forma subjetiva la presencia de un pliegue que cubra en el canto interno.	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presente Ausente
<b>Pestañas largas<sup>a</sup></b>	Longitud media de la pestaña superior > 10 mm  Aumento de la longitud de las pestañas (subjetivo)	Se tomó un calibrador y se tomará la longitud de las pestañas, tomando como base el punto de inserción, o se apreció de manera subjetiva	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presente Ausente

<b>Nariz corta<sup>a</sup></b>	Distancia entre nasión y subnasion por debajo de 2 SD de la media.  Longitud aparentemente disminuida desde la raíz nasal hasta la punta nasal (subjetivo)	Se midió la distancia entre el nasion y subnasion con el calibrador Vernier y se percentiló resultado en las tablas para longitud de la nariz, o se apreció de manera subjetiva	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presente Ausente
<b>Puente nasal prominente<sup>a</sup></b>	Posición anterior de la raíz de la nariz en comparación con el posicionamiento habitual por edad (subjetivo)	Se evaluó de perfil al paciente y se determinó posición del puente nasal	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presente Ausente
<b>Base de la nariz ancha<sup>a</sup></b>	Aumento de la distancia interalar (subjetivo)	Se evaluó de manera subjetiva al paciente de frente.	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presente Ausente
<b>Narinas antevertidas<sup>a</sup></b>	Fosas nasales orientadas hacia delante vistas con la cabeza en plano horizontal de Frankfurt y los ojos del observador a la altura de los ojos del sujeto (subjetivo)	Se evaluó de forma subjetiva si las fosas nasales se visualizan fácilmente desde el frente y se registró si estuvo presente.	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presente Ausente
<b>Punta de la nariz ancha<sup>a</sup></b>	Incremento en el ancho de la nariz (subjetivo)	Se evaluó de manera subjetiva el ancho de la punta de la nariz.	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presente Ausente
<b>Punta de la nariz deprimida<sup>a</sup></b>	Disminución de la distancia desde la punta de la nariz a la base de la nariz (subjetivo)	Se evaluó de manera subjetiva la depresión de la punta de la nariz.	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presente Ausente
<b>Punta de la nariz estrecha<sup>a</sup></b>	Disminución en el ancho de la punta de nariz (subjetivo)	Se evaluó de manera subjetiva la punta de la nariz.	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presente Ausente

<b>Paladar alto<sup>a</sup></b>	<p>Altura del paladar más de 2DE por encima de la media.</p> <p>Altura del paladar a nivel del primer molar permanente superior al doble de la altura de los dientes (subjetivo)</p>	Se evaluó de forma subjetiva la altura del paladar.	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presente Ausente
<b>Paladar ojival<sup>a</sup></b>	<p>Anchura del paladar más de 2DE por debajo de la media.</p> <p>Anchura palatina aparentemente disminuida (subjetivo)</p>	Se evaluó de forma subjetiva la forma del paladar.	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presente Ausente
<b>Microdoncia<sup>a</sup></b>	Disminución de la anchura máxima de los dientes (subjetiva)	Se evaluó de forma subjetiva el tamaño de los dientes.	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presente Ausente
<b>Macrodoncia<sup>a</sup></b>	Aumento aparente de la anchura máxima de los dientes	Se evaluó de forma subjetiva el tamaño de los dientes.	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presente Ausente
<b>Micrognatia<sup>a</sup></b>	Longitud y anchura aparentemente reducidas de la mandíbula vista de frente pero no de perfil (subjetivo)	Se evaluó de frente de manera subjetiva	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presente Ausente
<b>Retrognatia<sup>a</sup></b>	Mandíbula inferior en posición posterior, que se aleja del plano de la cara vista de perfil, pero no de frente (subjetiva)	Se evaluó al paciente en perfil lateral y si el desplazamiento de la mandíbula es posterior se definió retrognatia.	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presente Ausente
<b>Prognatismo<sup>a</sup></b>	Protrusión anterior de la cresta alveolar mandibular más allá del plano vertical de la cresta alveolar maxilar, evaluando de perfil (subjetivo)	Se evaluó al paciente de perfil y si el desplazamiento de la mandíbula fue anterior se definió prognatismo.	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presente Ausente

<b>Pabellones auriculares de implantación baja<sup>a</sup></b>	Inserción de la raíz del hélix en el cuero cabelludo por debajo de un plano imaginario horizontal que pasa por el canto interno y se extiende esa línea posteriormente hasta la oreja	Se evaluó al paciente de perfil y se trazó plano de Frankfurt, una inserción de la raíz del hélix por debajo de él se consideró implantación baja	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presente Ausente
<b>Microtia</b>	Longitud del pabellón auricular por debajo de 2 DE de la media para la edad.	Se midió longitud del pabellón auricular, tomando como puntos de referencia anatómicos el borde del hélix más prominente y el lóbulo, el resultado se percentiló.	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presente Ausente
<b>Macrotia</b>	Longitud media del pabellón superior a 2 DE por arriba de la media y anchura media superior a 2 DE por arriba de la media	Se midió longitud del pabellón auricular, tomando como puntos de referencia anatómicos el borde del hélix más prominente y el lóbulo, el resultado se percentiló.	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presente Ausente
Anomalías en pabellones auriculares	Presencia de fosetas, hendiduras, apéndices u otras alteraciones en componentes cartilaginosos	Se evaluó de manera subjetiva.	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presente Ausente
Anomalías en extremidades	Tanto en superiores como inferiores, incluye asimetría, longitud, braquidactilia, sindactilia, polidactilia, clinodactilia, dedos ahusados	Se evaluó de manera subjetiva y objetiva, en su caso se percentiló	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presente Ausente

a: Definiciones establecidas por la Revista Americana de Genética Médica (AJMG por sus siglas en inglés)

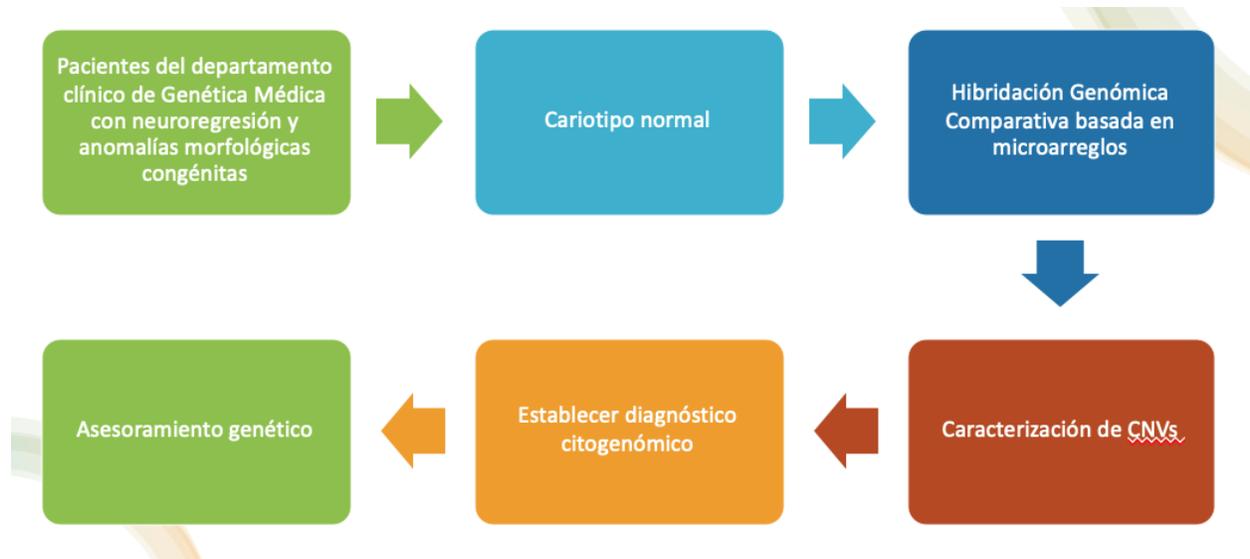
## DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO

- Los pacientes seleccionados para este estudio procedieron de la UMAE Hospital de Pediatría C.M.N. Siglo XXI, los cuales presentan neuroregresión y anomalías morfológicas y/o funcionales congénitas.
- Este grupo de pacientes formaron parte del protocolo “Estudio genómico en niños mexicanos con malformaciones congénitas múltiples” con número de registro: **R-2016-785-044**, en el cual con previo consentimiento informado y/o asentimiento

informado, se aceptó participar y ello consistió en la toma de muestra de sangre para el trío (mamá, papá, paciente).

- Se realizó una descripción clínica de las anomalías morfológicas congénitas de los pacientes.

### DIAGRAMA DE FLUJO DE ESTRATEGIA DE TRABAJO



### ACTIVIDADES ESPECÍFICAS DEL ALUMNO

- Recabar datos personales como nombre, afiliación, edad, fecha y lugar de nacimiento, dirección y teléfono actuales, solo para base de datos de este estudio. La identidad de los pacientes fue respetada según lo establecido en carta de consentimiento informado.
- Llenar la hoja de recolección de datos que incluyó información y descripción de características encontradas en la exploración física dismorfológica, de acuerdo a hoja de recolección de datos.
- Realizar la toma de muestra de sangre periférica al paciente y a los padres biológicos.
- Realizar el procesamiento de muestras de los pacientes, extracción de DNA como microarreglos de DNA. Estas fueron realizados en la Unidad de Investigación Médica en Genética Humana en UMAE Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI.

- Analizar las CNVs y su evaluación en función del fenotipo utilizando las bases de datos Franklin by Genoox, Varsome, DECIPHER, Database of Genomic Variants y Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM).
- Realizar una descripción de las anomalías morfológicas y/o funcionales congénitas de los pacientes con neuroregresión y CNVs, para intentar determinar un diagnóstico definitivo, y de acuerdo al resultado, brindar un asesoramiento genético a la familia.

### **ASPECTOS ÉTICOS-LEGALES**

- El presente protocolo se apega a los lineamientos establecidos en la Declaración mundial de Helsinki y en la Ley General de Salud en materia de investigación en seres humanos

### **Riesgo de la investigación**

- De acuerdo con lo establecido en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación, la presente investigación fue de riesgo mínimo. La población de estudio incluyó a menores de edad, considerados como una población vulnerable, así como a los padres de éstos. El único procedimiento que implica un contacto físico es la toma de muestra sanguínea durante la cual se puede llegar a experimentar un poco de dolor y en algunas ocasiones deja un hematoma en el área de venopunción. El procedimiento se llevó a cabo por personal debidamente capacitado, y si por alguna causa imprevista se hubiere dificultado el proceso o bien si los padres del menor no hubieren deseado que se continuara, la toma se habría suspendido inmediatamente.

### **Beneficios posibles para participantes y sociedad**

- Los resultados se interpretaron de manera conjunta por todo el equipo de trabajo y los especialistas Médicos Genetistas tradujeron dicha interpretación en los términos adecuados para transmitir la información clínicamente relevante a las familias participantes como parte del asesoramiento genético. Esto representa para las familias la oportunidad de planear de manera informada su futuro reproductivo, lo cual es potencialmente significativo en cuanto a la reducción de

muerte y enfermedad del recién nacido. Cabe mencionar que se tomó en cuenta en todo caso, la posibilidad de que aunque las familias aceptaran su inclusión en el estudio, era su derecho negarse a conocer los resultados y/o recibir asesoramiento genético.

- Se espera que los resultados obtenidos tengan un beneficio global para la sociedad, principalmente la comunidad científica, dado que se conoció información científica acerca del origen de la neuroregresión y anomalías morfológicas congénitas mediante una descripción clínico molecular de las variantes en el número de copias en pacientes con estudio citogenético convencional normal.

#### **Balance riesgo/beneficio**

- El riesgo para los participantes, considerando tanto a los menores como a los adultos, fue mínimo, mientras que el beneficio potencial abarcó desde una vigilancia y seguimiento individualizado, la prevención mediante el asesoramiento genético, hasta la posibilidad de una terapia mejor dirigida para los menores con anomalías congénitas múltiples que les representara una mejor calidad de vida.

#### **Confidencialidad y privacidad de la información de los participantes**

- Todos los datos de los participantes han sido manejados de manera confidencial y anónimas. Las muestras se identificaron con una clave constituida por un número serial y la fecha de toma. Con esta misma clave se llevó a cabo el análisis de resultados. Las muestras de DNA se resguardaron en la UIM en Genética Humana.

#### **Cartas de consentimiento**

- Previo a cualquier procedimiento fue requisito indispensable para incluir a los pacientes (menores de edad) dentro del estudio el contar con el consentimiento escrito de los padres o tutores. Dicho consentimiento se solicitó a través de una carta de consentimiento en la que se explican con lenguaje coloquial los procedimientos, posibles beneficios y riesgos de la investigación, al padre/madre o tutor, quien en caso de aceptar la inclusión del menor en el estudio dará

constancia asentando su firma y datos en el documento. En todos los casos posibles se buscó la participación del padre y la madre biológicos del menor para realizar el análisis genético del trío y poder rastrear el origen de las variantes y proporcionar un asesoramiento genético mejor fundamentado, si es que la familia así lo desea. Para dicho fin, también se redactó una carta de consentimiento para adultos con el formato apegado a las disposiciones institucionales.

- El proceso de obtención del consentimiento informado se realizó por los integrantes del grupo de investigación registrados en el proyecto una vez que este fuera aprobado.

### **Selección de participantes**

- El universo de trabajo fueron los pacientes que acudieron a consulta al Departamento de Genética Clínica del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS. Dado que el proyecto se enfoca en el análisis clínico molecular de pacientes con anomalías congénitas múltiples y neuroregresión, este fue el principal criterio de inclusión. Todos los criterios de selección se describen en el apartado correspondiente. Se incluyeron como parte del estudio aquellos casos en los que habiendo cubierto los criterios de selección, los padres otorgaron el consentimiento informado mediante la firma del documento correspondiente una vez que se les explicó de manera clara en qué consiste el estudio, los procedimientos, y los riesgos y beneficios del mismo.

### **Conflicto de intereses**

- No existió ningún conflicto de interés económico o personal dentro del equipo de colaboradores.

### **RECURSOS, FINANCIAMIENTO, FACTIBILIDAD**

- **Recursos:** La fase clínica del proyecto tuvo lugar en la Consulta externa del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI, mientras que el resto de los procedimientos se llevó a cabo en la Unidad de Investigación Médica en

Genética Humana. La Unidad cuenta con el equipo y material de laboratorio necesario para la realización de este proyecto de investigación.

- **Financiamiento:** se utilizó el recurso del proyecto de investigación” Estudio genómico en niños mexicanos con malformaciones congénitas múltiples” con número de registro: **R-2016-785-044**.
- **Factibilidad:** Considerando la experiencia del equipo de trabajo, la infraestructura existente y la población de estudio, así como también se cuenta con los recursos humanos y los expedientes clínicos, el estudio fue factible.

## CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

	2021												2022												2023										
	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT			
Elección de tema	X	X																																	
Revisión bibliográfica		X	X																																
Elaboración de protocolo			X	X	X	X	X	X																											
Enmienda enviada									X	X	X	X	X	X																					
Solicitud de autorización														X	X	X																			
Recopilación de datos																	X	X	X																
Reclutamiento de pacientes																	X	X	X																
Toma de muestras																	X	X	X																
Análisis de Resultados																				X	X	X													
Elaboración de tesis																						X	X												
Presentación de examen																																			
Aprobación examen																																			

## **RESULTADOS**

En el presente estudio se incluyeron a ocho pacientes y ambos padres, con un total de 24 muestras de sangre periférica. Fueron seleccionados conforme acudían a la consulta externa de Genética Médica de la UMAE Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI, que cumplían los criterios de inclusión. Se les realizó una historia clínica detallada, exploración física dismorfológica completa, y se realizó revisión de expedientes para incluir estudios y evaluaciones realizadas. A continuación se realiza la descripción de los casos y posteriormente se muestran tablas con los resultados de aSNP.

### **Descripción del paciente y resultados de microarreglos SNP caso MCM.001.21**

Femenino de 9 años de edad, producto de la tercera gesta, de padres no consanguíneos, ambos padres con edad parental avanzada (al nacimiento de la paciente, ambos de 41 años. Madre sin antecedentes de importancia, aparentemente sana. Padre con discreta ptosis palpebral izquierda. Cuenta con dos hermanos aparentemente sanos, uno de ellos presenta discreta ptosis palpebral izquierda y antecedente de hipotonía en los meses iniciales de la vida, actualmente sin limitación de la funcionalidad intelectual. No cuenta con antecedentes perinatales de riesgo. Nace de término por vía abdominal secundario a cesárea iterativa, llora y respira al nacer, peso fue de 2,750g (p13), talla 48cm (p27), Apgar 8/9, PC 33cm (p23) y fue dada de alta en binomio sin complicaciones. Es enviada a nuestro departamento a los 9 meses de edad ya que desde el nacimiento se observó la presencia de ptosis palpebral derecha, hipotonía, movimientos continuos de la lengua, peso y talla dentro de percentiles esperados para la edad, fue evaluada por departamento de oftalmología pediátrica quien sugiere intervención quirúrgica para corrección de la ptosis. A los 2 años de edad acude a revaloración con antecedente de PO corrección de ptosis palpebral derecha, presenta microcefalia, maloclusión dental, base de sustentación amplia, marcha atáxica, caídas frecuentes, con movimientos repetitivos dirigiendo las manos hacia la boca, habla bisílabos (mamá, papá, sopa, agua), además refieren que la paciente presenta bruxismo,

dificultad para dormir así como despertares frecuentes, estreñimiento, movimientos poco coordinados.

Cuenta con resonancia de encéfalo y tomografía de cráneo sin alteraciones estructurales, potenciales provocados auditivos de tallo cerebral con audición y conducción normal bilateral. EEG normal. USG renal sin alteraciones. Perfil radiográfico sin alteraciones en cuerpos vertebrales. Últimos laboratorios biometría hemática, pruebas de función tiroidea, química sanguínea dentro de parámetros normales para la edad. Cuenta con evaluación por parte de oftalmología donde reportan fondo de ojo normal, exotropia variable segmento anterior. Evaluada por neurología concluyendo trastorno del espectro autista, con alteraciones de lenguaje, conducta y alteraciones cognitivas.

En cuanto al desarrollo psicomotor, sonrisa social desde los 2 meses, inicia con sostén cefálico a los 5 meses de edad, con seguimiento auditivo y visual aparentemente normal para la edad, toma objetos con ambas manos. A los 18 meses inicia con bisílabos, con regresión de lenguaje a los 2 años y medio. Inicia deambulacion con apoyo/asistida a los 2 años con base de sustentación amplia, marcha atáxica, caídas frecuentes. A los 4 años deambulacion independiente solo por 2-3 meses, posterior regresión con deambulacion con apoyo que aún persiste. Actualmente con control de esfínteres. Movimientos de aleteo de manos aunque son menos frecuentes que reportados previamente, autoagresión e irritabilidad, se ha acentuado la desorganización. Actualmente en manejo con risperidona por parte de psiquiatría. .

**Exploración física:** paciente se encuentra inquieta, irritable y poco cooperadora. Cráneo con microcefalia, línea de implantación capilar anterior alta, cabello rizado, frontal amplio, se observa asimetría facial, arcos supraciliares prominentes, cejas arqueadas, densidad capilar disminuida en tercio externo de las cejas, ptosis palpebral derecha, fisuras palpebrales oblicuas inclinadas en sentido superior, longitud de fisura palpebral derecha e izquierda de 3.5cm a +2DE, aparente hipertelorismo, pestañas rizadas en una sola línea de implantación, puente nasal prominente, pirámide nasal larga, punta de la nariz bulbosa, alas nasales hipoplásicas, narinas discretamente antevertidas, columnela prominente, hipoplasia malar, filtrum grado III, comisuras labiales horizontales, cavidad

oral con tendencia a la apertura bucal, paladar alto y estrecho, maloclusión dental, macrodoncia, presencia de diastema, bermellón superior en forma de arco de cupido, delgado, bermellón inferior normal, sin presencia de micrognatia ni retrognatia, mentón de aspecto triangular, pabellones auriculares de implantación baja, pabellones auriculares derecho e izquierdo de 6.5cm a +2DE, con discreta rotación posterior, acopados, tercio inferior de hélix hipoplásico, antihélix prominente, trago prominente, antitrigo hipoplásico, concha profunda, de manera bilateral, sin otras alteraciones en sus componentes cartilaginosos, cuello cilíndrico, simétrico, tórax simétrico, abdomen blando, depresible, no se palpan visceromegalias ni defectos de pared, genitales no valorados. Extremidades superiores integra y simétricas con tendencia a mantener los brazos elevados, palma de mano derecha 8cm en percentil 50, tercer dedo 6.5cm, entre percentil 50 y 75, relación 3er dedo/palma entre percentil 75 y 97. Palma de mano izquierda 8cm en percentil 50, tercer dedo 6.5cm entre percentil 50 y 75, relación 3er dedo/palma entre percentil 75 y 97, uñas sin alteraciones. Extremidades inferiores con presencia de genu recurvatum, Pie izquierdo 15.8cm por debajo de percentil 3, pie derecho 15.5cm por debajo de percentil 3. Columna dorsal sin alteraciones aparentes. Se solicita que la paciente deambule y se encuentra base de sustentación amplia, marcha atáxica. Cumple con 8 criterios en Score de Beighton.

**Tabla 1. Resultados de microarreglos SNP del caso 001.**

Caso 001	
ISCN 2020	arr[GRCh37] 10q11.21(45215162_45345490)x3
Tamaño (Kbp)	130
Tipo	Duplicación
Número de genes OMIM	1
Genes de interés	<i>TMEM72-A S1</i>
Origen parental	Materno: arr[GRCh37] 10q11.21(45215162_45345490)x3
Cigosidad	Heterocigoto
Clasificación	Benigna
ISCN 2020	arr[GRCh37] 6p25.3(259520_302261)x1
Tamaño (Kbp)	43
Tipo	Delección
Número de genes OMIM	1
Genes de interés	<i>DUSP22</i>

Origen parental	Paterno: arr[GRCh37] 6p25.3(254254_384742)x1
Cigosidad	Heterocigoto
Clasificación	Benigna
ISCN 2020	arr[GRCh37] 11q11(55373995_55452964)x1
Tamaño (Kbp)	79
Tipo	Delección
Número de genes OMIM	4
Genes de interés	OR4C11, OR4P4, OR4S2, OR4C6
Origen parental	Materno: arr[GRCh37] 11q11(55386217_55452964)x1
Cigosidad	Heterocigoto
Clasificación	Benigna



**Figura 1.** Imagen del análisis global del genoma (*WGV por sus siglas en inglés*) de la paciente MCM.001.22. En el eje-X se observa el cromosoma y en el eje-Y se observa el cociente Log2 de la CNV (línea azul).

### Descripción del paciente y resultados de microarreglos SNP caso MCM.002.22

Paciente femenino de 10 meses de edad, producto de la primera gesta, de padres no consanguíneos, aparentemente sanos. Sin antecedentes perinatales o heredofamiliares de riesgo. Nace a las 39 SDG por vía vaginal, lloró y respiró al nacer, peso al nacimiento 2,900g (p23), talla 49cm (p47), PC desconoce, Apgar 9/9 y fue dada de alta en binomio sin complicaciones. Se solicita interconsulta por nuestro departamento a los 10 meses de edad, inició al mes y medio de vida con espasmo del sollozo, posteriormente a los 4 meses inicia con crisis epilépticas. A los 6 meses con aparente evento de broncoaspiración (apnea posterior a la alimentación), con probable paro

cardiorrespiratorio, refiere el familiar aparente mioclonías generalizadas 10 minutos después, con requerimiento de intubación endotraqueal y ventilación mecánica asistida durante 6 días manejo en terapia intensiva por estado epiléptico. Evento potencialmente letal a los 6 meses secundario evento de paro cardiorrespiratorio asociado a reflujo gastrointestinal de tiempo no determinado. Antecedentes quirúrgicos de funduplicatura, gastrostomía y traqueostomía a los 7 meses. Fue egresada a los 8 meses con oxígeno por puntas nasales, refiere posterior mejoría con oximetrías de 95% al estar despierta y durante el sueño. Refiere de uso de oxígeno de forma intermitente. A los 9 meses presentó evento tónico generalizado, supravversión de la mirada, así como mioclónicas de hemicara derecha, autolimitado, 4 eventos al día. Datos de crisis epilépticas de aparente inicio focal con generalización. A los 10 meses ingresa a Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI por descontrol de crisis epilépticas (corroboradas como: crisis focal motor mioclónico hemicara derecha con generalización, así como crisis focales motoras tónicas), realizándose modificaciones al tratamiento antiepiléptico. Reingresó un mes después por datos de respuesta inflamatoria sistémica asociados a traqueítis por *P. aeruginosa* tratada por 7 días. Posterior, integrando datos clínicos de estado epiléptico focal motor a los 11 meses, con cambio en el patrón de crisis (motoras clónicas generalizadas, así como clónicas focales en ambas extremidades superiores). Inició de descontrol de crisis epilépticas hasta estado epiléptico suprarefractario integrándose por cambio en patrón de crisis, así como EEG con epilepsia de crisis focales migratorias de la infancia, síndrome epiléptico catastrófico sin respuesta a manejo farmacológico. Cuenta con tomografía de cráneo en donde se reporta datos de atrofia cortico-subcortical de predominio bifrontal, sin lesiones supra o infratentoriales. Fue evaluada por diferentes especialidades por enfermedad por reflujo gastroesofágico grado III, Alteración de la mecánica de la deglución fase 1 y 2, Laringomalacia. Se le realizó funduplicatura tipo Nissen y gastrostomía tipo Stamm y traqueostomía. EEG portátil ritmo de fondo delta generalizado, con ritmos rápidos superpuestos de predominio bifrontal, persistencia de paroxismos punta onda lenta frontal bilateral, puntas en inversión de fase temporal bilateral, así como puntas en inversión de fase central derecha, como actividad paroxística multifocal; sin observarse patrón brote atenuación asociado a uso de tiopental. En cuanto al desarrollo psicomotor inició con sostén cefálico al mes,

seguimiento visual y sonrisa social 2 meses, iniciaba sedestación a los 5 meses. Desarrollo psicomotor normal antes del inicio y descontrol de las crisis. Se ingresó a clínica de cuidados paliativos y posteriormente falleció a los 12 meses de edad.

**Exploración física:** En posición decúbito lateral, en hiperextensión. Cráneo dolicocefalo, fontanela anterior de 2x2 cm, línea capilar anterior irregular, frente estrecha con hipertriosis, cejas pobladas gruesas arqueadas, fisuras palpebrales horizontales y aparentemente largas, pestañas largas y rizadas, aparente hipertelorismo. Puente nasal ancho y deprimido, pirámide nasal corta, base nasal ancha con narinas antevertidas, punta de la nariz bulbosa, Filtrum grado III largo, premaxila prominente, comisuras labiales dirigidas en sentido inferior, cavidad oral normal, bermellón superior e inferior delgados, micrognatia, mejillas prominentes, cara de aspecto redondo. Pabellones auriculares de implantación baja, con aparente con plegamiento de hélix en su tercio medio del lado derecho, fosa triangularis hipoplásica, crus de hélix hipoplásica. Cuello cilíndrico corto, con presencia de traqueostomía permeable, tórax simétrico con teletelia, abdomen blando, depresible, no se palpan visceromegalias ni defectos de pared, con presencia de sonda de gastrostomía permeable. Genitales externos fenotípicamente femeninos, de acorde a edad y sexo. Extremidades superiores e inferiores íntegras y simétricas, dedos de manos y pies discretamente alargados, uñas de los primeros dedos de los pies hiperconvexas y pliegues plantares anormales, presencia de almohadillas fetales en todos los dedos de los pies. Melanocitosis dérmica congénita en región de glúteo derecho. Dorso sin alteraciones aparentes.

**Tabla 2. Resultados de microarreglos SNP del caso 002**

	<b>Caso 002</b>
ISCN 2020	arr[GRCh37] 1q21.1(145033176_145074541)x1
Tamaño (Kbp)	41
Tipo	Delección
Número de genes OMIM	1
Genes de interés	<i>PDE4DIP</i>
Origen parental	Materno: arr[GRCh37] 1q21.1(145023796_145074541)x1 arr[GRCh37] 1q21.1(145191599_145377277)x1
Cigosidad	Heterocigoto
Clasificación	Variante de significado incierto

ISCN 2020	arr[GRCh37] 6p24.3(8794900_9965586)x3
Tamaño (Kbp)	1171
Tipo	Duplicación
Número de genes OMIM	1
Genes de interés	<i>OFCC1</i>
Origen parental	Materno: arr[GRCh37] 6p24.3(8794900_9965586)x3,
Cigosidad	Heterocigoto
Clasificación	Variante de significado incierto
ISCN 2020	arr[GRCh37] 6p25.3(260363_302273)x1
Tamaño (Kbp)	43
Tipo	Delección
Número de genes OMIM	1
Genes de interés	<i>DUSP22</i>
Origen parental	Paterno: arr[GRCh37] 6p25.3(254254_384742)x1, materno: arr[GRCh37] 6p25.3(254254_381086)x1
Cigosidad	Heterocigoto
Clasificación	Benigna
ISCN 2020	arr[GRCh37] 8p11.22(39226336_39388919)x0
Tamaño (Kbp)	163
Tipo	Delección
Número de genes OMIM	0
Genes de interés	-
Origen parental	Paterno: arr[GRCh37] 8p11.22(39226336_39388919)x0
Cigosidad	Homocigoto
Clasificación	Benigna, variante poblacional
ISCN 2020	arr[GRCh37] 9p24.1(6623959_6756136)x3
Tamaño (Kbp)	132
Tipo	Duplicación
Número de genes OMIM	2
Genes de interés	<i>GLDC, KDM4C</i>
Origen parental	<i>De novo</i>
Cigosidad	heterocigoto
Clasificación	Variante de significado incierto
ISCN 2020	arr[GRCh37] 10q11.22(46975077_48311490)x1
Tamaño (Kbp)	1336
Tipo	Delección
Número de genes OMIM	3
Genes de interés	<i>GPRIN2, NPY4R, ANXA8</i>
Origen parental	Paterno: arr[GRCh37] 10q11.22(46975077_48167553)x1

Cigosidad	Heterocigoto
Clasificación	Benigna
ISCN 2020	arr[GRCh37] 11q11(55373995_55452964)x1
Tamaño (Kbp)	79
Tipo	delección
Número de genes OMIM	0
Genes de interés	-
Origen parental	<i>De novo</i>
Cigosidad	Heterocigoto
Clasificación	Benigna
ISCN 2020	arr[GRCh37] 14q32.33(106328413_106712665)x3
Tamaño (Kbp)	384
Tipo	Duplicación
Número de genes OMIM	1
Genes de interés	<i>FAM30A</i>
Origen parental	Paterno y materno: arr[GRCh37] 14q32.33(106260006_106712665)x3
Cigosidad	Heterocigoto
Clasificación	Benigna, Variante poblacional
ISCN 2020	arr[GRCh37] Xq26.3(134871485_134965932)x4
Tamaño (Kbp)	94
Tipo	Duplicación
Número de genes OMIM	2
Genes de interés	<i>CT45A5, CT45A3</i>
Origen parental	Materna
Cigosidad	Homocigoto
Clasificación	Variante de significado incierto



**Figura 2.** Imagen del análisis global del genoma (*WGV por sus siglas en inglés*) de la paciente MCM.002.22. En el eje-X se observa el cromosoma y en el eje-Y se observa el cociente Log2 de la CNV (línea azul).

### **Descripción del paciente y resultados de microarreglos SNP caso MCM.003.22**

Paciente masculino de 12 años y 7 meses, producto de la 4ta gesta, de padres no consanguíneos, la madre con antecedente de un aborto previo, ambos padres aparentemente sanos, sin antecedentes heredofamiliares o perinatales de riesgo. Cuenta con dos medios hermanos por rama materna aparentemente sanos y una hermana aparentemente sana. Nace a las 39 SDG vía vaginal, lloró y respiró al nacer, peso 2,950 g (p17), talla 48 cm (p16), Apgar 8/9, fue dado de alta en binomio sin complicaciones. Es enviado a nuestro departamento a los 9 años y 11 meses de edad con probable encefalopatía epiléptica, Síndrome de Dravet. Inició a los 2 meses con espasmos tónicos de 1 minuto de duración, presentándose 3 a 4 veces al día, en extremidades superiores y se diagnosticó con crisis epilépticas. Cuenta con el antecedente de estado epiléptico. Última crisis en 2019. Se observa en el paciente umbral al dolor aumentado. Cuenta con estudio de resonancia magnética donde se reporta atrofia corticosubcortical generalizada con incremento del sistema ventricular. EEG se observa en sueño brotes de ondas agudas bifrontales 2-3 segundos de duración, así como puntas en inversión de fase centrales izquierdas como actividad epileptiforme.

En cuanto al desarrollo psicomotor inicia con sostén cefálico a los 2 meses, sedestación a los 6 meses, gateo a los 9 meses, bipedestación a los 9 meses, deambulación al año 2 meses, control de esfínteres a los 11 meses, balbuceos a los 4 meses, bisílabos (mamá, papá, agua) a los 10 meses, frases a los 13 meses, a los 3 años decía 20 palabras. Control de esfínteres al año 3 meses. Inicia con regresión de lenguaje a los 3 años de edad y regresión motora en 2019 a los 9 años. Dejó de controlar esfínteres a los 7 años.

**Exploración física:** Cráneo normocéfalo, línea de implantación capilar anterior baja e irregular, cabello rizado, frente corta, estrechamiento bitemporal, cejas densamente pobladas y arqueadas, sinofridia, fisuras palpebrales dirigidas en sentido inferior,

pliegues infraorbitarios, pestañas largas en una sola línea de implantación, puente nasal prominente, pirámide nasal corta, punta de la nariz bulbosa, narinas antevertidas, columna corta, filtrum grado III, cavidad oral con tendencia a la apertura bucal, bermellón superior en arco de cupido, bermellón inferior grueso, diente supranumerario en paladar superior, sin micrognatia ni retrognatia, pabellones auriculares de implantación baja, sin alteraciones en sus componentes cartilaginosos, cuello cilíndrico, corto, tórax simétrico, pezones invertidos, abdomen globoso a expensas de panículo adiposo, no doloroso a la palpación, no se palpan visceromegalias ni defectos de pared, genitales externos fenotípicamente masculinos, se observa aparente micropene (no es posible realizar medición). Extremidades superiores integra y simétricas, con tono disminuido, dedos ahusados en las dos manos, presencia de borde cubital recto en ambas manos. Extremidades inferiores integra y simétricas, uñas y dedos de los dos pies sin alteraciones. Dorso no valorable.

**Tabla 3. Resultados de microarreglos SNP del caso 003.**

Caso 003	
ISCN 2020	arr[GRCh37] 1p12p11.2(120527495_120617367)x1
Tamaño (Kbp)	90
Tipo	Delección
Número de genes OMIM	1
Genes de interés	<i>NOTCH2</i>
Origen parental	<i>De novo</i>
Cigosidad	Heterocigoto
Clasificación	Benigna
ISCN 2020	arr[GRCh37] 1q21.1(144956532_145080038)x1
Tamaño (Kbp)	124
Tipo	Delección
Número de genes OMIM	1
Genes de interés	<i>PDE4DIP</i>
Origen parental	Paterno: arr[GRCh37] 1q21.1(145030939_145074541)x1
Cigosidad	Heterocigoto
Clasificación	Variante de significado incierto
ISCN 2020	arr[GRCh37] 6p21.33(31388485_31480958)x1
Tamaño (Kbp)	40
Tipo	Delección

Número de genes OMIM	2
Genes de interés	<i>HCP5, MICB</i>
Origen parental	Paterno: arr[GRCh37] 6p21.33(31359874_31481336)x1
Cigosidad	Heterocigoto
Clasificación	Variante de significado incierto
ISCN 2020	arr[GRCh37] 6p25.3(254254_294911)x1
Tamaño (Kbp)	41
Tipo	Delección
Número de genes OMIM	1
Genes de interés	<i>DUSP22</i>
Origen parental	Materno: 6p25.3(254254_302261)x1
Cigosidad	Heterocigoto
Clasificación	Benigna
ISCN 2020	arr[GRCh37] 7p14.1(38319672_38394857)x1
Tamaño (Kbp)	75
Tipo	Delección
Número de genes OMIM	0
Genes de interés	-
Origen parental	<i>De novo</i>
Cigosidad	Homocigoto
Clasificación	Probablemente benigna
ISCN 2020	arr[GRCh37] 14q11.2(22601766_22944507)x1
Tamaño (Kbp)	343
Tipo	Delección
Número de genes OMIM	1
Genes de interés	<i>TRDC</i>
Origen parental	<i>De novo</i>
Cigosidad	heterocigoto
Clasificación	Benigna
ISCN 2020	arr[GRCh37] 14q32.33(106328827_106712665)x3
Tamaño (Kbp)	384
Tipo	Duplicación
Número de genes OMIM	3
Genes de interés	<i>IGH, IGHD3-3, FAM30A</i>
Origen parental	Paterno: arr[GRCh37] 14q32.33(106328827_106896602)x3, materno: arr[GRCh37] 14q32.33(106328827_106694287)x4
Cigosidad	Heterocigoto
Clasificación	Benigna, Variante poblacional



**Figura 3.** Imagen del análisis global del genoma (*WGV por sus siglas en inglés*) del paciente MCM.003.22. En el eje-X se observa el cromosoma y en el eje-Y se observa el cociente Log2 de la CNV (línea azul).

### **Descripción del paciente y resultados de microarreglos SNP caso MCM.004.22**

Femenino de 4 años de edad producto de la segunda gesta, de padres no consanguíneos. Madre con antecedente de crisis epilépticas desde los 14 años de edad. Padre aparentemente sano. Cuenta con un hermano varón aparentemente sano. Dentro de los antecedentes perinatales de riesgo, con diagnóstico a las 12 SDG, con ingesta de carbamazepina (categoría D) durante todo el embarazo (200mg cada 8 horas). Cuenta con el antecedente perinatal de elevación de cifras tensionales en dos ocasiones y Preeclampsia sin datos de severidad una semana previa al nacimiento. Nace a las 39SDG por vía vaginal, llora y respira al nacer, peso fue de 3,200g (p47), talla 52cm (p94), Apgar no recuerda, fue dada de alta en binomio sin complicaciones. Cuenta con una tía abuela por rama materna con antecedente de crisis epilépticas. Tiene un hermano aparentemente sano. Es enviada a nuestro departamento, por el antecedente de crisis epilépticas que inició a los 6 meses de edad así como también por presentar dismorfias faciales. En cuanto al desarrollo psicomotor, sonrisa social a los 3 meses, seguimiento visual a los 4 meses, sostén cefálico a los 5 meses, pinza fina a los 6 meses, rodamiento a los 6 meses, sedestación sin apoyo inicia a los 6 meses, pero surge regresión a partir de las crisis convulsivas a los 9 meses, con diagnóstico de Epilepsia focal motora de origen estructural. Patrón de crisis epilépticas actual es de manera diaria. Antecedente de Alteración en la fase II de la deglución y ERGE. Cuenta con el antecedente de hipoplasia de cuerpo calloso.

**Exploración física:** Cráneo normocéfalo, línea de implantación capilar anterior irregular, frente estrecha, con presencia de hipertrichosis, cejas densamente pobladas, arqueadas, fisuras palpebrales horizontales, longitud de fisuras palpebrales de 3.5cm a +2DE , distancia intercantal interna 3cm a +1DE telecanto, distancia intercantal externa 10.3 por arriba de percentil 97, distancia interpupilar calculada 6.16 por arriba de percentil 97, hipertelorismo, escleras con presencia de nevos melanocíticos así como también tinte color gris-azulado, epicanto bilateral, pestañas largas en una sola línea de implantación, puente nasal amplio, prominente, pirámide nasal de aspecto tubular, punta de la nariz bulbosa y dirigida en sentido inferior, alas discretamente hipoplásicas, narinas normales, columnela corta, filtrum grado IV, bermellón superior delgado en arco de cupido, bermellón inferior normal, tendencia a la apertura bucal, paladar ojival, úvula central, maloclusión dental, microdoncia, afección del esmalte dental, mejillas prominentes, sin micrognatia, sin retrognatia, pabellones auriculares de implantación baja, longitud de ambos pabellones es de 6.3cm a +2DE, hipoplasia de hélix, presencia de telangiectasias pre y retroauriculares, sin otras alteraciones en sus componentes cartilaginosos. Cuello cilíndrico, toral simétrico, sin teletelia, abdomen blando, depresible, no se palpan visceromegalias ni defectos de pared, genitales externos fenotípicamente femeninos, con labios mayores con aumento de volumen. Extremidades superiores integra y simétricas, palma derecha e izquierda de 6.5cm entre percentil 25 y 50, 3er dedo de 4.5cm entre percentil 3 y 25, 3er dedo/total de mano (11cm) entre percentil 3 y 25, pliegues palmares poco marcados en ambas manos, uñas hiperconvexas, dedos ahusados. Extremidades inferiores integra y simétricas, longitud de los dos pies 13.5cm por debajo de percentil 3, hiperqueratosis plantar, persistencia de almohadillas fetales, sindactilia cutánea entre el 2do y 3er dedo en los dos pies, uñas hiperconvexas. Dorso con presencia de hendidura en región sacra y melanosia dérmica congénita.

**Tabla 4. Resultados de microarreglos SNP del caso 004.**

	Caso 004
ISCN 2020	arr[GRCh37] 14q32.33(106072251_106736227)x3
Tamaño (Kbp)	664
Tipo	Duplicación
Número de genes OMIM	9

Genes de interés	<i>IGH, IGHG4, IGHA1, IGHG1, IGHG3, IGHD, IGHD3-3, FAM30A, IGHV3-23</i>
Origen parental	Materno: arr[GRCh37] 14q32.33(106328974_106740579)x3
Cigosidad	Heterocigoto
Clasificación	Benigna, Variante poblacional
ISCN 2020	arr[GRCh37] 6p25.3(265130_384097)x1
Tamaño (Kbp)	119
Tipo	Deleción
Número de genes OMIM	1
Genes de interés	<i>DUSP22</i>
Origen parental	<i>De novo</i>
Cigosidad	Heterocigoto
Clasificación	Benigna



**Figura 4.** Imagen del análisis global del genoma (*WGV por sus siglas en inglés*) de la paciente MCM.004.22. En el eje-X se observa el cromosoma y en el eje-Y se observa el cociente Log2 de la CNV (línea azul).

### Descripción del paciente y resultados de microarreglos SNP caso MCM.005.22

Paciente masculino de 7 años y 8 meses de edad, producto de la gesta tres, de padres no consanguíneos, la madre con antecedente de aborto previo, ambos padres aparentemente sanos. Cuenta con una hermana aparentemente sana y una media hermana por rama paterna de 20 años de edad aparentemente sana. La paciente tiene dos primos hermanos por rama paterna con diagnóstico de trastorno de espectro autista. Sin otros antecedentes heredofamiliares o perinatales de riesgo. Nace vía abdominal a las 39 SDG secundario a circular de cordón umbilical, llora y respira al nacer, Apgar 8/9 peso 3,425g (p56), talla 50cm (p52). Fue dado de alta en binomio sin complicaciones. Es enviado a nuestro departamento a la edad de 6 años por el antecedente de epilepsia que

inició a los 8 meses (espasmos en flexión 3-4 veces al día en 10 salvas) y regresión del neurodesarrollo. A los 3 años de edad cambia patrón de crisis, presentaba eventos caracterizado por crisis atónicas con pérdida súbita de tono muscular, crisis de inicio generalizado con incremento de tono de 4 extremidades, versión ocular a la derecha de 1 minuto de duración 3-4 veces al día con incremento hasta 12 crisis al día. Actualmente patrón de crisis de 1 vez al día, con epilepsia farmacorresistente sin embargo con control respecto a patrón habitual con mejoría de >60%, en manejo con levetiracetam, clonacepam y valproato de magnesio y se agrega CBD con disminución a una crisis al día. Refiere la madre del paciente umbral al dolor aumentado y actualmente realiza marcha en puntas con apoyo. Cuenta con ultrasonido renal con quiste renal simple derecho, resonancia magnética de encéfalo donde se reporta atrofia corticosubcortical generalizada, potenciales provocados auditivos de tallo cerebral con hipoacusia profunda derecha. EEG en vigilia y sueño anormal por presentar actividad epileptiforme generalizada complejos onda agudo lenta generalizada

En cuanto al desarrollo psicomotor sonrisa social 2 meses, sostén cefálico 2 meses, fijación mirada 2 meses, sedestación 6 meses, bipedestación con apoyo 12 meses, deambulación al año siete meses, balbuceo 4 meses, no emite bisílabos, no ha logrado control de esfínteres. Regresión de sonrisa social a los 8 meses de edad, posteriormente regresión de la deambulación a los 3 años de edad, secundario a la aparición de crisis convulsivas.

**Exploración física:** Cráneo normocéfalo, cabello abundante y liso, línea de implantación capilar anterior alta, cara de aspecto alargado, frente amplia, cejas pobladas, horizontales, enoftalmos, fisuras palpebrales dirigidas en sentido inferior, longitud de fisuras palpebrales derecha 3cm a +1DE, izquierda 2.8c, a +1DE, epicanto inverso bilateral, discreta ptosis palpebral bilateral, distancia intercantal interna 4cm a +2DE, telecanto, distancia intercantal externa 8.5cm entre percentil 75 y 97, distancia interpupilar calculada 6.01 en percentil 97, hipertelorismo, pestañas largas en una sola línea de implantación, puente nasal prominente, pirámide nasal larga, punta de la nariz normal, narinas discretamente antevertidas, columnela corta, filtrum grado IV, comisuras labiales horizontales, bermellón superior e inferior gruesos, tendencia a la apertura bucal,

paladar normal, úvula central, mentón de aspecto triangular, discreto prognatismo, sin micrognatia, pabellones auriculares de implantación baja, acopados, antihélix prominente, trago bilobulado en ambos pabellones, longitud de pabellones auriculares de 5.5cm en percentil 50, sin otras anomalías en sus componentes cartilagosos. Cuello cilíndrico, tórax simétrico, abdomen blando depresible, no se palpan visceromegalias ni defectos de pared, genitales externos fenotípicamente masculinos, meato urinario en punta del pene, ambos testículos palpables en bolsa escrotal. Extremidades superiores íntegras y simétricas, uñas hiperconvexas, pliegues palmares poco profundos, longitud total 13cm en percentil 25, palma 7 cm en percentil 50, 3er dedo 6cm en percentil 97, relación 3er dedo/total de mano por arriba de percentil 97. Extremidades inferiores íntegras y simétricas, uñas hiperconvexas, longitud de pie derecho 17.5cm en percentil 3, longitud de pie izquierdo 17.3cm en percentil 3. Dorso sin alteraciones aparentes. Hipotrofia generalizada en extremidades superiores e inferiores.

**Tabla 5. Resultados de microarreglos SNP del caso 005.**

Caso 005	
ISCN 2020	arr[GRCh37] 6q16.3(101858977_101929286)x1
Tamaño (Kbp)	70
Tipo	Delección
Número de genes OMIM	1
Genes de interés	<i>GRIK2</i>
Origen parental	Paterno: arr[GRCh37] 6q16.3(101858977_101944637)x1
Cigosidad	Heterocigoto
Clasificación	Variante de significado incierto
ISCN 2020	arr[GRCh37] 6p21.33(31353401_31456073)x1
Tamaño (Kbp)	103
Tipo	Delección
Número de genes OMIM	2
Genes de interés	<i>MICA, HCP5</i>
Origen parental	Materno: arr[GRCh37] 6p21.33(31353401_31456073)x1
Cigosidad	Heterocigoto
Clasificación	Variante de significado incierto
ISCN 2020	arr[GRCh37] 6p25.3(254254_294712)x1,
Tamaño (Kbp)	40
Tipo	Delección

Número de genes OMIM	1
Genes de interés	<i>DUSP22</i>
Origen parental	Paterno: arr[GRCh37] 6p25.3(254254_294911)x1
Cigosidad	Heterocigoto
Clasificación	Benigna



**Figura 5.** Imagen del análisis global del genoma (*WGV por sus siglas en inglés*) del paciente MCM.005.22. En el eje-X se observa el cromosoma y en el eje-Y se observa el cociente Log2 de la CNV (línea azul).

### Descripción del paciente y resultados de microarreglos SNP caso MCM.006.22

Femenina de 4 años de edad, producto de la gesta dos, de padres no consanguíneos, ambos padres aparentemente sanos. Cuenta con una hermana aparentemente sana. Sin otros antecedentes heredofamiliares de importancia. Antecedentes perinatales, madre con probable diabetes gestacional, sin otros antecedentes de riesgo. Nace vía abdominal a las 38 SDG, secundario a presentación pélvica, llora y respira al nacer, Apgar 7/8, peso 3,000g (p30), talla 48cm (p27), requirió oxígeno con casco cefálico por taquipnea transitoria del recién nacido. Se mantuvo en hospitalización durante dos meses por antecedente de conducto arterioso persistente con cierre mediante cirugía a los 24 días de vida. Es enviada a nuestro departamento a los 4 meses de edad por presencia de dismorfias faciales y cardiopatía congénita (persistencia de conducto arterioso). Cuenta con el antecedente de ERGE, hipertensión pulmonar, parálisis de cuerdas unilateral (izquierda); se le realizó funduplicatura y gastrostomía a los 10 meses. Ultrasonido abdominal sin alteraciones, electroencefalograma normal. Pérdida prematura de dientes deciduos al año cuatro

meses. En cuanto al desarrollo psicomotor inicia con sonrisa social a los 2 meses, seguimiento visual al mes de edad, rodamiento a los 3-4 meses. Inicia con sostén cefálico a los 4 meses, balbuceo al año de edad, los sedestación a los dos años y medio, no gateó, bipedestación a los 4 años y 4 meses, marcha atáxica con apoyo, pasa un objeto de una mano a otra a los 3 años y medio, bisílabos (mamá/papá) a los 3 años y 6 meses, con regresión de lenguaje a los 4 años de edad. A los dos años de edad, presenta movimientos repetitivos de aplauso y a golpearse la cabeza contra la pared.

**Exploración física:** Cráneo normocéfalo, occipucio prominente, dos verticilos en región parietal derecha e izquierda, izquierdo gira a favor de las manecillas del reloj, el derecho en dirección contraria a las manecillas del reloj, frontal con hipertrichosis, con línea de implantación capilar anterior irregular, estrechamiento bifrontal, cejas pobladas ligeramente arqueadas con sinofridia, fisuras palpebrales dirigidas en sentido inferior de 2.5cm en percentil 50, distancia intercantal interna 3.5cm a +2DE, telecanto, distancia intercantal externa 8.8cm en percentil 97, distancia interpupilar calculada 5.8 por arriba de percentil 97, con hipertelorismo, epicanto inverso bilateral, pestañas largas en una sola línea de implantación, puente nasal ancho, pirámide nasal corta y ancha, punta de la nariz bulbosa, narinas discretamente antevertidas, alas hipoplásicas, columnela corta, filtrum grado corto grado IV, comisuras labiales dirigidas en sentido inferior, Borde bermellón del labio superior en forma de arco de cupido, bermellón inferior normal. Cavidad oral con paladar íntegro ojival, úvula central, ausencia de incisivo central derecho. Mejillas prominentes. Pabellones auriculares de implantación baja, con lóbulo hipoplásico y adherido, resto de componentes cartilagosos sin alteraciones, sin surcos, apéndices o fosetas, de 5.5cm en percentil 50. Cuello cilíndrico. Tórax simétrico. Abdomen blando, depresible, con presencia de sonda de gastrostomía en cuadrante superior izquierdo permeable, No se palpan visceromegalias ni defectos de pared. Genitales fenotípicamente femeninos, sin anomalías. Extremidades superiores íntegras, con arcos de movilidad completos. Clinodactilia y acortamiento del quinto dedo de ambas manos. Incremento de tejidos blandos en dorso de manos. Pliegue palmar transicional en mano izquierda. Eminencia tenar e hipotenar normal. Borde cubital de ambas manos recto. Uñas planas. Extremidades inferiores íntegras. Sindactilia cutánea

de segundo y tercer dedo de los pies. Aumento entre el espacio del primer y segundo dedo en los dos pies. Aplanamiento de las uñas e incremento de tejidos blandos en el dorso de los pies. Presenta mancha hipocrómica en rodilla izquierda de 1x1 cm de bordes anfractuosos. Nevo pigmentado violáceo en región dorsal. Cicatriz quirúrgica en región subescapular izquierda. Hipertrichosis en extremidades superiores, inferiores y en dorso.

**. Tabla 6. Resultados de microarreglos SNP del caso 006.**

Caso 006	
ISCN 2020	arr[GRCh37] 3q13.2(112090906_112219753)x3
Tamaño (Kbp)	129
Tipo	Duplicación
Número de genes OMIM	1
Genes de interés	<i>BTLA</i>
Origen parental	Materno: arr[GRCh37] 3q13.2(112090906_112243986)x3
Cigosidad	Heterocigoto
Clasificación	Variante de significado incierto
Caso 006	
ISCN 2020	arr[GRCh37] 16p11.2p11.1(34471808_34765203)x3
Tamaño (Kbp)	293
Tipo	Duplicación
Número de genes OMIM	0
Genes de interés	-
Origen parental	Paterno: arr[GRCh37] 16p11.2p11.1(34471808_34765203)x3
Cigosidad	Heterocigoto
Clasificación	Benigna



**Figura 6** Imagen del análisis global del genoma (*WGV por sus siglas en inglés*) de la paciente MCM.006.22. En el eje-X se observa el cromosoma y en el eje-Y se observa el cociente Log2 de la CNV (línea azul).

## **Descripción del paciente y resultados de microarreglos SNP caso MCM.007.22**

Femenina de 3 años de edad, producto de la gesta tres, de padres no consanguíneos, aparentemente sanos. Sin antecedentes heredofamiliares de riesgo. Cuenta con el antecedente de madre con dos abortos previos. Como antecedentes perinatales de riesgo madre con ingesta de alcoholismo y tabaquismo al inicio de la gestación, se desconoce cantidad, ultrasonido estructural no recuerda en que semana, con restricción del crecimiento intrauterino. Nace a las 38.4 SDG vía vaginal, llora y respira al nacer, peso 2,730g (p13), talla 45cm (p1 -2.23DE), perímetro cefálico 32cm (p6), Apgar 7/9, se dieron maniobras básicas, se reporta liquido meconial, requiriendo hospitalización durante 5 días con diagnóstico de restricción del crecimiento intrauterino, taquipnea transitoria del recién nacido, probable sepsis neonatal sin germen aislado, hiperbilirrubinemia multifactorial. Inicia a los 11 meses con crisis epilépticas, caracterizadas por mirada fija de 1 minuto de duración. Enviada a nuestro departamento a los 3 años de edad con diagnóstico de epilepsia de inicio focal, hipotonía y dismorfias craneofaciales. Cuenta con resonancia magnética de encéfalo con disminución del volumen de la sustancia blanca, gliosis focales en sustancia blanca. EEG de medio privado con actividad de puntas en inversión de fase en región frontal bilateral predominio derecho. Se realizó tamiz metabólico ampliado reportado normal. Ultimo evento de crisis epilépticas a los 2 años 4 meses, asociado a evento febril. En cuanto al desarrollo psicomotor sonrisa social a los 4 meses, sostén cefálico 3-4 meses, sedestación a los 8 meses, balbucea a los 4 meses, pinza fina a los 8-9 meses, bipedestación a los 2 años 6 meses, actualmente camina sola por algunos pasos, sin control de esfínteres. A los 9 meses pérdida de pinza fina y de balbuceo. Posteriormente con pérdida de contacto visual, seguimiento visual y sonrisa social. Hay estereotipias aplaudiendo.

**Exploración física:** Cráneo normocéfalo, línea de implantación capilar anterior irregular, frente amplia y prominente, cejas rectas, arcos supraciliares hipoplásicos, epicanto bilateral, fisuras palpebrales dirigidas en sentido inferior, de 3.5cm a +2DE, distancia intercantal interna 3.5cm a +2DE, con telecanto, distancia intercantal externa 9.5cm >97, distancia interpupilar calculada 6.13 por arriba de percentil 97, hipertelorismo, pestañas

largas en una sola línea de implantación, puente nasal amplio y deprimido, pirámide nasal corta y ancha, base de la nariz ancha, punta de la nariz bulbosa, alas hipoplásicas, narinas discretamente antevertidas, columnela corta, filtrum grado III, premaxila prominente, bermellón superior e inferior normales, comisuras labiales dirigidas en sentido inferior, cavidad oral integra, paladar normal, úvula central, dientes sin alteraciones, mejillas prominentes, sin micrognatia ni retrognatia, pabellones auriculares de implantación baja, de 5.2cm en percentil 50, con discreta rotación posterior, antihélix prominente, sin alteraciones en sus componentes cartilagosos, cuello cilíndrico, tórax asimétrico, pectus excavatum, abdomen blando, depresible, no se palpan visceromegalias ni defectos de pared. Genitales fenotípicamente femeninos. Extremidades superiores integras y simétricas, incremento de tejidos blandos en el dorso de las dos manos, dedos ahusados, uñas de implantación profunda, almohadillas fetales prominentes. Extremidades inferiores íntegras y simétricas, incremento de tejidos blandos en el dorso de los dos pies, superposición del segundo dedo sobre el tercer dedo de los dos pies.

**Tabla 7. Resultados de microarreglos SNP del caso 008.**

Caso 007	
ISCN 2020	arr[GRCh37] 7p14.1(38286192_38378483)x1
Tamaño (Kbp)	92
Tipo	Delección
Número de genes OMIM	2
Genes de interés	<i>TRGC2, TRGC1</i>
Origen parental	<i>De novo</i>
Cigosidad	Heterocigoto
Clasificación	Variante de significado incierto
ISCN 2020	arr[GRCh37] 7q11.21(62458453_62759719)x3
Tamaño (Kbp)	301
Tipo	Duplicación
Número de genes OMIM	0
Genes de interés	-
Origen parental	Paterno: arr[GRCh37] 7q11.21(62474096_62759719)x3
Cigosidad	Heterocigoto
Clasificación	Variante de significado incierto

ISCN 2020	arr[GRCh37] 14q11.2(22480768_22944507)x1
Tamaño (Kbp)	464
Tipo	Delección
Número de genes OMIM	1
Genes de interés	<i>TRDC</i>
Origen parental	<i>De novo</i>
Cigosis	Heterocigoto
Clasificación	Benigna
ISCN 2020	arr[GRCh37] 14q32.33(106313879_106852360)x3
Tamaño (Kbp)	538
Tipo	Duplicación
Número de genes OMIM	4
Genes de interés	<i>IGH, IGHD3-3, FAM30A, IGHV3-23</i>
Origen parental	Paterno: arr[GRCh37] 14q32.33(106328827_106927569)x3, materno: arr[GRCh37] 14q32.33(106328827_106712665)x3
Cigosis	Heterocigoto
Clasificación	Benigna, Variante poblacional
ISCN 2020	arr[GRCh37] Xq23(114193191_114392455)x3
Tamaño (Kbp)	199
Tipo	Duplicación
Número de genes OMIM	1
Genes de interés	<i>IL13RA2</i>
Origen parental	Paterno: Xq23(114220154_114392455)x2
Cigosis	Heterocigoto
Clasificación	Variante de significado incierto



**Figura 7. Análisis de microarreglos SNP.** Imagen del análisis global del genoma (*WGV por sus siglas en inglés*) de la paciente MCM.007.22. En el eje-X se observa el cromosoma y en el eje-Y se observa el cociente Log2 de la CNV (línea azul).

### Descripción del paciente y resultados de microarreglos SNP caso MCM.008.22

Femenina de 7 años de edad, producto de la segunda gesta. Consanguinidad positiva, cuenta con el antecedente de que el bisabuelo materno es hermano del abuelo paterno se hace el cálculo del coeficiente de endogamia, el cual proporciona la probabilidad para presentar homocigosidad para cualquiera de los cuatro alelos de un par de ancestros en común es de  $1/128$  y para 1 solo alelo es de  $1/512$ , estableciéndose un grado de parentesco de  $1/64$  correspondiendo a familiares de sexto grado. Antecedentes perinatales de riesgo con polihidramnios a las 24 SDG, Recibió tratamiento de escabiosis con lindano a los 6 meses. Amenaza de parto pretérmino, se dieron dos dosis de corticoesteroides para maduración pulmonar. Inicio trabajo de parto en la semana 35 y curso con elevación de la tensión arterial y se diagnosticó preeclampsia y síndrome de HELLP incompleto, por lo que se decide interrupción del embarazo por vía abdominal peso al nacer de 2500g (p4), talla 47cm (p13), APGAR 7/9, requirió hospitalización en cunero patológico por 2 meses, secundario a dificultad respiratoria y posterior inicio de crisis convulsivas. Es enviada a nuestro departamento a los 6 años y 8 meses por que cuenta con los diagnósticos de epilepsia secundaria, agenesia de cuerpo caloso y atrofia corticosubcortical, discapacidad intelectual, regresión del neurodesarrollo, displasia broncopulmonar. Se le realizó funduplicatura en noviembre de 2016. Actualmente libre de crisis epilépticas (última en 2018). En cuanto al desarrollo psicomotor inicia seguimiento visual a los 2 meses, sostén cefálico a los 9 meses, sedestación al año de edad, con sedestación completa, bipedestación y deambulacion con apoyo, comprende ordenes sencillas, ausencia de lenguaje, solo emite sonidos guturales. Aún sin control de esfínteres. Presentó regresión de lenguaje adquirido (bisílabos) a la edad de 2 años. Cuenta con el antecedente de ultrasonido abdominal con probable hipoplasia de vesícula biliar. Fue evaluada por oftalmología con diagnóstico de pseudoestrabismo por epicanto y ametropía. Cardiológicamente con corazón estructuralmente sano. TAC de cráneo con diagnóstico de hipoplasia de cuerpo caloso y atrofia corticosubcortical. Electroencefalograma reportado como normal.

**Exploración física:** Cráneo normocéfalo, línea de implantación capilar anterior alta e irregular, frente amplia, crestas supraciliares discretamente hipoplásicas, fisuras palpebrales dirigidas en sentido superior de 3.2cm, en percentil 50, distancia intercantal

interna 3.7cm, distancia intercantal externa 8.5cm, distancia interpupilar calculada 6.8cm en percentil 97, con hipertelorismo, pestañas regulares en una sola línea de implantación. Puente nasal amplio, pirámide nasal ancha, punta de la nariz dirigida en sentido inferior, base de la nariz ancha, alas nasales hipoplásicas, columnela corta, filtrum corto y liso, grado IV, cavidad oral integra, paladar alto, úvula central, incisivos superiores laterales de aspecto cónico, comisuras labiales horizontales, bermellón superior delgado e invertido, bermellón inferior delgado, sin micrognatia ni retrognatia, mejillas prominentes, pabellones auriculares de implantación baja, de 6.5cm a +2DE antihélix prominente bilateral, cuello cilíndrico, corto, tórax simétrico, abdomen blando, depresible, no se palpan visceromegalias ni defectos de pared, genitales externos femeninos, de acorde a edad, extremidades superiores integras y simétricas, clinodactilia del quinto dedo en las dos manos, uñas sin alteraciones. Extremidades inferiores íntegras y simétricas, arcos de movilidad conservados, clinodactilia del quinto dedo de los dos pies. Dorso sin alteraciones aparentes.

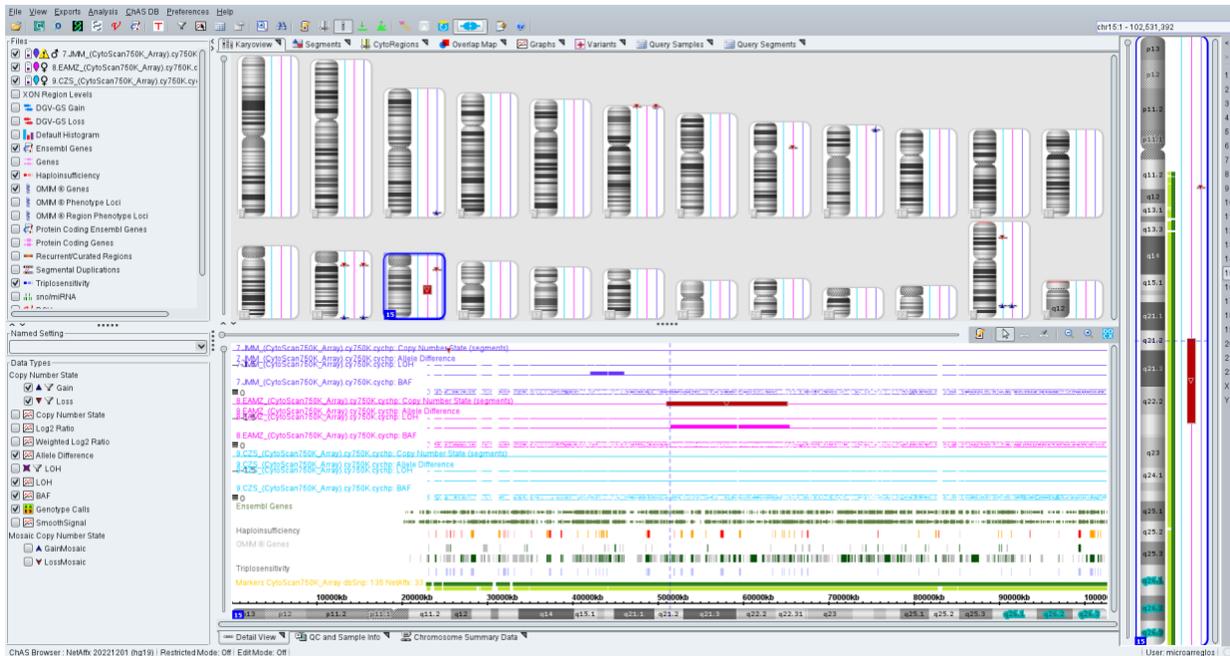
**Tabla 8. Resultados de microarreglos SNP del caso 008.**

Caso 008	
ISCN 2020	arr[GRCh37] 8p11.22(39226336_39388919)x0
Tamaño (Kbp)	163
Tipo	Deleción
Número de genes OMIM	0
Genes de interés	-
Origen parental	<i>De novo</i>
Cigosidad	Homocigoto
Clasificación	Benigna, variante poblacional
Caso 008	
ISCN 2020	arr[GRCh37] 15q21.2q22.31(50959165_65147327)x1
Tamaño (Kbp)	14,188
Tipo	Deleción
Número de genes OMIM	76
Genes de interés	<i>TRPM7, SPPL2A, AP4E1, TNFAIP8L3, CYP19A1, GLDN, DMXL2, SCG3, TMOD2, TMOD3, LEO1, MAPK6, BCL2L10, GNB5, MYO5C, MYO5A, ARPP19, ONECUT1, WDR72, UNC13C, RSL24D1, RAB27A, PIGBOS1, PIGB, CCPG1, PIERCE2, DNAAF4, PYGO1, PRTG, NEDD4, RFX7, MNS1, TCF12, CGNL1, MYZAP, POLR2M, ALDH1A2, AQP9, LIPC, ADAM10, MINDY2, RNF111, CCNB2, MYO1E, GCNT3, GTF2A2, BNIP2, FOXB1, ANXA2, ICE2, RORA, VPS13C, C2CD4A, C2CD4B, TLN2, MIR190A, TPM1, LACTB, RPS27L, RAB8B, APH1B, CA12, USP3, FBXL22, HERC1, DAPK2, CIAO2A, SNX1, PPIB, CSNK1G1, PCLAF, TRIP4, ZNF609, OAZ2, RBPMS2, PIF1.</i>
Origen parental	<i>De novo</i>

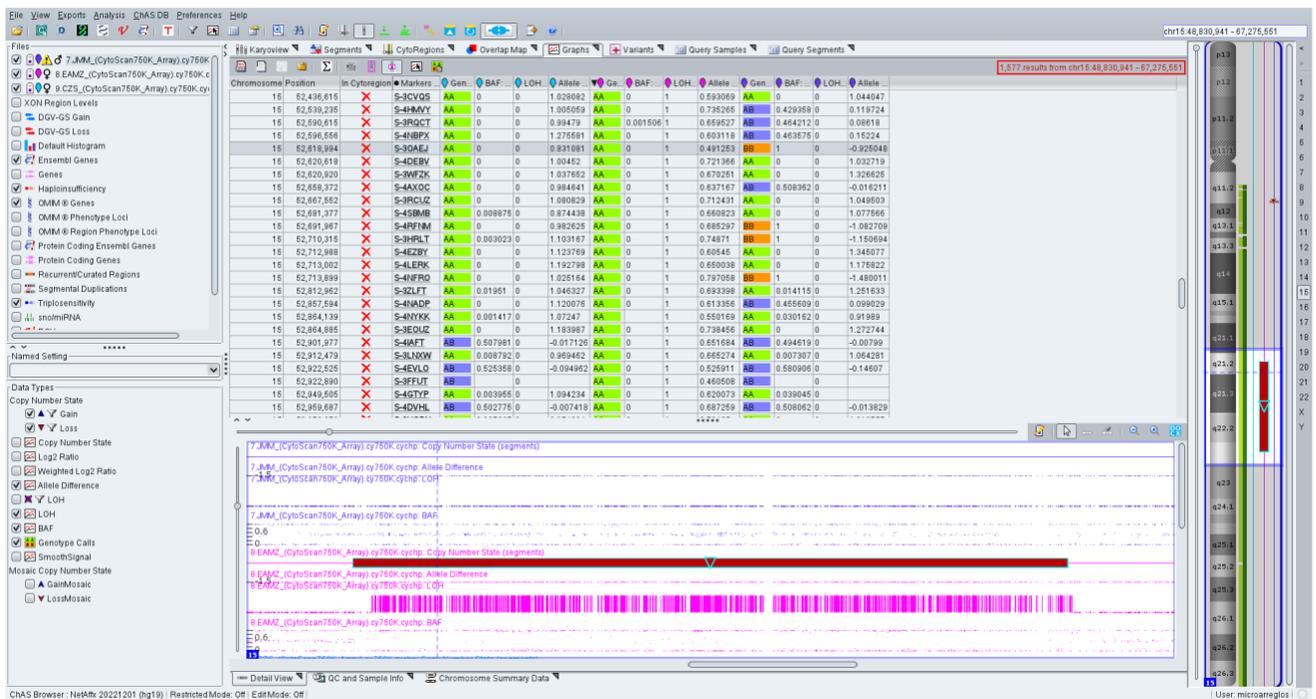
Cigosidad	Heterocigoto
Clasificación	<b>Patogénica</b>
ISCN 2020	arr[GRCh37] Xq26.3(134871485_134965932)x4
Tamaño (Kbp)	94
Tipo	Delección
Número de genes OMIM	2
Genes de interés	CT45A5, CT45A3
Origen parental	Materno: arr[GRCh37] Xq26.3(134871485_134965932)x4
Cigosidad	Homocigoto
Clasificación	Variante de significado incierto



**Figura 8. Análisis de microarreglos SNP.** Los datos se demuestran en vista del genoma completo (*WGV por sus siglas en inglés*). En el eje-X se observa el cromosoma y en el eje-Y se observa el cociente Log2 de la CNV (línea azul). Se observa la delección 15q21.2q22.31 (flecha roja)

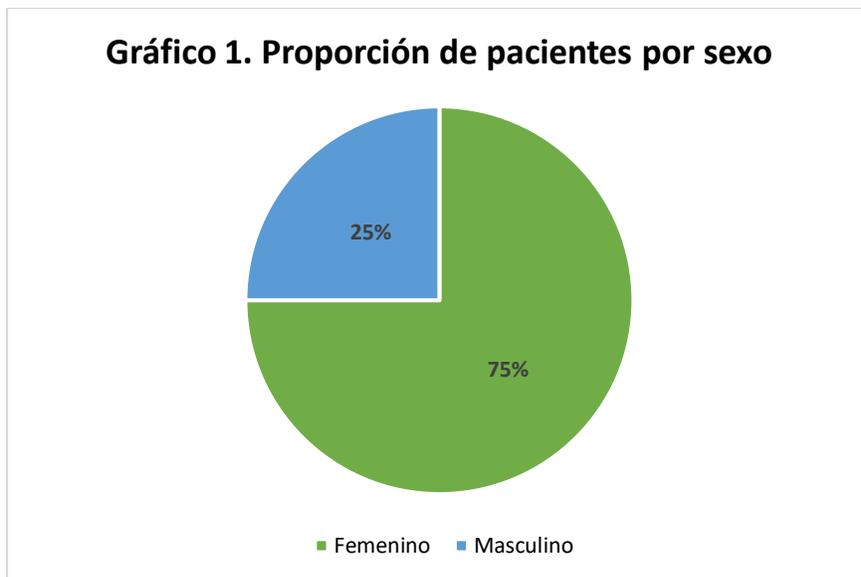


**Figura 9.** Cariograma del caso 008, obtenido con el software ChAS. Se muestra seleccionado el cromosoma 15. Podemos observar en color rojo la delección de la paciente, en morado al padre y en azul al padre, donde podemos observar que la delección es *de novo*.



**Figura 10.** Se realizó análisis de SNPs de alelos homocigotas, donde se pudo determinar el origen parental de la delección, de un origen paterno.

**Características sociodemográficas:**



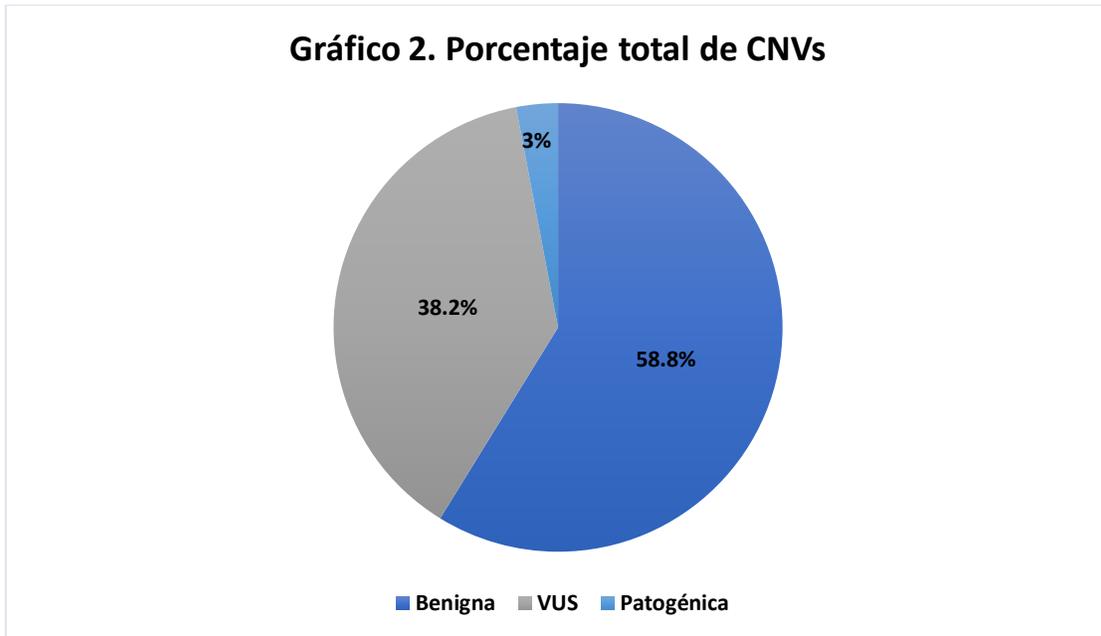
**Gráfico 1.** La distribución por sexo fue la siguiente: 8 pacientes en total, 6 (75%) fueron del sexo femenino, mientras que 2 pacientes (25%) fueron del sexo masculino

La edad más temprana a la que se le brindó atención a un paciente con anomalías morfológicas y funcionales congénitas y neuroregresión fue de 10 meses y la edad máxima fue 12 años (ver **Tabla 9**).

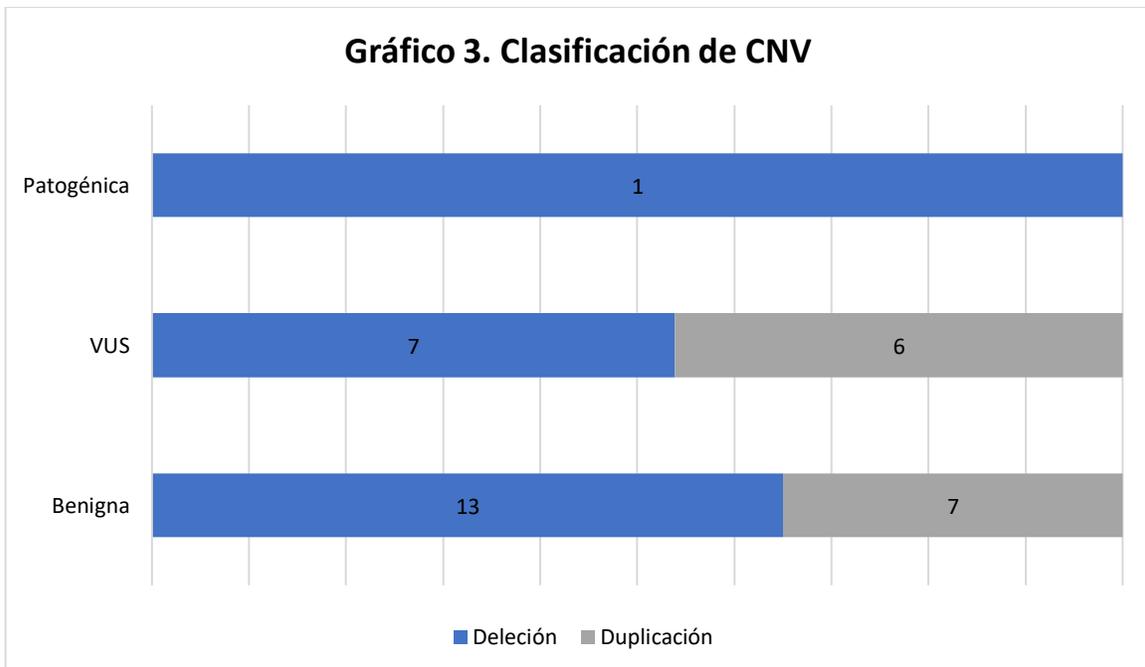
**Tabla 9. Paciente por grupo etario**

Grupo etario	Frecuencia (n=8)	Porcentaje
Lactante menor (1-12 meses)	1	12.5%
Preescolar (3-5 años)	3	37.5%
Escolar (6-11 años)	3	37.5%
Adolescente (12-18 años)	1	12.5%

## Frecuencia de CNVs



**Gráfico 2.** El total de CNVs reportadas en todos los casos fue de 34, siendo 20 (58.8%) clasificadas como variantes benignas, 13 (38.2%) como variantes de significado incierto y 1 (3%) como variante patológica.



**Gráfico 3.** Clasificación de CNVs. Se reportaron que de las 20 clasificadas como variantes benignas, 13 fueron deleciones y 7 duplicaciones. De las 13 variantes de significado incierto, 7 fueron deleciones y 6 duplicaciones. La variante patológica fue reportada como deleción.

**Tabla 10. Características clínicas**

Característica clínica	Número de caso								Frecuencia (n=8)	Porcentaje
	1	2	3	4	5	6	7	8		
Peso bajo	+	+	-	+	+	+	-	+	6	75%
Talla baja	+	+	-	-	-	+	-	+	4	50%
Microcefalia	+	-	-	+	-	-	-	-	2	25%
Macrocefalia	-	-	+	-	-	-	-	-	1	12.5%
Dolicocefalia	-	-	+	-	-	-	-	-	1	12.5%
Frente amplia	+	-	-	-	+	-	+	+	4	50%
Frente estrecha	-	+	+	+	-	+	-	-	4	50%
Fisuras palpebrales largas	+	+	-	+	+	-	+	-	5	62.5%
Telecanto	-	-	-	+	+	+	+	+	5	62.5%
Hipertelorismo	+	+	-	+	+	+	+	+	7	87.5%
Epicanto	-	-	-	+	+	+	+	-	4	50%
Pestañas largas	-	+	+	+	+	+	+	-	6	75%
Tendencia a apertura bucal	+	-	+	+	+	+	+	-	6	75%
Bermellón superior en arco de cupido	+	-	+	+	-	+	-	-	4	50%
Bermellones gruesos	-	-	+	-	+	-	-	-	2	25%
Bermellones delgados	+	+	-	-	-	-	-	+	3	37.5%
Implantación baja pabellones	+	+	+	+	+	+	+	+	8	100%
Macrotia	+	-	-	+	-	-	-	+	3	37.5%
Micrognatia	-	+	-	-	-	-	-	-	1	12.5%
Microdoncia	-	-	-	+	-	-	-	-	1	12.5%
Prognatismo	-	-	-	-	+	-	-	-	1	12.5%
Dedos ahusados	-	-	+	+	-	-	+	-	3	37.5%
Clinodactilia	-	-	-	-	-	+	-	+	2	25%
Tórax asimétrico	-	-	-	-	-	-	+	-	1	12.5%
Dedos ahusados	-	-	+	+	-	-	+	-	3	37.5%

**Tabla 11. Anomalías morfológicas**

Las anomalías morfológicas presentes en los pacientes fueron cardiopatía congénita en una paciente y malformaciones en sistema nervioso central (SNC) en 5/8 (62.5%). Dentro de las malformaciones de SNC, 4 presentaban atrofia corticosubcortical, 1 hipoplasia de cuerpo caloso y 1 presentó ambas.

Anomalía	Número de caso								Frecuencia (n=8)	Porcentaje
	1	2	3	4	5	6	7	8		
Malformación de SNC	-	+	+	+	+	-	-	+	5	62.5%
Atrofia corticosubcortical	-	+	+	-	+	-	-	-	3	37.5%
Hipoplasia de cuerpo caloso	-	-	-	+	-	-	-	-	1	12.5%
Atrofia corticosubcortical e hipoplasia de cuerpo caloso	-	-	-	-	-	-	-	+	1	12.5%
Cardiopatía congénita	-	-	-	-	-	+	-	-	1	12.5%

**Tabla 12. Anomalías funcionales.** Todos los pacientes presentaron neuroregresión. De estos pacientes presentaron regresión de lenguaje 5/8 (62.5%), regresión motora 5/8 (62.5%) y 6/8 (75%) presentaron epilepsia.

Anomalía	Número de caso								Frecuencia (n=8)	Porcentaje
	1	2	3	4	5	6	7	8		
Neuroregresión lenguaje	+	-	+	-	-	+	+	+	5	62.5%
Neuroregresión Motora	+	+	+	+	+	-	-	-	5	62.5%
Epilepsia									6	75%
Hipoacusia									1	12.5%

## DISCUSIÓN DE CASOS

### Caso 001.

En los resultados de microarreglos SNP (Affimetrix 750K) no se encontraron variantes en el número de copias clínicamente significativas, puesto que las tres CNVs clasificadas como benignas, se encontraban presente en los padres (ver Tabla 1), utilizando bases de datos Varsome (26), Franklin by Genoox (27). Consideramos que la posible causa de las anomalías morfológicas y funcionales aunado a la neuroregresión presentes en la paciente tenga un posible origen monogénico o multifactorial.

### Caso 002.

En los resultados del estudio de microarreglos SNP (Affimetrix 750K) no se encontraron variantes en el número de copias clínicamente significativas, con un total de nueve CNVs. Cuatro reportadas como variantes de significado incierto, una *de novo* y tres compartidas con los padres. Cinco son clasificadas como benignas, una *de novo*, dos variantes poblacionales (28) y tres compartidas con los padres (ver Tabla 2), utilizando bases de datos Varsome (26), Franklin by Genoox (27). Consideramos que la posible causa de las anomalías morfológicas y funcionales aunado a la neuroregresión presentes en la paciente tenga un posible origen monogénico o multifactorial.

**Caso 003.**

En los resultados del estudio de microarreglos SNP (Affimetrix 750K) no se encontraron variantes en el número de copias clínicamente significativas, con un total de siete CNVs. Cinco fueron reportadas como benignas, de estas tres fueron *de novo*, una reportada como variante poblacional (28) y una de origen materno. Dos están reportadas como variantes de significado incierto, ambas de origen paterno, utilizando bases de datos Varsome (26) y Franklin by Genoox (27) (ver Tabla 3). Consideramos que la posible causa de las anomalías morfológicas y funcionales aunado a la neuroregresión presentes en el paciente tenga un posible origen monogénico o multifactorial.

**Caso 004.**

En los resultados del estudio de microarreglos SNP (Affimetrix 750K) no se encontraron variantes en el número de copias clínicamente significativas, con un total de dos CNVs, ambas reportadas como benignas, siendo una variante poblacional (28) y la otra de origen materno, utilizando bases de datos Varsome (26) y Franklin by Genoox (27), (ver Tabla 4). Consideramos que la posible causa de las anomalías morfológicas y funcionales aunado a la neuroregresión presentes en la paciente tenga un posible origen monogénico o multifactorial.

**Caso 005.**

En los resultados del estudio de microarreglos SNP (Affimetrix 750K) no se encontraron variantes en el número de copias clínicamente significativas, con un total de tres CNVs. Dos reportadas como variantes de significado incierto, una con origen materno y la otra con origen paterno. Una variante clasificada como benigna, de origen paterno, utilizando bases de datos Varsome (26) y Franklin by Genoox (27) (ver Tabla 5). Consideramos que la posible causa de las anomalías morfológicas y funcionales aunado a la neuroregresión presentes en el paciente tenga un posible origen monogénico o multifactorial.

### **Caso 006.**

En los resultados del estudio de microarreglos SNP (Affimetrix 750K) no se encontraron variantes en el número de copias clínicamente significativas, con un total de dos CNVs reportadas. Una variante de significado incierto de origen materno y una variante benigna de origen paterno, utilizando bases de datos Varsome (26) y Franklin by Genoox (27), (ver Tabla 6). Consideramos que la posible causa de las anomalías morfológicas y funcionales aunado a la neuroregresión presentes en la paciente tenga un posible origen monogénico o multifactorial.

### **Caso 007.**

En los resultados del estudio de microarreglos SNP (Affimetrix 750K) no se encontraron variantes en el número de copias clínicamente significativas, con un total de cinco CNVs reportadas. Tres variantes fueron clasificadas como variantes de significado incierto, siendo una *de novo* y dos de origen paterno. Dos variantes fueron clasificadas como benignas, siendo una *de novo* y una variante poblacional (28), utilizando bases de datos Varsome (26) y Franklin by Genoox (27) (ver Tabla 7). Consideramos que la posible causa de las anomalías morfológicas y funcionales aunado a la neuroregresión presentes en la paciente tenga un posible origen monogénico o multifactorial.

### **Caso 008.**

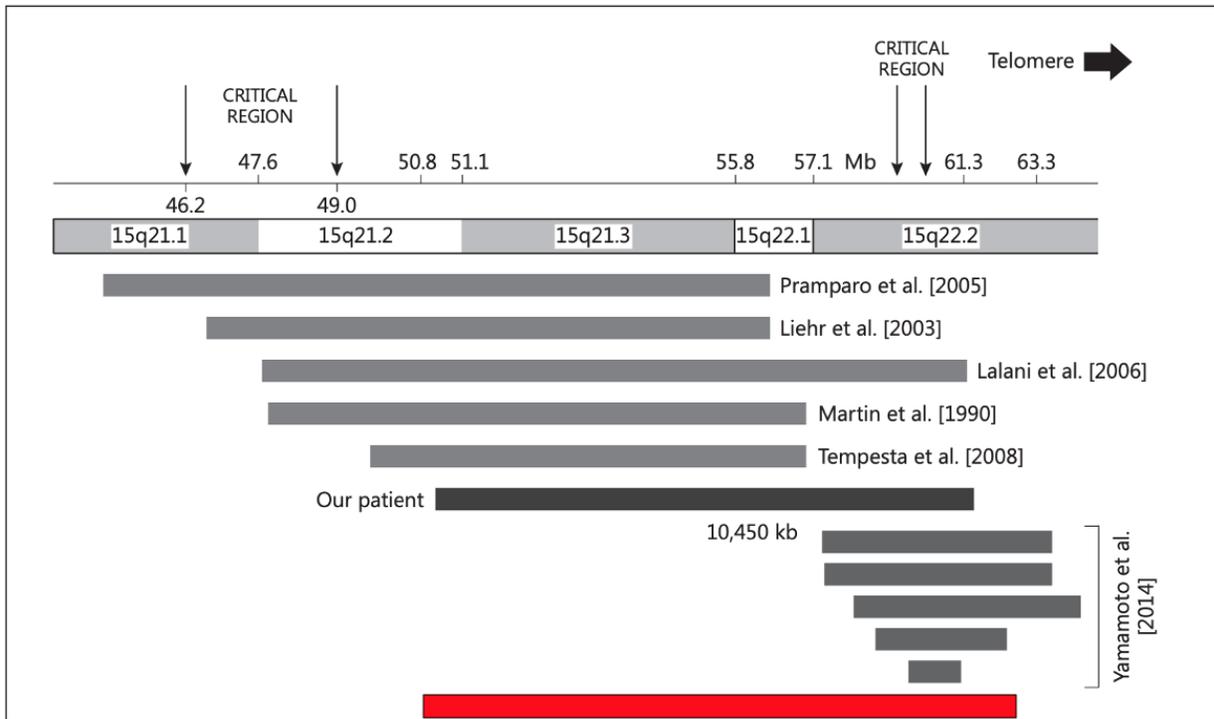
En los resultados del estudio de microarreglos SNP (Affimetrix 750K) se encontró una variante en el número de copias clínicamente significativa, clasificada como patogénica, una clasificada como variante benigna *de novo*, que es una variante poblacional y una de significado incierto de origen materno. La variante patogénica se reportó como una eliminación de 14,188kb (14.1 Mb) en 15q21.2q22.31 que incluyó a 76 genes. Los genes involucrados en la delección son *TRPM7*, *SPPL2A*, *AP4E1*, *TNFAIP8L3*, *CYP19A1*, *GLDN*, *DMXL2*, *SCG3*, *TMOD2*, *TMOD3*, *LEO1*, *MAPK6*, *BCL2L10*, *GNB5*, *MYO5C*, *MYO5A*, *ARPP19*, *ONECUT1*, *WDR72*, *UNC13C*, *RSL24D1*, *RAB27A*, *PIGBOS1*, *PIGB*, *CCPG1*, *PIERCE2*, *DNAAF4*, *PYGO1*, *PRTG*, *NEDD4*, *RFX7*, *MNS1*, *TCF12*, *CGNL1*, *MYZAP*, *POLR2M*, *ALDH1A2*, *AQP9*, *LIPC*, *ADAM10*, *MINDY2*, *RNF111*, *CCNB2*, *MYO1E*, *GCNT3*, *GTF2A2*, *BNIP2*, *FOXB1*, *ANXA2*, *ICE2*, *RORA*, *VPS13C*, *C2CD4A*,

*C2CD4B, TLN2, MIR190A, TPM1, LACTB, RPS27L, RAB8B, APH1B, CA12, USP3, FBXL22, HERC1, DAPK2, CIAO2A, SNX1, PPIB, CSNK1G1, PCLAF, TRIP4, ZNF609, OAZ2, RBPMS2, PIF1.* En la literatura se han reportado deleciones en este locus, como la descrita por Velázquez-Wong et al en 2014, en donde reportaron el caso de una paciente con una deleción *de novo* en 15q21q22 de 10.5 Mb. Algunas otras se describen en la Tabla 13. En la región de 15q21q22 se han descrito aproximadamente 24 genes asociados al desarrollo embrionario cerebral, plasticidad y otras funciones cerebrales como aprendizaje, lenguaje y memoria (29). Por otro lado, Yammamoto et al en 2014 reportaron una región determinante para discapacidad intelectual en 15q22 (30).

**Tabla 13.** Pacientes reportados en la literatura en base de datos DECIPHER, genoma de referencia GRCh38, con deleción mayor a 10Mb en 15q.

	Número DECIPHER	Locus	Inicio	Fin	Tamaño	Tipo	Origen parental
<b>Paciente 1</b>	#394319	15q14-q22.2	39720507	58920509	19.20Mb	Deleción	<i>De novo</i>
<b>Paciente 2</b>	# 397405	15q15.1-q21.3	42520510	52520511	10.0Mb	Deleción	<i>De novo</i>
<b>Paciente 3</b>	#965	15q21.1-q22.2	49604668	60167917	10.56Mb	Deleción	<i>De novo</i>
<b>Paciente 4</b>	#332881	15q21.1-q22.2	49424198	59851777	10.43Mb	Deleción	Se desconoce

En el análisis de los cuatro pacientes reportados en la tabla 13, todos presentaban discapacidad intelectual.



**Figura 11.** Representación esquemática de regiones críticas descritas para 15q21.1q21.2 y en 15q22.2 (29). En rojo se observa el caso MCM.008.22.

## DISCUSIÓN

Hasta el día de hoy, los conocimientos sobre el origen de la neuroregresión aunado a la presencia de anomalías congénitas son limitados, esto es debido a la gran complejidad de interacciones entre factores genéticos y ambientales. La importancia de realizar un diagnóstico preciso en los trastornos del neurodesarrollo nos permite establecer medidas preventivas y en su debido caso, terapias específicas que pudieran llegar a modificar la progresión de la enfermedad y mejorar la calidad de vida en algunos casos. En el presente estudio, mediante el análisis y la caracterización de variantes en el número de copias así como también la descripción de las características clínicas en un grupo de pacientes con neuroregresión, realizamos un primer abordaje clínico-molecular para de este modo intentar establecer el origen de estos hallazgos. Es por ello la importancia de contar con una definición establecida de neuroregresión para poder delimitar y establecer una edad promedio de inicio, con que otras anomalías morfológicas o funcionales se encuentra asociada, así poder establecer el impacto que puede llegar a

presentar cada individuo. En nuestro estudio incluimos a ocho pacientes y ambos progenitores, que acudieron a la consulta externa de Genética Médica en UMAE Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI que contaban con cariotipo normal y tenían antecedente de anomalías morfológicas y/o funcionales congénitas y neuroregresión.

Respecto a las características demográficas, la distribución por sexo fue la siguiente: ocho pacientes en total, seis (75%) fueron del sexo femenino, mientras que dos pacientes (25%) fueron del sexo masculino, la edad más temprana a la que se le brindó atención a un paciente con anomalías morfológicas y/o funcionales congénitas y neuroregresión fue de 10 meses y la edad máxima fue de 12 años. Se reportaron un total de 34 CNVs en todos los casos, siendo 20 (58.8%) clasificadas como variantes benignas, 13 (38.2%) como variantes de significado incierto y 1 (3%) como variante patogénica.

En el caso MCM.008.22 se observó un síndrome de microdelección 15q21.2q22.31, la región comprende una eliminación de 14,188 Kbp que incluyó a 76 genes OMIM. El mecanismo que por el cual se originó la variante patogénica fue por una delección *de novo*. Esto representa un 12.5% (1/8), similar al rendimiento diagnóstico reportado en la literatura para individuos con trastornos del desarrollo y discapacidad intelectual que varía de un 12-15% (23). Con esto, es posible confirmar la hipótesis establecida que la frecuencia de las CNVs probablemente patogénicas o patogénicas fue de al menos entre el 10-25% y la más frecuente fue por una delección. En un estudio realizado por Jin Sook Lee *et al* en 2018, realizaron microarreglos a 649 pacientes con discapacidad intelectual o retraso en el desarrollo y anomalías congénitas, en el cual encontraron que 110 pacientes presentaban una CNV patogénica, que incluían 100 delecciones y 31 duplicaciones de 270kb a 30Mb, con un rendimiento diagnóstico del 16.9% (31).

Las características clínicas más frecuentemente encontradas a la exploración física dismorfológica fueron: peso bajo en un 75%, talla baja en un 50%, microcefalia en un 25%, macrocefalia 12.5%, dolicocefalia 12.5%, frente amplia en un 50%, frente estrecha 50%, fisuras palpebrales largas 62.5%, telecanto 62.5%, hipertelorismo 87.5%, epicanto 50%, pestañas largas 75%, tendencia a apertura bucal 75%, bermellón superior en arco de cupido 50%, implantación baja de pabellones auriculares en un 100%,

macrotia 37.5%, micrognatia 12.5%, microdoncia 12.5%, prognatismo 12.5%, dedos ahusados 37.5%, clinodactilia 25%, tórax asimétrico 12.5%.

Las anomalías morfológicas más frecuentes fueron las malformaciones en SNC presentes en cinco casos, siendo la atrofia corticosubcortical la más frecuente en un 37.5%, seguido por hipoplasia de cuerpo calloso en un 12.5%. Un paciente presentó ambas malformaciones. Una paciente presentó cardiopatía congénita de tipo persistencia de conducto arterioso.

En cuanto a las anomalías funcionales, la neuroregresión se encontraba presente en todos los pacientes, siendo que un 62.5% presentó neuroregresión de lenguaje y un 62.5% presentó neuroregresión motora. Solo un caso (MCM.003.22) presentó tanto regresión motora como de lenguaje. De los ocho pacientes, seis presentaban epilepsia (75%) y solo un paciente presento hipoacusia.

Otro de los hallazgos encontrados en este estudio fueron las variantes (CNVs) poblaciones en 8p11.22 y en 14q32.33, estas variantes no tienen influencia aparente en el fenotipo de los pacientes. En una cohorte de 147 individuos Mexicanos-Mestizos, estudiada por Sánchez *et al* en 2023 (28), reportaron que la frecuencia de estas CNVs en 8p11.22 fue del 54.5% y de 14q32.33 estuvo presente en un 100%. Por otro lado, en nuestro estudio, llamó la atención la presencia de CNVs en 6p25.3 en cinco de los casos, compartidas con alguno de los progenitores.

En el 2010, el Colegio Americano de Genética Médica estableció considerar el estudio de microarreglos como prueba diagnóstica de primera línea para individuos con anomalías congénitas y discapacidad intelectual/trastornos del desarrollo. Esta recomendación incluye trastorno de espectro autista y otros tipos de retrasos del desarrollo (32). Como podemos ver, estas recomendaciones no incluyen a la neuroregresión, es por ello que en nuestro estudio intentamos caracterizar el origen de la neuroregresión mediante el uso de esta misma metodología. Debe tenerse en cuenta que la no detección de una CNV en cualquier locus no excluye el diagnóstico de una condición asociada a ese locus. Por lo que recomienda realizar otro estudio molecular para descartar causas de origen monogénico. Una reducción significativa en el costo de la secuenciación de nueva generación (NGS) ha llevado al uso generalizado de la secuenciación del genoma o del exoma completo basada en tríos para identificar

variantes causales en pacientes con discapacidad intelectual y trastornos del neurodesarrollo y el rendimiento diagnóstico es mayor comparado con el de microarreglos (33). El rendimiento diagnóstico de la secuenciación de exoma completo (WES por sus siglas en inglés) varía desde un 30-50% en pacientes con retraso del neurodesarrollo y discapacidad intelectual leve a grave (34), lo que convierte a WES en una herramienta diagnóstica para establecer un diagnóstico molecular en individuos con trastornos del neurodesarrollo y discapacidad intelectual. En un estudio realizado por Seo *et al* en 2022, mostró que el rendimiento diagnóstico de la secuenciación de exoma completo en individuos con retraso del neurodesarrollo y fenotipo variable fue del 41% (33). A pesar de que hoy en día se utilizan este tipo de estudio molecular para establecer un diagnóstico en individuos con trastornos del neurodesarrollo, solo un tercio de los pacientes logran un diagnóstico definitivo, lo que conlleva a un impacto considerable en cuanto a la incertidumbre diagnóstica. Es por ello que en 2023, la Revista Europea de Genética Humana publicó acerca del rendimiento diagnóstico por medio de secuenciación de genoma completo como prueba de primera línea en individuos con trastornos del neurodesarrollo; van der Sanden *et al* estudiaron 150 tríos de pacientes con trastornos del neurodesarrollo que en paralelo realizaron secuenciación de exoma y genoma completo, en el cual concluyeron que la secuenciación de genoma completo no da lugar a un rendimiento diagnóstico significativamente mayor (30,0%) que por medio de secuenciación de exoma completo (28,7%) (35).

Como podemos observar, estos estudios están enfocados principalmente en trastornos del neurodesarrollo que incluyen a la discapacidad intelectual o trastorno del espectro autista, pero ningún estudio en específico incluye a la neuroregresión aunado a la presencia de anomalías congénitas. Para poder resolver este rompecabezas del origen de la neuroregresión, son necesarios esfuerzos interdisciplinarios a largo plazo para definir la pérdida de habilidades, funciones y capacidades adquiridas antes y después de su aparición (36). Debido a esto, la neuroregresión debe ser tomada como una señal importante de alarma en el desarrollo de cualquier niño y debe ser reconocida a tiempo así como también debe identificarse la co-ocurrencia con otras condiciones como son epilepsia, características dismórficas y trastorno de espectro autista. Desde el punto de vista de la incertidumbre del origen de la neuroregresión, nos habla de un

problema que implica el no poder establecer un diagnóstico definitivo, el cual nos limita como médicos especialistas en Genética en muchos aspectos de la atención del paciente y de la familia. Es por ello de la importancia de contar con médicos genetistas como parte integral del abordaje multidisciplinario, ya que son aquellos que cuentan con la capacidad de determinar que estudio ya sea de citogenética o moleculares es el indicado, para de este modo mejorar la calidad de atención en el paciente. Esto también se vería reflejado en la atención especializada y personalizada y en la comunicación de riesgos para la toma de decisiones de manera informada.

## CONCLUSIÓN

- La neuroregresión es un fenómeno complejo, que puede estar presente de manera aislada o encontrarse asociada a otras entidades sindrómicas.
- En los sistemas de salud público en todo el país existe una falta de accesibilidad en cuanto a la realización de estudios moleculares, el cual es fundamental y de gran utilidad para establecer un diagnóstico e incrementar la calidad de atención en los pacientes.
- Los trastornos del neurodesarrollo son un motivo de consulta frecuente en edades pediátricas, por lo que es indispensable contar con la atención de médicos genetistas, para que de este modo se realice un abordaje integral y se realice la toma de decisiones sobre cual es el estudio ideal para el paciente y con base a ello, brindar un asesoramiento genético informado.
- Se logró identificar en una paciente una CNV patogénica *de novo* por delección de 14,118kpb que incluyó 76 genes OMIM.
- El mecanismo más frecuente fue por una delección, en un 12.5%, que confirma la hipótesis previamente mencionada.
- Se identificaron variantes poblaciones previamente descritas las cuales fueron 8p11.22 y 14q32.33 en cinco casos.
- Para los casos 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007 se debe considerar un posible origen monogénico o multifactorial.

- Con base a este estudio, el rendimiento diagnóstico de microarreglos para neuroregresión y anomalías congénitas fue del 12.5%.
- Se deben considerar otros estudios moleculares, por ejemplo secuenciación de exoma o genoma completo para trastornos del neurodesarrollo, dentro de los cuales se incluya la neuroregresión.

## **LIMITACIONES**

La principal limitación de este estudio fue el tamaño de la muestra, esto fue debido al recurso limitado para la realización de microarreglos, sin embargo se logró obtener un resultado significativo.

## **PERSPECTIVAS A FUTURO**

Se espera que con el presente trabajo se pueda concientizar a toda la comunidad médica sobre la participación de un médico genetista en la atención integral del paciente con trastornos del neurodesarrollo y anomalías congénitas. Con los resultados obtenidos, se espera que se cuente con la disponibilidad de realizar estudios moleculares para poder identificar el origen de la neuroregresión y la presencia de anomalías congénitas, para que de este modo se brinde un asesoramiento genético informado para el paciente y sus familiares. Se espera que en futuras investigaciones se pueda proponer un algoritmo diagnóstico para la identificación de datos clínicos de neuroregresión y anomalías congénitas y su posible origen molecular.

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Patel ZM, Adhia RA. Birth defects surveillance study. *The Indian Journal of Pediatrics*. 2005 Jun;72(6):489–91.
2. Hennekam RC, Biesecker LG, Allanson JE, Hall JG, Opitz JM, Temple IK, et al. Elements of morphology: General terms for congenital anomalies. *Am J Med Genet A*. 2013 Nov;161(11):2726–33.
3. Arsham MS, Barch MJ, Lawce HJ. *The AGT cytogenetics laboratory manual*. [cited 2023 May 1]; Available from: <https://www.wiley.com/en->

- us/The+AGT+Cytogenetics+Laboratory+Manual%2C+4th+Edition-p-9781119061229
4. Zhang D, Bedogni F, Boterberg S, Camfield C, Camfield P, Charman T, et al. Towards a consensus on developmental regression. *Neurosci Biobehav Rev* [Internet]. 2019 Dec 1 [cited 2023 May 1];107:3–5. Available from: <https://air.unimi.it/handle/2434/685723>
  5. Boterberg S, Charman T, Marschik PB, Bölte S, Roeyers H. Regression in autism spectrum disorder: A critical overview of retrospective findings and recommendations for future research. *Neurosci Biobehav Rev* [Internet]. 2019 Jul 1 [cited 2023 May 1];102:24–55. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30917924/>
  6. Firth H V., Hurst JA. Oxford Desk Reference: Clinical Genetics and Genomics. *Clinical Genetics and Genomics (Oxford Desk Reference)* [Internet]. 2017 Aug [cited 2023 May 2]; Available from: <https://academic.oup.com/book/32723>
  7. Castillo Ruiz V del., Uranga Hernández RDulijh, Zafrá de la Rosa GFrancisco. *Genética clínica (2a. ed.)*. 2019 [cited 2023 May 2];672. Available from: [https://books.google.com/books/about/Gen%C3%A9tica\\_cl%C3%ADnica.html?id=Z6Z8DwAAQBAJ](https://books.google.com/books/about/Gen%C3%A9tica_cl%C3%ADnica.html?id=Z6Z8DwAAQBAJ)
  8. Heller. über Dementia infantilis: Verblodungsprozes. 1908;2(1908):17–28.
  9. Barger BD, Campbell JM, McDonough JD. Prevalence and Onset of Regression within Autism Spectrum Disorders: A Meta-analytic Review. *J Autism Dev Disord*. 2013 Apr 2;43(4):817–28.
  10. Backer NB Al. Developmental regression in autism spectrum disorder. *Sudan J Paediatr* [Internet]. 2015 [cited 2023 May 1];15(1):21. Available from: </pmc/articles/PMC4949854/>
  11. Acosta M. Caracterización de las anomalías morfológicas congénitas en una serie de casos con retraso global del desarrollo y variantes en el número de copias (CNVs) de la UMAE Hospital de Pediatría, CMN Siglo XXI, IMSS. 2018;
  12. Carlos Huicochea-Montiel J, Cárdenas-Conejo A, Cervantes-Díaz MT, Antonieta M, Araújo-Solís J. Una reflexión sobre la incertidumbre en el asesoramiento genético. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*. 2015 May 15;53(S3):230–5.
  13. Resta R, Biesecker BB, Bennett RL, Blum S, Hahn SE, Strecker MN, et al. A New Definition of Genetic Counseling: National Society of Genetic Counselors' Task Force Report. *J Genet Couns* [Internet]. 2006 Apr 1 [cited 2023 May 3];15(2):77–83. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1007/s10897-005-9014-3>
  14. Clarke A, Murray A, Sampson J. Harper's Practical Genetic Counselling: Eighth Edition. *Harper's Practical Genetic Counselling: Eighth Edition* [Internet]. 2019 Jan 1 [cited 2023 May 3];1–532. Available from: <https://www.taylorfrancis.com/books/mono/10.1201/9780367371944/harper-practical-genetic-counselling-eighth-edition-angus-clarke>
  15. Silva M, de Leeuw N, Mann K, Schuring-Blom H, Morgan S, Giardino D, et al. European guidelines for constitutional cytogenomic analysis. *European Journal of Human Genetics*. 2019 Jan 1;27(1):1–16.
  16. Esparza-García E, Cárdenas-Conejo A, Carlos Huicochea-Montiel J, Araújo-Solís MA. Cromosomas, cromosomopatías y su diagnóstico. Instituto Mexicano del

- Seguro Social, México [Internet]. 2017 [cited 2023 May 1];84(1):30–9. Available from: [www.medigraphic.org.mx](http://www.medigraphic.org.mx)
17. McGowan-Jordan J, Hastings RJ, Moore S, editors. ISCN 2020. S. Karger AG; 2020.
  18. Kearney HM, Thorland EC, Brown KK, Quintero-Rivera F, South ST. American College of Medical Genetics standards and guidelines for interpretation and reporting of postnatal constitutional copy number variants. *Genet Med* [Internet]. 2011 Jul [cited 2023 May 1];13(7):680–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21681106/>
  19. Gurbich TA, Ilinsky VV. ClassifyCNV: a tool for clinical annotation of copy-number variants. *Scientific Reports* 2020 10:1 [Internet]. 2020 Nov 23 [cited 2023 May 1];10(1):1–7. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-020-76425-3>
  20. Riggs ER, Andersen EF, Cherry AM, Kantarci S, Kearney H, Patel A, et al. Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen). *Genet Med* [Internet]. 2020 Feb 1 [cited 2023 May 1];22(2):245–57. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31690835/>
  21. South ST, Lee C, Lamb AN, Higgins AW, Kearney HM. ACMG Standards and Guidelines for constitutional cytogenomic microarray analysis, including postnatal and prenatal applications: revision 2013. *Genetics in Medicine*. 2013 Nov;15(11):901–9.
  22. Levy B, Burnside RD. Are all chromosome microarrays the same? What clinicians need to know. *Prenat Diagn*. 2019 Feb;39(3):157–64.
  23. Miller DT, Adam MP, Aradhya S, Biasecker LG, Brothman AR, Carter NP, et al. Consensus Statement: Chromosomal Microarray Is a First-Tier Clinical Diagnostic Test for Individuals with Developmental Disabilities or Congenital Anomalies. *Am J Hum Genet* [Internet]. 2010 May 5 [cited 2023 May 3];86(5):749. Available from: [/pmc/articles/PMC2869000/](http://pmc/articles/PMC2869000/)
  24. Boterberg S, Van Coster R, Roeyers H. Characteristics, Early Development and Outcome of Parent-Reported Regression in Autism Spectrum Disorder. *J Autism Dev Disord*. 2019 Nov 28;49(11):4603–25.
  25. Wang R, Lei T, Fu F, Li R, Jing X, Yang X, et al. Application of chromosome microarray analysis in patients with unexplained developmental delay/intellectual disability in South China. *Pediatr Neonatol*. 2019 Feb;60(1):35–42.
  26. Kopanos C, Tsiolkas V, Kouris A, Chapple CE, Albarca Aguilera M, Meyer R, et al. VarSome: the human genomic variant search engine. *Bioinformatics*. 2019 Jun 1;35(11):1978–80.
  27. Franklin by Genoox, <https://franklin.genoox.com>.
  28. Sánchez S, Juárez U, Domínguez J, Molina B, Barrientos R, Martínez-Hernández A, et al. Frequent copy number variants in a cohort of Mexican-Mestizo individuals. *Mol Cytogenet*. 2023 Jan 12;16(1):2.
  29. Velázquez-Wong AC, Ruiz Esparza-Garrido R, Velázquez-Flores MÁ, Huicochea-Montiel JC, Cárdenas-Conejo A, Miguez-Muñoz CP, et al. Clinical and Molecular Characterization of a Patient with 15q21.2q22.2 Deletion Syndrome. *Cytogenet Genome Res*. 2014;144(3):183–9.

30. Yamamoto T, Mencarelli MA, Di Marco C, Mucciolo M, Vascotto M, Balestri P, et al. Overlapping microdeletions involving 15q22.2 narrow the critical region for intellectual disability to NARG2 and RORA. *Eur J Med Genet*. 2014 Mar;57(4):163–8.
31. Lee JS, Hwang H, Kim SY, Kim KJ, Choi JS, Woo MJ, et al. Chromosomal Microarray With Clinical Diagnostic Utility in Children With Developmental Delay or Intellectual Disability. *Ann Lab Med*. 2018 Sep 28;38(5):473–80.
32. Manning M, Hudgins L. Array-based technology and recommendations for utilization in medical genetics practice for detection of chromosomal abnormalities. *Genetics in Medicine*. 2010 Nov;12(11):742–5.
33. Seo GH, Lee H, Lee J, Han H, Cho YK, Kim M, et al. Diagnostic performance of automated, streamlined, daily updated exome analysis in patients with neurodevelopmental delay. *Molecular Medicine*. 2022 Dec 26;28(1):38.
34. Clark MM, Stark Z, Farnaes L, Tan TY, White SM, Dimmock D, et al. Meta-analysis of the diagnostic and clinical utility of genome and exome sequencing and chromosomal microarray in children with suspected genetic diseases. *NPJ Genom Med*. 2018 Jul 9;3(1):16.
35. van der Sanden BPGH, Schobers G, Corominas Galbany J, Koolen DA, Sinnema M, van Reeuwijk J, et al. The performance of genome sequencing as a first-tier test for neurodevelopmental disorders. *European Journal of Human Genetics*. 2023 Jan 16;31(1):81–8.
36. Zhang D, Bedogni F, Boterberg S, Camfield C, Camfield P, Charman T, et al. Towards a consensus on developmental regression. *Neurosci Biobehav Rev*. 2019 Dec;107:3–5.

## ANEXO 1. DICTAMEN ENMIENDA



DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS  
Unidad de Educación, Investigación y Políticas de Salud  
Coordinación de Investigación en Salud

### Enmienda de Inclusión de Alumna "Aprobada"

Ciudad de México, a 14 de octubre de 2021

Dra. Haydeé Rosas Vargas  
Investigador Responsable  
Unidad de Investigación Médica en Genética Humana  
Presente

En relación al protocolo con título: "ESTUDIO GENÓMICO EN NIÑOS MEXICANOS CON MALFORMACIONES CONGÉNITAS MÚLTIPLES" con folio: F-CNIC-2016-036 y número de registro: R-2016-785-044, el Comité de Ética en Investigación CONBIOÉTICA 09 CEI-00920160601 y el Comité de Investigación COFEPRIS 17 CI 09 015 006, revisaron esta solicitud y "Aprobaron" la enmienda relativa a la inclusión de la alumna - residente de la Especialidad de Genética Humana, la Dra. Celia Eliana Martínez Ramírez.

Sin otro particular, reciba un cordial saludo.

Atentamente,

Atentamente,

Dr. José Ramón Paniagua Sierra  
Presidente del Comité de Investigación  
Coordinación de Investigación en Salud  
Centro Médico Nacional Siglo XXI  
No. Registro COFEPRIS CI: 17 CI 09 015 006

Dr. Marcos Gutiérrez de la Barrera  
Presidente del Comité de Ética en Investigación  
Coordinación de Investigación en Salud  
Centro Médico Nacional Siglo XXI  
No. Registro CONBIOÉTICA: 09 CEI 00920160601

SNN/  
F-CNIC-2016-036

**ANEXO 2. CARTAS DE CONSENTIMIENTO DEL PROTOCOLO: “Estudio genómico en niños mexicanos con malformaciones congénitas múltiples” con número de registro: R-2016-785-04**



**UMAE Hospital de Pediatría  
“Dr. Silvestre Frenk Freund”  
CMN Siglo XXI, IMSS  
CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO  
(Menores de edad)**

**Nombre del estudio:** Estudio genómico en niños mexicanos con malformaciones congénitas múltiples.

**Número de registro CNIC:** R-2016-785-044

**Lugar y fecha:** Ciudad de México, a \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 201\_\_

Por medio de la presente carta invitamos a su hijo(a) a participar en el protocolo de investigación titulado “Estudio genómico en niños mexicanos con malformaciones congénitas múltiples”, a través del cual buscaremos las causas hereditarias de las malformaciones al nacimiento que presentan pacientes como su niño(a).

**Justificación y objetivo del estudio:** Las malformaciones que se presentan al nacimiento también conocidas como congénitas afectan la calidad de vida del paciente y sus familias. Muchos de estos casos, se deben a cambios en la información hereditaria que proviene del papá y la mamá. No podemos saber a simple vista cuáles son estos cambios, por lo que hay que estudiar el material hereditario de una muestra de sangre tanto del paciente como de sus padres. Cuando se logran identificar esos cambios, los médicos especialistas que son los genetistas pueden ofrecerle opciones para un tratamiento más adecuado para su hijo(a),

**Procedimientos:** En caso de que usted acepte que a su niño(a) se le incluya en este estudio se le realizará una evaluación clínica por el genetista y a usted se le preguntarán algunos otros datos que complementen la información necesaria. A su niño(a) le tomaremos una muestra de sangre de su brazo de aproximadamente 3 ml (una cucharada) para obtener el material hereditario con el que se harán las pruebas de laboratorio.

**Posibles riesgos y molestias:** Los riesgos y molestias para su hijo(a) por su participación en este estudio podrían ser un ligero dolor al momento de tomar la sangre de la vena y la aparición de un moretón después de la toma. En caso de no obtener material de calidad para la realización de los análisis propuestos se tomará nuevamente la muestra, si usted está de acuerdo y lo autoriza.

**Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio:** El conocimiento del resultado ayudará a informarles de manera más completa acerca de la presencia o ausencia de cambios hereditarios asociados a la enfermedad de su hijo(a).

**Información sobre resultados y alternativas de tratamiento:** Una vez que se tenga el resultado de los estudios, el médico genetista les informará de la interpretación clínica y se les proporcionará consejo genético en el que se les explique con el mayor detalle posible cuál es la causa de la enfermedad y las posibilidades de que se presente en un nuevo embarazo. Es importante tomar en cuenta que también que las decisiones que tomen a partir de esta información son completamente libres y personales. En todo caso se seguirá dando la atención más adecuada para su hijo(a), y si el médico genetista lo considera necesario, solicitará consulta adicional con algún otro especialista.

**Participación o retiro:** Usted conserva el derecho de cancelar la participación de su hijo(a) del estudio en cualquier momento que lo considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que recibe en el IMSS.

**Privacidad y confidencialidad:** El investigador principal asegura que no se identificará a su hijo(a) en las presentaciones o publicaciones que resulten de este estudio, y de que los datos relacionados con su privacidad serán manejados en forma confidencial. También se compromete a resguardar el material hereditario de manera segura y bajo un código, de tal forma que únicamente los investigadores participantes puedan identificarla.

Habiendo recibido una explicación completa y satisfactoria de toda la información y procedimientos aquí mencionados, y habiendo resuelto todas nuestras dudas declaramos que:

- Sí autorizamos que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros.
- Sí autorizamos que se tome la muestra sólo para este estudio.
- No autorizamos que se tome la muestra.

En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio podrán dirigirse a: el número telefónico 56 27 69 41 con la Dra. Haydeé Rosas Vargas o con la Dra. Ma. Antonieta Araujo Solís de 8:00 a 16:00 hrs. en la Unidad de Investigación Médica en Genética Humana, ubicada en el 2o. piso de la UMAE Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS, en Av. Cuauhtémoc 330 Colonia Doctores, Ciudad de México.

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrán dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4° piso Bloque "B" de la Unidad de Congresos, Colonia Doctores. México, D.F., CP 06720. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico: comiteeticainv@gmail.com

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

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

\_\_\_\_\_  
Nombre, dirección, relación y firma  
Testigo 1

\_\_\_\_\_  
Nombre, dirección, relación y firma  
Testigo 2



**UMAE Hospital de Pediatría  
“Dr. Silvestre Frenk Freund”  
CMN Siglo XXI, IMSS  
CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO  
(Adulto, madre/padre del menor)**

**Nombre del estudio:** Estudio genómico en niños mexicanos con malformaciones congénitas múltiples.

**Número de registro CNIC:** R-2016-785-044

**Lugar y fecha:** Ciudad de México, a \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 201\_\_

Por medio de la presente carta les invitamos a participar en el protocolo de investigación titulado “Estudio genómico en niños mexicanos con malformaciones congénitas múltiples”, a través del cual buscaremos las causas hereditarias de las malformaciones al nacimiento que presentan pacientes como su niño(a).

**Justificación y objetivo del estudio:** Las malformaciones que se presentan al nacimiento también conocidas como congénitas afectan la calidad de vida del paciente y sus familias. Muchos de estos casos, se deben a cambios en la información hereditaria que proviene del papá y la mamá. No podemos saber a simple vista cuáles son estos cambios, por lo que hay que estudiar el material hereditario de una muestra de sangre tanto del paciente como de sus padres. Cuando se logran identificar esos cambios, los médicos especialistas que son los genetistas pueden ofrecerle un consejo genético adecuado para que puedan planear futuros embarazos de manera informada.

**Procedimientos:** Si ustedes aceptan participar, se les realizará la evaluación clínica por el genetista y se les preguntarán algunos otros datos que complementen la información necesaria. A ustedes, papá y mamá del paciente se les tomará una muestra de sangre del brazo de aproximadamente 5 ml (dos cucharadas) para obtener el material hereditario con el que se realizarán las pruebas de laboratorio.

**Posibles riesgos y molestias:** Los riesgos y molestias por su participación en el estudio podrían ser un leve dolor en el momento de tomar la sangre de la vena, y la aparición de un moretón después de la toma. En caso de no obtener material de calidad para la realización de los análisis propuestos se tomará nuevamente la muestra, si ustedes están de acuerdo y lo autorizan.

**Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio:** El conocimiento del resultado ayudará a informarles de manera más completa acerca de la presencia o ausencia de cambios hereditarios asociados a la enfermedad de su hijo(a) y al riesgo de que el padecimiento se presente en otro hijo(a) en un nuevo embarazo.

**Información sobre resultados y alternativas de tratamiento:** Una vez que se tenga el resultado de los estudios, el médico genetista les informará de la interpretación clínica y se les proporcionará consejo genético en el que se les explique con el mayor detalle posible cuál es la causa de la enfermedad y las posibilidades de que se presente en un nuevo embarazo. Es importante tomar en cuenta que también que las decisiones que tomen a partir de esta información son completamente libres y personales. En todo caso se seguirá dando la atención más adecuada para su hijo(a), y si el médico genetista lo considera necesario, solicitará consulta adicional con algún otro especialista.

**Participación o retiro:** Ustedes conservan el derecho de retirarse del estudio en cualquier momento sin que ello afecte la atención que su hijo(a) o ustedes mismos reciben en el IMSS.

**Privacidad y confidencialidad:** El investigador principal asegura que no se les identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y de que los datos relacionados con su privacidad serán manejados en forma confidencial o secreta. El investigador también se compromete a guardar las muestras del material hereditario de manera segura y bajo un código de manera que únicamente los investigadores participantes puedan identificarlas.

Habiendo recibido una explicación completa y satisfactoria de toda la información y procedimientos aquí mencionados, declaramos que:

- Sí autorizamos que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros.
- Sí autorizamos que se tome la muestra sólo para este estudio.
- No autorizamos para que se tome la muestra.

En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio podrán dirigirse al número telefónico 56 27 69 41 con la Dra. Haydeé Rosas Vargas o con la Dra. Ma. Antonieta Araujo Solís de 8:00 a 16:00 hrs. en la Unidad de Investigación Médica en Genética Humana, ubicada en el 2o. piso de la UMAE Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS, en Av. Cuauhtémoc 330 Colonia Doctores, Ciudad de México.

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participantes podrán dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4° piso Bloque "B" de la Unidad de Congresos, Colonia Doctores. México, D.F., CP 06720. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico: comiteeticainv@gmail.com

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del participante  
Madre

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del participante  
Padre

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

\_\_\_\_\_  
Testigo 1  
Nombre, dirección, relación y firma

\_\_\_\_\_  
Testigo 2  
Nombre, dirección, relación y firma

## ANEXO 3. HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
 UMAE HOSPITAL DE PEDIATRÍA SILVESTRE FRENK FREUND  
 CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI  
 Departamento Clínico de Genética Médica

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS DEL PROTOCOLO  
**Frecuencia y caracterización clínico-molecular de las variantes en el número de copias (CNVs) en una serie de pacientes con neuroregresión y anomalías morfológicas congénitas de la UMAE Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI**

Enmienda de protocolo "Estudio genómico en niños mexicanos con malformaciones congénitas múltiples" con número de registro: **R-2016-785-044**.

### 1. DATOS DE IDENTIFICACIÓN

Folio:	NSS:
Nombre del paciente:	
Edad:	Sexo:
Nombre de la madre:	Edad:
Nombre del padre:	Edad:
<b>DIRECCIÓN:</b>	
Calle:	
Colonia:	Municipio:
Entidad federativa:	CP:
Teléfono:	
Teléfono celular:	

### 2. HISTORIA FAMILIAR

<b>ESTADO DE SALUD DE LOS PROGENITORES.</b>		
Estado de salud de la madre:	Estado de salud del padre:	
Antecedentes familiares de alteraciones Morfológicas (M) y/o Discapacidad intelectual (D).		
Sí	No	Especifique parentesco

## ANTECEDENTES PERINATALES.

<b>DATOS AL NACIMIENTO.</b>				
Modo de nacimiento	Parto vaginal		Cesárea (motivo):	Duración de la gestación:
	Sí	No		
Peso al nacer (score z):		Talla al nacer (score z):		
Perímetro cefálico (score z):		Apgar/dificultad respiratoria / (sí) (no)		
Talla materna (cm):				
Peso materno.	Previo al embarazo:		Al término :	
<b>EXPOSICIÓN GESTACIONAL.</b>			Edad gestacional a la exposición.	
Radiación ionizante	Si	No		Tipo y N° de estudios
Diabetes pregestacional.	Si	No		Resultados de laboratorio:
Diabetes Gestacional	Si	No		Resultados de laboratorio:
Trombosis materna	Si	No		
Uso de drogas	Si	No		Cuáles
Uso de medicamentos	Si	No		Cuáles
Oligohidramnios	Si	No		
Bandas amnióticas	Si	No		
Exposición a agentes biológicos	Si	No		Cuáles:
Otras complicaciones maternas:				
Si se realizaron ultrasonidos obstétricos ¿en alguno se detectó alguna anomalía morfológica?				

Cuáles	Edad gestacional:
--------	-------------------

<b>3. VALORACIÓN DEL NEURODESARROLLO.</b>	
Retraso global del desarrollo	Discapacidad intelectual:

<b>4. EXPLORACION FISICA</b>					
Peso:		score z:		Talla:	
				score z:	
Perímetro cefálico:			score z		
<b>Cráneo.</b>					
Microcefalia: Sí		No		Macrocefalia: Sí	
				No	
Forma del cráneo.		Aspecto de suturas.		Longitud de fontanelas	
<b>Cabello:</b> Implantación general		Implantación Anterior y Posterior		Consistencia anormal Descripción	
<b>Cara:</b> Forma de la cara.			perfil facial		
Frente: Amplia		Estrecha		Otra	
Cejas: Posición		Densidad capilar		Sinofridia	
<b>Ojos.</b>					
Fisuras palpebrales Horizontales		Hacia arriba		Hacia abajo	
Longitud fisura palpebral derecha:			Longitud de fisura palpebral izquierda:		
Distancia intercantal interna: Desviaciones estándar		Distancia interpupilar: Desviaciones estándar:		Distancia intercantal externa: Desviaciones estándar:	
Epicanto		Aspecto del iris			
Pestañas: Longitud		Densidad capilar		Distiquiasis	
				Sí No	
Puente nasal: amplio		deprimido		prominente	
				alto	
<b>Nariz.</b> Forma					
Base:		Punta		Alas nasales:	
				Narinas:	
				Columnela:	
<b>Boca</b>					
Longitud:		Labios: posición		grosor	
Filtrum:		Borde Bermellón:		Hendido:	
<b>Cavidad oral</b>					
Paladar: Alto		Angosto		Hendido:	

Dientes: Número de piezas	forma	posición	esmalte
Lengua: Tamaño y posición	Aspecto		Lobulación
Oclusión dental: mucosa oral, frenillos, borde alveolar			
<b>Maxilar</b> Hipoplasia mediofacial			
<b>Mandíbula</b> Micrognatia	Retrognatia	Prognatismo	Mentón
<b>Orejas:</b>			
Implantación	Rotación	Longitud desviación estándar	
Fosetas Surcos	Apéndices auriculares	Fístulas:	
Microtias tipo:			
Hélix	Antihélix	Trago y antitrigo	
Concha	Conducto auditivo externo		
<b>Cuello:</b> Longitud	Piel redundante	Otra alteración:	
<b>Tórax:</b> Forma y simetría		Pezones posición y número	
<b>Abdomen:</b> forma		Pared anterior y cicatriz umbilical	
Visceromegalias			
<b>Genitales externos:</b> Apariencia	mediciones	conducto inguinal.	
<b>Extremidades superiores:</b> Acortamiento: segmento			
Hiperlaxitud articular	articulación	Limitación articular	articulación
Cubitus valgus		Otro	
<b>Manos:</b> longitud total	Palma	3º dedo	3ºdedo/total mano
Pliegues palmares	Región tenar	Región hipotenar	
Pliegues palmares	Sindactilia (sí) (no) descripción:	Clinodactilia (sí) (no)	
Oligodactilia (sí) (no)	Polidactilia (sí) (no) Tipo:	Mano hendida	
Primer dedo			
Uñas:			

Defectos de reducción:		
Braquidactilia (si) (no)	Dedos ahusados:	
<b>Extremidades inferiores:</b> Acortamiento: segmento		
Cadera:	Rótulas	
Hiperlaxitud articular (si) (no) Articulación: Puntaje de Beighton:	Limitación articular (si) (no) Articulación:	
Pie derecho. Longitud: score z:	Pie izquierdo. Longitud: score z:	
Pie izquierdo. Longitud: score z:		
Pie izquierdo. Longitud: score z:		
Pie izquierdo. Longitud: score z:		
Pie izquierdo. Longitud: score z:		
Pie izquierdo. Longitud: score z:		
Defectos de reducción		
Sobre posición de dedos:	Separación primer y segundo dedos	
Uñas:		
Otros		
<b>Dorso:</b> Escoliosis	Cifosis	Fosetas
<b>Piel:</b>		
Situación del ano.		
Otro:		
Características de las uñas.		
RX Normal Hallazgos		
TAC Normal Hallazgos		
USG Normal Hallazgos		
Estudios neurofisiológicos.		
OTRO		

#### **ANEXO 4. EXTRACCIÓN DE DNA DE SANGRE PERIFÉRICA**

1. Centrifugar muestra a 2500 rpm por 15 segundos
2. Retirar sobrenadante (queda paquete leucocitario y glóbulos rojos)

#### **Proceso para extracción**

1. Agregar RBC Lysis Solution 3X a un tubo de 15ml

2. Agregar 1X de botón leucocitario (el volumen de RBC depende del volumen del botón leucocitario).
3. Mezclar por inversión durante 15 segundos y verificar que la solución se observe transparente, no viscosa. En caso de que no se observe así, esperar otros 15 segundos y homogenizar.
4. Incubar a temperatura ambiente durante 10 minutos
5. Centrifugar durante 5 minutos a 2000 rpm
  - a. Está lista cuando no se observa viscosa y sin espuma (transparente), si no se observa así, repetir incubación por 10 minutos.

### **Lisis de blancos + RNAsa**

6. Retirar sobrenadante y tener cuidado de no retirar el botón
7. Mezclar utilizando vortex vigorosamente para resuspender el botón en el líquido residual
8. Agregar 5ml de solución de lisis celular (Cell Lysis Solution) y mezclar vigorosamente para lisar las células.
9. Agregar 15 µl RNAsa
10. Mezcla por inmersión por lo menos 25 veces
11. Incubar a 37°C durante 15 minutos
12. Posteriormente, colocar en hielo durante 3 minutos.
13. Agregar 1 ml de solución precipitadora de proteínas y mezclar en vortex por lo menos 20 segundos.
14. Centrifugar a 2000 rpm por 5 minutos
15. Adicionar 3ml de isopropanol en un tubo limpio de 15 ml y agregar el sobrenadante del paso previo, con cuidado de no retirar el botón.
16. Mezclar por inversión 50 veces
17. Centrifugar a 2000 rpm durante 3 minutos
18. Con cuidado, retirar el sobrenadante. Drenar el tubo, colocándolo boca abajo sobre un papel absorbente, cuidando que el botón se mantenga en el tubo.
19. Adicionar 3 mL de etanol al 70% e invierte varias veces para lavar el botón de DNA.
20. Centrifugar a 2000 rpm durante un minuto

21. Con cuidado, retirar el sobrenadante. Drenar el tubo, colocándolo boca abajo sobre un papel absorbente, cuidando que el botón se mantenga en el tubo. Dejarlo secar por 5-10 minutos.
22. Agregar 300  $\mu$ l de solución de hidratación de DNA y mezclar con vortex durante 5 segundos a una velocidad media.
23. Incubar a 65°C durante una hora para disolver el DNA
24. Incubar a temperatura ambiente durante toda la noche, posteriormente se pueden centrifugar y transferir en tubos para almacenarlas.

## **ANEXO 5. PROCEDIMIENTO MICROARREGLOS**

### **USO DE NANODROP**

Prender el monitor y CPU

1. Colocar 2  $\mu$ l agua libre de nucleasas en el Nanodrop
2. Abrir el programa
3. Secar el agua y colocar el blanco (agua o Buffer Low EDTA)
4. Medir blanco
5. Colocar las muestras y comenzar lecturas

Lectura D.O en Nanodrop para conocer la concentración en ng/ $\mu$ l de las muestras

Preparación de las diluciones para el gel de integridad

- Se prepara el gel de agarosa al 1.5% y cada pozo debe contener de 100 a 150ng de DNA

### **ELECTROFORESIS EN GEL DE AGAROSA(PARA VALORAR CONCENTRACIÓN DE DNA)**

1. Descongelar DNA
2. Centrifugar

#### **Gel**

1. Disolver 1g de agarosa (1% o 2%) en 50  $\mu$ l TBE
2. Calentar mezcla hasta disolver cristales
3. Dejar que se enfríe un poco

4. Poner los “peines”
5. Vaciar en la cámara de electroforesis ya preparada y dejar enfriar
6. Vaciar TBE 1X
7. Leer concentración de DNA utilizando Nanodrop.
8. Cargar gel
9. Correr el gel

### **Cargar gel 10 µl**

1. MPM 8 µl
2. Gel red 2 µl
3. Muestras
  - a. Agua
  - b. Buffer
  - c. Gel red

### **Preparación de diluciones para digestión**

Se necesita concentración [50ng/µl] de DNA diluidos en 20 µl (TAE buffer o H<sub>2</sub>O)

Nota: Tomar 1000ng de DNA y ultraconcentrar, posteriormente agregar 20 µl de Low EDTA y leer en el Nanodrop. El área de trabajo debe ser previamente desinfectada con alcohol al 70%.

### **Etapa 1: Digestión**

1. Agregar 5 µl gDNA a los pozos
2. Descongelar Nsp I Buffer y 100X BSA en hielo. Agitar en vortex y dar un Spin, colocar en hielo
3. Dejar la enzima Nsp 1 a -20°C lista para usar
4. Agregar 5 µl del DNA genómico incluido en el kit como control positivo, al tubo marcado “+”
5. Agregar 5 µl de EDTA como control negativo al tubo marcado “-“
6. Preparar Master Mix de digestión

<b>Reactivo</b>	<b>Por muestra</b>
Agua fría, libre de nucleasas	11.55 µl
Nsp I Buffer	2.00 µl

100X BSA	0.20 µl
Nsp I	1.00 µl
Volumen total	14.75 µl

7. Agitar en vortex el Master Mix de digestión a alta velocidad 3 veces de 2 segundos cada uno, y dar un Spin

8. Agregar Master Mix de digestión a las muestras

Muestra	Volumen/Muestra
gDNA (50ng/mL)	5.00 µl (250ng)
Master Mix de digestión	14.75 µl
Volumen Total	19.75 µl

9. Precalear el Termociclador

10. Sellar la placa con una película adhesiva

11. Agitar en vortex la placa a alta velocidad en formato de 5 sectores 1 segundo por sector

Nota: 4 sectores cada uno en la esquina y un 5to sector al centro

12. Centrifugar a 2000 rpm por un minuto

13. Colocar la placa en el Termociclador y corra en protocolo CytoScan Digest

Temperatura	Tiempo
37°C	2 horas
65°C	20 minutos
4°C	Esperar

14. Proceder a la etapa 2: Ligación

### **Etapa 2: Ligación**

1. Descongelar la DNA ligasa Buffer y el adaptador Nsp I en hielo. Agitar en vortex para resuspender y el Buffer este limpio mantener en hielo.

2. Dejar la DNA ligasa a -20°C lista para usar

3. Preparar el master Mix de Ligación

4. Agitar en vortex el Master Mix de ligación a altas velocidades 3 veces, 1 segundo cada vez, y dar un Spin

5. Agregar el Master Mix de ligación

<b>Muestras</b>	<b>Volumen/Muestra</b>
Nsp I muestra digerida	19.75 µl
Master Mix de ligación	5.25 µl
Volumen total	25.00 µl

6. Precalear el Termociclador
7. Sellar la placa con una película adhesiva
8. Agitar en vortex la placa a alta velocidad en formato 5 sectores
9. Centrifugar a 2000 rpm por un minuto
10. Colocar la placa en el Termociclador y corra en protocolo Cytoscan Ligation

<b>Temperatura</b>	<b>Tiempo</b>
16°C	3 horas
70°C	20 minutos
4°C	Esperar

11. Proceder a PCR

### **Etapa 3A: PCR**

#### Área Pre-PCR

1. Asegurarse de que la placa de Ligación este sellada correctamente
2. Centrifugar a 2000 rpm por un minuto
3. Diluir las muestras ligadas

<b>Muestra</b>	<b>Volumen/Muestra</b>
Muestra ligada	25 µl
Agua fría, libre de nucleasas	75 µl
Volumen total	100 µl

4. Sellar la placa con una película adhesiva
5. Agitar vortex en formato de 5 sectores y centrifugue a 2000 rpm durante 1 minuto
6. Colocar 4 alícuotas de 10 µl de cada muestra en una placa de PCR

7. Descongelar el Buffer para PCR "10X TITANIUM", dNTP, Primer PCR, y las muestras diluidas de la ligación en hielo. Después de descongelar, colocar en hielo. Agitar en vortex y centrifugar los reactivos
8. Mantener el reactivo GC-Melt y agua libre de nucleasas en hielo
9. Dejar la Taq polimerasa 50X TITANIUM a -20°C lista para su uso
10. Preparar el Master Mix de PCR en tubo de 15mL, centrifugue el tubo y poner en hielo.

Reactivo	Por muestra
Agua fría libre de nucleasas	39.5 µl
10X TITANIUM™ Taq PCR buffer	10.0 µl
GC-Melt Reagent	20.0 µl
dNTP Mixture	14.0 µl
PCR primer	4.5 µl
50X TITANIUM™ Taq DNA Polymerasa	2.0 µl
Volumen total	90.0 µl

11. Agitar en vortex el Master Mix de PCR 3 veces 1 segundo cada vez
12. Agregar PCR Master Mix a las muestras

Muestra	Volumen/Muestra
Muestra ligada	10 µl
PCR Master Mix	90 µl
Volumen total	100 µl

13. Sellar la placa de PCR, agitar en vortex en formato de 5 sectores. Repita una vez mas. Y centrifugue a 2000 rpm por un minuto

#### Área Post-PCR

14. Mantener la placa en hielo y moverla al área post-PCR
15. Precalentar el Termociclador
16. Colocar la placa en el Termociclador y corra el protocolo CytoScan PCR
17. Mantener a 4°C

Temperatura	Tiempo	Ciclos
94°C	3 min	---
94°C	30 s	30
60°C	45 s	
68°C	15 s	
68°C	7 min	---
4°C	Espera	---

### **Etapa 3B: Revisión de producto de PCR**

1. Alicuotar 5 µl de agua libre de nucleasas y 2 µl de Loading dye
2. Transferir 3 µl de cada producto de PCR de una fila a los pozos correspondientes
3. Sellar la tira de muestras para gel
4. Agitar en vortex y centrifugue
5. Cargar 10 µl del Mix con muestra en el gel de agarosa al 2%. Cargue 5 µl de marcador o escalera 50-2000 bp en los carriles antes y después de las muestras. Corra el gel a 5V/cm por 45 minutos
6. Inicie la etapa 4: Purificación de los productos de PCR

### **Etapa 4: Purificación de productos de la PCR**

1. Transferir los productos del PCR a un tubo 1.5 µl
2. Examinar la placa de PCR para verificar que se haya transferido todo el volumen de cada pozo.
3. Mezclar por inversión las perlas de purificación hasta que la mezcla se vea homogénea.
4. Agregar 720 µL de las perlas de purificación a cada muestra.
5. Tapar cada tubo y mezcle por inversión 10 veces.
6. Incubar a Temperatura ambiente durante 10 min.
7. Centrifugar los tubos durante 3 min a (16,100 rpm).
8. Colocar los tubos en el soporte magnético (MagnaRack).
9. Dejar los tubos en el soporte retire el SN sin tocar el botón y desecharlo

- a. NOTA: Asegúrese de agregar 45mL de etanol absoluto al buffer de lavado de purificación antes de utilizarlo.
10. Agregar 1mL de Buffer de lavado a cada tubo.
11. Tapar los tubos agregar el buffer y agite en vortex durante 2 min.
12. Centrifugar por 3 min, a 16,100 rpm.
13. Colocar los tubos en el Soporte magnético.
14. Dejar los tubos en el soporte y retire el sobrenadante y deséchelo.
15. Centrifugar 30s a 16100 rpm. Después colóquelos nuevamente en el soporte magnético.
16. Remover los restos de buffer de purificación que hayan quedado en la parte interior del tubo.
17. Permitir que se evapore el remanente del buffer de lavado de purificación retirando los tubos del soporte magnético dejándolos destapados a temperatura ambiente por 10 min.
18. Agregar 52  $\mu$ L del Buffer de Elución a cada tubo dispersando directamente sobre las perlas.
19. Colocar los tubos en el adaptador de espuma y agite en vortex 10 min para resuspender las perlas.
20. Si las perlas no se han resuspendido Agite en vortex por 2 min mas.
21. Centrifugar los tubos por 3 min a 16,100 rpm
22. Colocar los tubos en el Soporte magnético por 10 min hasta que las perlas se junten por completo.
23. Transferir 47  $\mu$ L de la muestra eluída a una nueva placa.

### **Etapa 5: Cuantificación (8 muestras).**

#### NANODROP

1. Alícuotar 18 $\mu$ L de Agua libre de nucleasas en los tubos nuevos (PLACAS).
2. Transferir 2 $\mu$ L de cada una de las muestras purificadas a los tubos.
3. Sellar la placa o tape los tubos, agite en vortex y centrifugue.
4. Usar agua libre de nucleasas como blanco en el Nanodrop.

- Tomar 2 $\mu$ L de la dilución y mide la D.O de cada producto de PCR a 260, 280 y 320 nm
- Calcular la concentración no diluida de cada muestra en  $\mu$ g/ $\mu$ L: (Concentración en ng/ $\mu$ L X10)/1000.

**Etapa 6A: Fragmentación (8 muestras).**

- Llevar la centrifuga a -4°C antes de comenzar la fragmentación.
- Precalear el Termociclador.
- Retirar la placa de las muestras purificadas y cuantificadas de -20°C y descongele. Proceda a agitar en vortex y centrifugar. Coloque la placa en hielo y enfríe durante 10 min antes de usar.
- Dejar el reactivo de fragmentación (2.5 U/  $\mu$ L) a -20°C listo para usar.
- Mantener todos los reactivos y el agua en hielo. Trabajar en hielo o en cuarto frío.
- Preparar el mix de fragmentación

Reactivo	62.5 por muestras	Por muestra	Para 15 reacciones	Para 12 reacciones
Agua libre de nucleasas	271.2 $\mu$ L	4.33 $\mu$ L	67.8 $\mu$ L	52.24 $\mu$ L
Fragmentation Buffer	343.8 $\mu$ L	5.5 $\mu$ L	85.95 $\mu$ L	68.76 $\mu$ L
Fragmentation Reagent	10.0 $\mu$ L	0.16 $\mu$ L	2.5 $\mu$ L	2 $\mu$ L
Volumen total	625 $\mu$ L		156.25 $\mu$ L	125 $\mu$ L

- Agitar en el vortex el Master mix, 3 veces, 1s cada vez.
- Agregar 10  $\mu$ L del Master Mix de fragmentación a cada muestra.

Muestras	Volumen/Muestra
Producto PCR purificado	45 $\mu$ L
Fragmentation Master Mix	10 $\mu$ L

Volumen Total	55 $\mu$ L
---------------	------------

9. Sellar la placa con una película adhesiva.
10. Agitar en Vortex en formato de 5 sectores. 1s por sector.
11. Centrifugar a 2000 rpm durante 1 min, en la centrifuga refrigerada anteriormente.
12. Precalear el Termociclador.
13. Cargar la placa en el Termociclador y ejecute el protocolo CytoScan Fragment

Temperatura	Tiempo
37 °C	35 min
95 °C	15 min
4 °C	Esperar

14. Proceder a la etapa 6B: Gel de Fragmentación.

#### **Etapa 6B: Fragmentación Gel (8 muestras)**

1. Transferir 4  $\mu$ L de cada muestra fragmentada en tubos y etiquetar
2. Agregar 28uL de agua libre de nucleasa en cada tubo, sellar, agitar y centrifugar

Nota: Este procedimiento es para optimizar si está usando gel de Agarosa

3. Alícuotar 8  $\mu$ L y etiquete "Gel de Análisis" añadir 12  $\mu$ L de loading Dye en cada tubo, tapar, agitar en Vortex y centrifugar.
4. Cargar 20  $\mu$ L de la muestra a un gel TBE al 4%. Cargar 2uL de marcador de peso molecular de 25 pb antes y después de las muestras.
5. Correr el gel a 5V/cm durante 45 min
6. Comparar el gel con la imagen que se muestra arriba
7. Almacenar la alícuota de 24  $\mu$ L de Fragmentación QC-20°C Para un análisis posterior en el Bioanalizador.
8. Si los resultados del gel QC son buenos pasar a etapa 7.

#### **Etapa 7: Labelling (8 muestras)**

1. Descongelar el buffer TdT y el reactivo DNA labeling en hielo.
2. Mantener la enzima TdT a -20°C lista para su uso

3. Preparar el Labelling master mix

Reactivo	Por muestra
TdT Buffer	14.0 $\mu$ L
DNA Labeling Reagent	2.0 $\mu$ L
TdT Enzyme	3.5 $\mu$ L
Volumen Total	19.5 $\mu$ L

4. Agitar en Vortex y Centrifugar. Agregar 19.5  $\mu$ L de Master mix a los tubos.

Muestras	Volumen/Muestra
Fragmented DNA (menos de 4.0 $\mu$ L por análisis de gel)	51 $\mu$ L
Labeling Mix	19.5 $\mu$ L
Volumen total	70.5 $\mu$ L

5. Sellar la placa, agitar en Vortex a alta velocidad en formato de 5 sectores.

6. Centrifugar a 2000 rpm por 1 min

7. Colocar la placa en el Termociclador y correr el protocolo de labeling.

Temperatura	Tiempo
37 °C	35 min
95 °C	15 min
4 °C	Esperar

8. Si no procede la hibridación guarde la placa a -20°C.

**Etapa 8: Hibridación (8 muestras).**

1. Desempaque los Arrays y mantenerlos a temperatura ambiente antes de usar.

2. Precalentar el horno de hibridación al menos 1 hr a 50°C con rotación activada

3. Cree archivo de registro por lotes.

4. Preparar el Mix de Hibridación en un tubo cónico de 15 mL en hielo.

Reactivo	Por muestra
Hyb Buffer Part 1	165.0 $\mu$ L
Hyb Buffer Part 2	15.0 $\mu$ L
Hyb Buffer Part 3	7.0 $\mu$ L
Hyb Buffer Part 4	1.0 $\mu$ L
Oligo Control Reagent	2.0 $\mu$ L
Volumen total	190.0 $\mu$ L

5. Agitar en Vortex a alta velocidad hasta homogeneizar 3 veces 3s c/u y viértalo en un depósito (en el hielo).
6. Agrega 190  $\mu$ L de Master Mix de Hibridación a cada muestra.
7. Sellar bien la placa, Agitar en Vortex 2 veces a alta velocidad en formato de 5 sectores y Centrifugar a 2000 rpm 1 min.
8. Colocar la placa en el Termociclador y correr el protocolo de Hibridación

Temperatura	Tiempo
95 °C	10 min
49 °C	Esperar

9. Permitir que se incuben a 49°C mínimo 1 min.
10. Con las muestras en el Termociclador, cargar 200  $\mu$ L en el Array.
11. Limpiar cualquier exceso de líquido alrededor de los septos.
12. Colocar un Tough-Spots® en los Septos y presione firmemente.
13. Colocar los arrays en el horno de hibridación 4 a la vez.
14. Hibride los arrays de 16 a 18 hrs a 50°C y 60rp.

Nota: Antes de comenzar con los lavados se lleve de llevar a cabo el Bleach

- Para este protocolo de blanqueamiento se utiliza hipoclorito de sodio de uso común.
- Este protocolo está diseñado para eliminar cualquier residuo presente en la estación de fluidos, tubos y agujas.

- Aproximadamente toma 1 hora 45 minutos para completarse
- Thermo Fisher recomienda realizar este protocolo semanalmente independientemente de la frecuencia de uso de la estación de fluidos.

### **Etapa 9: Lavado, Tinción y escaneo**

1. Alicuotar en tubos de 1.5ul

- a. 500uL de Stain Buffer 1 en los tubos ámbar
- b. 500ul de Stain Buffer 2 en los tubos claros
- c. 800 uL de Array Holding Buffer en los tubos azules

### **Lavados posthibridación.**

1. Ejecutar el programa "Prime" en la estación de fluidos con el Wash buffer:

Cargue las soluciones de tinción y seleccione el protocolo de fluidos apropiado.

- CytoScan™ HD Array: CytoScanHD\_ Array 450
- CytoScan™ 750K Array: CytoScan750K Array\_450

- 2. Empezar el protocolo de fluidos y dejar la palanca en posición de expulsión
- 3. Retirar los Tough-Spots® de cada Array.
- 4. Cargar los Arrays en la estación de Fluidos

### **Antes de Escanear**

Asegurar que no haya burbujas visibles a través de la ventana

Cubrir los septos con los Tough-Spots® y cargar en el escáner

Escanear los Arrays como se describe en la guía de uso de los ensayos