



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

DEPARTAMENTO DE GENÉTICA

**“ANÁLISIS DE LOS FENOTIPOS PEDIÁTRICOS ASOCIADOS A
ALTERACIONES EN LA IMPRONTA EN LA REGION 11p15.5”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN

GENÉTICA MÉDICA

PRESENTA:

DRA. ALEJANDRA NAVA TAPIA

TUTORA:

DRA. VERÓNICA FABIOLA MORÁN BARROSO

ASESORES DE TESIS:

DRA. CONSTANZA GARCÍA DELGADO

M. en C. ALICIA BEATRIZ CERVANTES PEREDO



CIUDAD DE MÉXICO, FEBRERO 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México

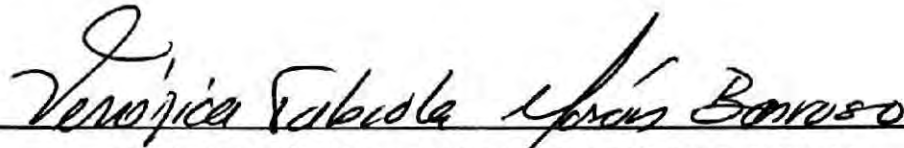


UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

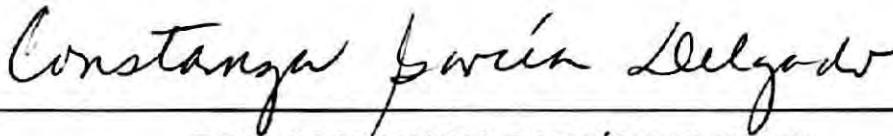
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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



DRA. VERÓNICA FABIOLA MORÁN BARROSO

Profesor Titular de la Especialidad de Genética Médica. HIMFG.



DRA. CONSTANZA GARCÍA DELGADO

Profesor Adjunto de la Especialidad de Genética Médica. HIMFG



M. en C. ALICIA BEATRIZ CERVANTES PEREDO

Servicio de Genética. Hospital General de México "Dr. Eduardo Liceaga"/ Facultad de Medicina, UNAM

DEDICATORIA

A mis padres.

Por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante, por los ejemplos de perseverancia, pero más que nada, por su amor incondicional.

A mi hermano.

Por ser mi gran amigo.

A la Dra. Verónica Morán, Dra. Constanza García y M. en C. Alicia Cervantes.

Por sus enseñanzas y por su valiosa guía a lo largo de mi formación académica.

A Andrés.

Por su amor, su paciencia, por sus palabras de aliento en este arduo camino y por darme a Sebastián, el amor de mi vida.

ÍNDICE

Resumen.....	6
1. Marco teórico	8
1.1. Definición de epigenética.	8
1.1.1. Estructura de la cromatina.....	9
1.1.2. Modificaciones postraduccionales y variantes de histonas.	10
1.1.3. Metilación del DNA.....	16
1.2. Impronta genómica.....	17
1.3. Regulación de la impronta genómica en la región 11p15.5.....	20
1.4. Variaciones fenotípicas relacionadas a alteraciones de la impronta en la región 11p15.5.	21
1.4.1. Síndrome de Beckwith-Wiedemann.	21
1.4.1.1. Manifestaciones clínicas del Síndrome de Beckwith-Wiedemann.	22
1.4.1.2. Bases Moleculares del Síndrome de Beckwith- Wiedemann.	24
1.4.1.3. Diagnóstico clínico del Síndrome de Beckwith-Wiedemann. .	25
1.4.1.4. Diagnóstico molecular del Síndrome de Beckwith-Wiedemann.	28
1.4.1.5. Manejo de los pacientes con espectro del Síndrome de Beckwith Wiedemann	30
1.4.2. Síndrome de Silver-Russell (MIM 180860).....	32
1.4.2.1. Manifestaciones clínicas del Síndrome de Russell.	33
1.4.2.2. Bases moleculares del Síndrome de Silver-Russell.....	35
1.4.2.3. Diagnóstico clínico del Síndrome de Silver-Russell.	36
1.4.2.4. Diagnóstico molecular del Síndrome de Silver-Russell.....	38
1.4.2.5. Manejo del Síndrome de Silver-Russell.	40
1.4.3. Hemihiperplasia Aislada.....	40
1.4.3.1. Manifestaciones clínicas de la hemihiperplasia aislada.	41
1.4.3.2. Bases moleculares de la hemihiperplasia aislada.....	41
1.4.3.3. Diagnóstico clínico de la hemihiperplasia aislada.	42
1.4.3.4. Manejo de la hemihiperplasia aislada.	42
1.5. Fundamento del análisis del patrón de metilación de la región 11p15.5 por amplificación de sondas ligadas múltiples sensible a metilación (MS-MLPA).....	43

2. Planteamiento del problema.	45
4. Justificación	46
5. Objetivos.....	47
5.1. Objetivo General.	47
5.2. Objetivos Específicos.....	47
6. Material y métodos.	48
6.1. Tipo de estudio.....	48
6.2. Tamaño de la muestra.	48
6.3. Criterios de selección.....	48
6.3.1. Criterios de Inclusión.....	48
6.3.2. Criterios de exclusión.	48
6.3.3. Criterios de eliminación.	49
6.4. Evaluación clínica de los pacientes.....	49
6.5. Análisis moleculares por MS-MLPA.	49
7. Consideraciones éticas.....	50
8. Resultados.....	51
9. Discusión	99
10. Conclusiones.....	107
11. Limitaciones de estudio	109
12. Bibliografía	110
ANEXO I. Hoja de recolección de datos.....	120
ANEXO II. Hoja de consentimiento informado para toma de muestra sanguínea	122
ANEXO III. Hoja de consentimiento informado para toma de fotografías.....	124
ANEXO IV. Técnica de amplificación múltiple de sondas ligadas sensible a metilación (MS-MLPA)	125

RESUMEN

Introducción. La región 11p15.5 contiene dos regiones de control de impronta (ICR). El ICR1 regula a los genes *H19* e *IGF2* y el ICR2 a los genes *KCNQ1OT1*, *CDKN1C* y *KCNQ1*. La hipermetilación o hipometilación de las ICR se asocia a enfermedades como el síndrome de Beckwith-Wiedemann, síndrome de Silver Russell y la hemihiperplasia aislada.

Pregunta de Investigación. ¿Cuáles son y qué frecuencia tienen las características clínicas en una cohorte de pacientes pediátricos con enfermedades por alteraciones en la impronta en la región 11p15.5 diagnosticados en el Hospital Infantil de México Federico Gómez?.

Justificación. En nuestra institución no se ha estudiado la relación de las características clínicas asociadas a alteraciones de la impronta en 11p15.5 de pacientes con los diagnósticos de síndromes de Beckwith-Wiedemann, de Silver-Russell, y hemihiperplasia aislada. Identificar los mecanismos implicados aportará conocimiento sobre estas enfermedades en nuestra población.

Objetivo General. Describir el tipo y la frecuencia de las características clínicas de una cohorte de pacientes pediátricos con síndrome de Beckwith-Wiedemann, síndrome de Silver-Russell y hemihiperplasia aislada, y su relación con el perfil de las alteraciones de la impronta de la región 11p15.5 identificadas por análisis de MS-MLPA. **Objetivos Específicos.** Identificar las características clínicas y su frecuencia en los pacientes con síndrome de Beckwith-Wiedemann, determinar las alteraciones de la impronta de la región 11p15.5 que presentan los pacientes con el síndrome de Beckwith-Wiedemann, identificar las características clínicas y su frecuencia en los pacientes con síndrome de Silver-Russell, determinar las alteraciones de la impronta de la región 11p15.5 que presentan los pacientes con el síndrome de Silver-Russell, identificar las características clínicas y su frecuencia en los pacientes con hemihiperplasia aislada, determinar las alteraciones de la impronta de la región 11p15.5 que presentan los pacientes con hemihiperplasia aislada, comparar con la literatura las características clínicas, su frecuencia y el tipo de alteración de la impronta de la región 11p15.5 encontrados en cada grupo. **Material y Métodos:** Estudio prospectivo, observacional y transversal. Se identificó a los

pacientes por revisión de libretas y análisis clínico para establecer diagnósticos, y estudio de MS-MLPA en linfocitos de sangre periférica (protocolo HIM 2017/033).

Resultados: Se incluyeron 11 pacientes con diagnóstico clínico de síndrome de Beckwith-Wiedemann, 64% masculinos, el 100% tuvieron macroglosia y 73% macrosomia y defectos de pared. El estudio molecular MS-MLPA mostró hipometilación en ICR2 en 5 casos, un caso con hipometilación de ICR1, y otro presentó una duplicación de 11p15.5 e hipermetilación de ICR2 e hipometilación de ICR1. Ocho pacientes tuvieron síndrome de Silver-Russell, 62.5% masculinos, el 100% presentó peso y talla bajo al nacimiento, talla baja a partir de los 2 años de edad, macrocefalia relativa, y fenotipo facial clásico; 2 casos tuvieron dificultad para la alimentación y solo un caso cursó con asimetría corporal. El 50% tuvieron hipometilación del ICR1. De los nueve pacientes con hemihiperplasia aislada, 33% fueron masculinos, el 66.7% presentó hemihiperplasia, 11.1% tumor de Wilms y sólo en 2 pacientes se observó hipermetilación de ICR1 e hipometilación de ICR2.

Discusión: Los hallazgos clínicos y moleculares y la relación fenotipo-genotipo encontrado en esta tesis corresponde a las descritas en la literatura para el síndrome de Beckwith-Wiedemann y el síndrome de Silver-Russell. En relación a la hemihiperplasia aislada existe poca información disponible. Los nuevos criterios del Consenso Internacional publicados en 2018 proponen el uso del término “espectro de Beckwith-Wiedemann” y establece que la hemihiperplasia puede ser un grado mínimo de este.

Conclusiones. En los pacientes con síndrome de Beckwith-Wiedemann, síndrome de Silver-Russell o hemihiperplasia aislada es importante establecer el mecanismo molecular por el cual se originaron, debido a que tienen riesgos diferentes de desarrollar complicaciones como los tumores embrionarios dependiendo de la alteración de la impronta presente y para poder otorgar asesoramiento genético particular a cada paciente y sus familiares y brindar abordaje, manejo y seguimiento adecuado en búsqueda de probables complicaciones a lo largo de la vida.

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Definición de epigenética.

El término “epigenética” fue usado por primera vez en 1942 por el embriólogo Conrad Waddington para describir los procesos complejos del desarrollo y sus relaciones con el genotipo y fenotipo. En su caracterización del “epifenotipo” especuló acerca de un sistema biológico en el cual los procesos del desarrollo se encontraban unidos en una red, que al sufrir alguna alteración en etapas tempranas podían causar anomalías en diferentes órganos y tejidos (Waddington, 1942).

Posteriormente Nanney en 1958 sugirió dos sistemas de control celular: el “sistema genético” que se basaba en los mecanismos de replicación de una secuencia de DNA y el “sistema de mecanismos auxiliares” que determinaba el control de la expresión génica (Nanney, 1958).

En 1969 Britten y Davidson propusieron un modelo teórico en el cual varios grupos de genes interactuaban entre ellos y presentaban una expresión diferencial para controlar el desarrollo de una célula (Deichmann, 2016). Fue hasta 1996 cuando Riggs definió el término “epigenética” como el “estudio de los cambios hereditarios en la función génica que no pueden explicarse por los cambios en la secuencia del DNA y que dependen de las modificaciones en la estructura de la cromatina” (Felsenfeld, 2014).

Las principales modificaciones epigenéticas de la cromatina son: las modificaciones postraduccionales de las histonas de los nucleosomas, la metilación del DNA y su remodelación, mediadas por moléculas de RNA no codificante (ncRNA). En conjunto estas modificaciones constituyen el llamado código epigenético que modula la expresión del genoma de los mamíferos en los diferentes tipos celulares durante el desarrollo y bajo diversas condiciones (Fessele, Wright, 2017).

1.1.1. Estructura de la cromatina.

El término “cromatina” fue introducido por el citólogo Walther Flemming en 1879 al observar una sustancia nuclear que era visible al teñirla con una sustancia básica y usando el microscopio de luz (Deichmann, 2016; Maeshima, et al., 2014).

Cada célula contiene cerca de 2 metros de DNA en el núcleo que posee aproximadamente un diámetro de 10 μm . El DNA es un polímero con cargas negativas que produce repulsión electrostática entre regiones de DNA adyacentes y se encuentra organizado en estructuras estrictamente reguladas (Maeshima, et al., 2014). Esta organización inicia con el empaquetamiento del DNA que se encuentra condensado alrededor de un complejo proteico conocido como octámero de histonas o “core” (Oudet, et al., 1975). El complejo está formado por dos de cada una de las proteínas histonas canónicas: H2A, H2B, H3 y H4 con 145-147 pares de bases (bp) alrededor de estas y la H1 que se encuentra fuera del complejo proteico y une las puntas de la molécula de DNA donde entra y sale del octámero de histonas para formar el nucleosoma (Lawrence, et al., 2016).

Los nucleosomas se encuentran cada 200 pares de bases dando una forma similar a un “collar de perlas” (Olins, 2003); estos pueden impedir la expresión génica bloqueando la unión de los factores de transcripción (Luger, et al., 1997). Por otra parte, las histonas presentan modificaciones postraduccionales que influyen en la compactación de la cromatina y en el acceso al DNA (Lawrence, et al., 2016). La dinámica de la cromatina influye en la actividad del genoma y se clasifica dependiendo de su grado de compactación. La eucromatina generalmente es transcripcionalmente activa y por el contrario, la heterocromatina se encuentra más condensada provocando menor accesibilidad a los factores de transcripción (Kebede, et al., 2015).

1.1.2. Modificaciones postraduccionales y variantes de histonas.

Las histonas canónicas pueden ser reemplazadas por las variantes de histonas y alteran la naturaleza química y las propiedades físicas del nucleosoma, lo que afecta distintos procesos celulares (Talbert, 2010). Numerosos factores regulan el intercambio de las histonas durante la transcripción, entre ellos enzimas que provocan modificaciones postraduccionales de histonas, complejos remodeladores de la cromatina y chaperonas de histonas (Venkatesh, Workman, 2015).

Las variantes de histonas pueden diferir de los elementos canónicos por cambios en algunos aminoácidos o por la adición de dominios más grandes. Estas variantes se clasifican en replicativas cuya expresión se encuentra acoplada a la replicación del DNA; y variantes de reemplazo que son generalmente sintetizadas a lo largo del ciclo celular y son incorporadas al genoma en forma independiente de la replicación del DNA (Ahmad, 2002). Un ejemplo de las variantes independientes de la replicación es la variante de histona H2A.Z que es idéntica en un 60% a H2A y que altera las propiedades del nucleosoma estimulando la actividad remodeladora de la cromatina (Weber, Henikoff, 2014).

Las modificaciones postraduccionales de histonas afectan la estabilidad del nucleosoma al alterar las interacciones químicas entre estos o al aproximarlos y generar cromatina condensada. Estas modificaciones son reversibles, ya que la célula contiene enzimas que agregan o que eliminan las marcas y que son conocidas como “escritoras” o “borradoras”, respectivamente (Venkatesh, Workman, 2015). Las modificaciones incluyen acetilación, metilación, fosforilación, ubiquitinización, ADP-ribosilación, desaminación, sumoilación (Lawrence, et al., 2016), propionilación y butirilación (Kebede, et al., 2015). Hasta el momento las modificaciones más estudiadas son aquellas que ocurren en las colas N-terminales de las histonas, las cuales sobresalen del nucleosoma siendo accesibles en su superficie y afectan las interacciones entre ellos (Lawrence, et al., 2016) (Fig.1, Tabla 1).

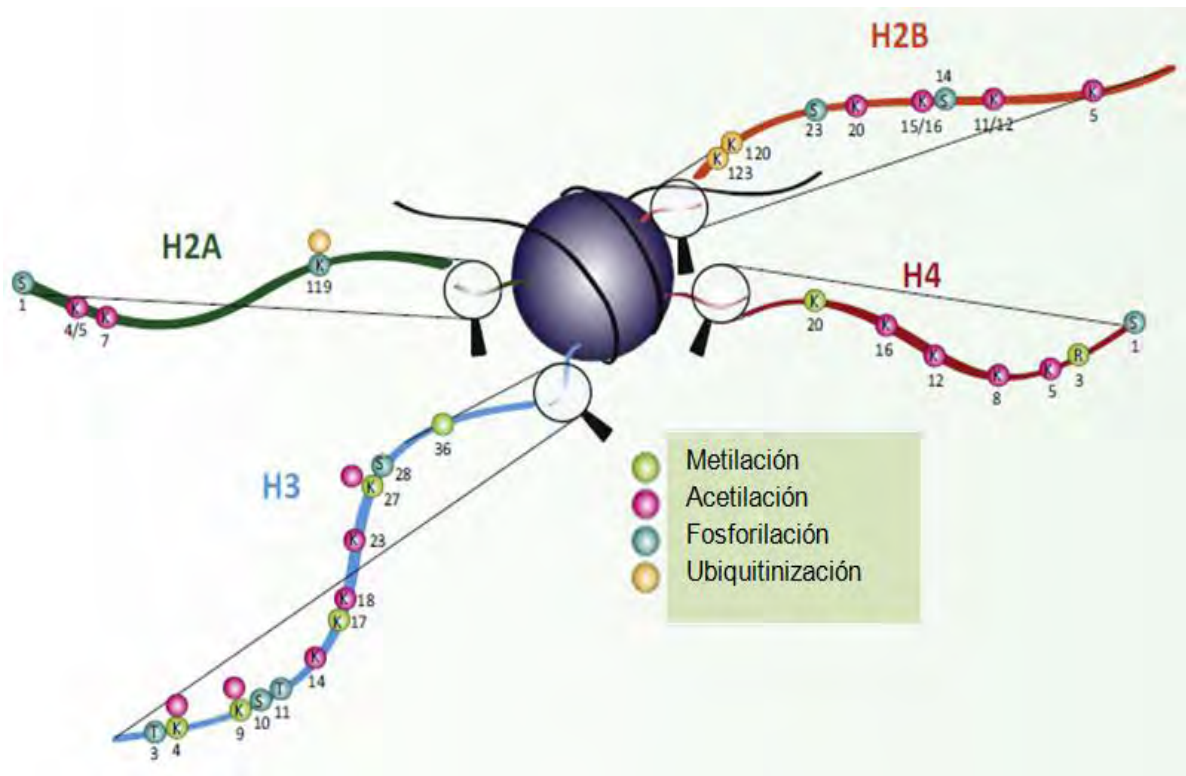


Figura 1 Esquema de las modificaciones de histonas postraduccionales. La posición de los aminoácidos modificados se encuentra en color negro (K=Lisina, R= Arginina, S= Serina, T= Treonina). Modificada de Lawrence et al., 2016.

Tabla 1. Modificaciones de colas de histonas. Modificada de Lawrence, et al., 2016.

Histona	Modificación	Actividad	
H2A	H2AS1P	Mitosis; ensamblaje de cromatina	
	H2AKA4/5ac H2AK7ac	Activación transcripcional	
	H2AK119P	Espermatogénesis	
	H2AK119uq	Represión transcripcional	
H2B	H2BS14P	Apoptosis	
	H2BS33P	Activación transcripcional	
	H2BK5ac H2BK11/12ac H2BK15/16ac H2BK20ac		
	H2BK123uq H2BK120uq	Espermatogénesis/meiosis	
	H3	H3K4me2	Euromatina
		H3K4me3	Elongación transcripcional; euromatina activa
		H3K9me3	Represión transcripcional; metilación del DNA
H3R17me H3K4ac H3K27ac		Activación transcripcional	
H3K27me3		Silenciamiento transcripcional; inactivación del X	
H3K36me3		Elongación transcripcional	
H3K9ac		Deposición de histonas; activación transcripcional	
H3K14ac H3K23ac		Activación transcripcional; reparación del DNA	
H1K18ac		Activación transcripcional; reparación del DNA; replicación del DNA	
H3T3P H3T11/S28P H3S10P		Mitosis Mitosis; meiosis; activación transcripcional	

H4	H4R3me	Activación transcripcional
	H4K20me1	Silenciamiento transcripcional
	H4K20me3	Heterocromatina
	H4K5ac	Deposición de histonas; activación transcripcional; reparación del DNA
	H4K8ac	Activación transcripcional; reparación del DNA; elongación transcripcional
	H4K12ac	Deposición de histonas; silenciamiento telomérico; activación transcripcional; reparación del DNA

Además de las colas de las histonas, otras regiones pueden ser modificadas en los dominios globulares centrales que forman la partícula central del nucleosoma (Tabla 2).

Tabla 2. Modificaciones en el dominio globular de las histonas. Modificada de Lawrence, et al., 2016.

Histona	Sitio	Modificación
H2A	H2AK36	Acetilación
	H2AK99	Metilación
	H2AQ105	Metilación
	H2AK119	Acetilación; Ubicuitinización
H2B	H2BK40	Metilación
	H2BK82	Acetilación
	H2BR96	Metilación
	H2BK105	Acetilación
	H2BK113	Acetilación
	H2BK117	Acetilación
H3	H3Y41	Fosforilación
	H3R42	Metilación
	H3T45	Fosforilación
	H3R53	Metilación
	H3K56	Acetilación; Metilación
	H3K64	Acetilación; Metilación
	H3K79	Metilación
	H3K115	Acetilación
	H3T118	Fosforilación
	H3K122	Acetilación

H4	H4K31	Acetilación
	H4S47	Fosforilación
	H4K59	Metilación
	H4K77	Acetilación
	H4K79	Acetilación
	H4K91	Acetilación
	H4R92	Metilación

1.1.3. Metilación del DNA.

La metilación del DNA es una modificación química de las citosinas, en forma especial las que se encuentran en los dinucleótidos CpG presentes en la mayoría de los genomas de mamíferos y está asociada con la regulación transcripcional de los genes (Ambrosi, 2017). En mamíferos la metilación del DNA está involucrada en la represión de genes específicos durante el desarrollo embrionario, en la inactivación del cromosoma X y en la impronta genómica al regular la expresión génica alelo-específica (Kaneda, et al., 2004).

Existen tres enzimas conservadas en mamíferos llamadas DNA metiltransferasas (DNMT), responsables de agregar grupos metilo al carbono 5 de las citosinas (5-metilcitosina). La DNMT3A y la DNMT3B que llevan a cabo la metilación *de novo* en el DNA y la DNMT1 que se considera de mantenimiento (Fig. 2), ya que restaura el estado de metilación del DNA hemimetilado después de la replicación (Goll, 2005).

La metilación del DNA puede ser removida por desmetilación pasiva y desmetilación activa. La primera se lleva a cabo ante la ausencia de actividad de DNMT1 (Jin, Z., 2018). Durante la replicación DNMT1 copia el estado de metilación de la cadena original a la cadena recién sintetizada y en ausencia de actividad de mantenimiento el DNA se desmetila completamente después de dos divisiones celulares (Ambrosi, 2017). En cuanto a la desmetilación activa, se han involucrado dos procesos: la oxidación y la reparación del DNA. Las proteínas TET ("Ten-eleven translocation") (Fig. 2) (Wu, 2014) son responsables de oxidar las 5-metilcitosinas (5mC) a 5-hidroximetilcitosinas (5hmC) y generar nuevas marcas epigenéticas e iniciar la desmetilación del DNA. A pesar de la investigación se sabe poco acerca de la regulación dinámica mediada por las proteínas TET y como los cambios en las 5mC impactan en la reconfiguración de patrones modificadores de histonas (Kong, et al., 2016).

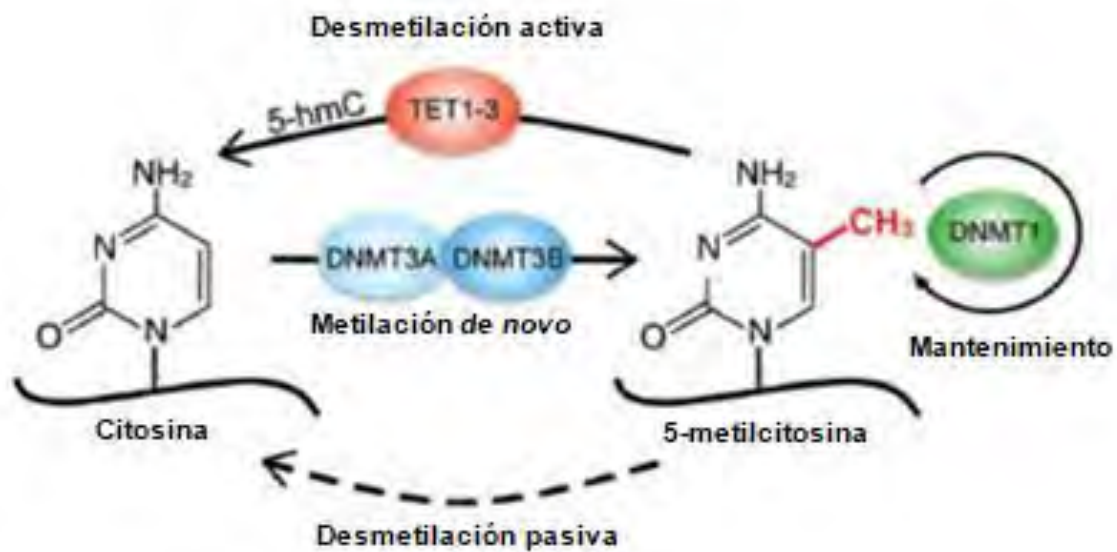


Figura 2. Esquema del proceso de metilación y desmetilación del DNA. Las DNA metiltransferasas (DNMT) agregan grupos metilo (CH_3) a las citosinas. DNMT3A y DNMT3B (azul)= metilación *de novo*. DNMT1 (verde)= mantenimiento. Se representa la desmetilación pasiva y la desmetilación activa por medio de las proteínas TET. Modificada de Ambrosi, 2017.

1.2. Impronta genómica.

El proceso de impronta genómica fue reconocido en los mamíferos hace más de 30 años cuando experimentos de trasplantes de pronúcleos mostraban que el genoma materno y paterno eran necesarios para el desarrollo normal a término de embriones de ratones (McGrath, 1984). En modelos murinos se evidenció que en algunas regiones del genoma la expresión de los alelos es distinta según el origen del progenitor (padre o madre) del cual se hereda (Cattanach, B.M, 1985).

La herencia uniparental de las regiones improntadas en ratones se asoció a fenotipos anormales que afectaban la viabilidad, desarrollo, crecimiento y comportamiento, lo que sugirió que podían ser causantes de enfermedades en humanos, en 1991 fueron descritos los primeros genes improntados *IGF2* y *H19* (Bartolomei, M. S, 1991; DeChiara, T. M., 1991).

La impronta genómica se define como la expresión de algunos genes en función del género masculino o femenino del progenitor del que han sido

heredados (Peters, 2014) y es un fenómeno único que ocurre en mamíferos, marsupiales y en algunas plantas, que tiene como función mantener una embriogénesis normal, así como mantener un adecuado crecimiento prenatal y postnatal (Elhamamsy, 2017).

La mayoría de los genes localizados en los autosomas se expresan bialélicamente, es decir, se expresa tanto el alelo paterno como el alelo materno. El mecanismo de impronta ocasiona que un gen o grupo de genes, sea expresado de un solo alelo mediante un proceso de silenciamiento génico mediado por metilación del DNA (Sha, 2008). La expresión monoalélica por medio de la impronta genómica ejerce ventajas en la evolución y han sido propuestas dos teorías principales: la teoría de coadaptación y la teoría de parentesco o del conflicto parental (Emirjeta, 2016). La primera plantea que los genes improntados actúan de manera coadaptativa para que en el desarrollo fetal, la provisión materna y la crianza sean optimizados (Keverne, 2008). Por otro lado en la del conflicto parental, se propone la existencia de un conflicto de intereses entre los genes paternos y los maternos durante la dependencia materna para la nutrición (Moore, 1991).

Los cambios en la impronta pueden deberse a modificaciones en la secuencia del DNA o a modificaciones epigenéticas. La mayoría de los genes improntados se encuentran agrupados dentro de diferentes *loci* a lo largo del genoma y tienen regiones diferencialmente metiladas (DMR). La expresión alélica se encuentra controlada por la metilación; todos los dominios improntados identificados hasta ahora contienen al menos una DMR que adquiere su metilación durante la gametogénesis y que se mantiene durante el desarrollo (Elhamamsy, 2017).

Las DMR en la mayoría de los *loci* improntados comprenden islas CpG; las cuales están formadas por regiones de más de 200 pares de bases, ricas en contenido de guaninas y citosinas (mas de 50%) y que forman los centros reguladores de la impronta o ICR por sus siglas en inglés (Emirjeta, 2016). Su estado de metilación modifica la interacción con factores de transcripción y la actividad de los genes vecinos (Peters, 2014).

Los mecanismos por los cuales los ICR desmetilados controlan la expresión de los genes improntados aún no son totalmente comprendidos, para explicarlos se han propuesto dos modelos: el modelo del aislante y el de los RNA largos no codificantes (lncRNA). Los RNA no codificantes constituyen un componente importante en la cromatina y tienen una función fundamental en la organización de su arquitectura y en la “memoria epigenética”, actuando como interfase con la maquinaria modificadora de la cromatina (Panduro, 2012). Específicamente los lncRNA que se originan del promotor hacia el ICR tienen una función importante en el silenciamiento de los genes improntados en *cis* (Sleuters, 2002.)

El modelo del aislante se describió al estudiar el agrupamiento de los genes *Igf2-H19* en donde el ICR forma un aislante al unirse a él la proteína en dedos de zinc CTCF (*CCCTC-binding factor*) y bloquea el acceso a los potenciadores corriente abajo de los promotores de *Igf2* resultando en su silenciamiento (Hark, 2000).

Se han identificado y reportado cerca de 94 genes improntados en el humano y un poco más de 127 en el ratón (Elhamamsy, 2017), la mayoría de los estudios han demostrado que >80% de estos genes se encuentran agrupados. Existen al menos 13 agrupamientos génicos en 8 cromosomas que contienen de 2 a 15 genes en regiones de van desde >100 kilobases hasta varias megabases (Barlow, 2011). Entre las regiones mejor estudiadas se encuentra la región en el cromosoma 11p15.5.

1.3. Regulación de la impronta genómica en la región 11p15.5.

Una de las principales regiones improntadas en humanos se localiza en el brazo corto del cromosoma 11. Varios de los genes improntados de la región 11p15.5 están relacionados con el crecimiento y el desarrollo del cuerpo, así como en la tumorigénesis (Emirjeta, 2016). Esta región se extiende por aproximadamente una megabase y contiene dos centros reguladores de impronta. El ICR1 en dirección telomérica se encuentra metilado en el alelo paterno y entre los genes en esta región están *H19* e *IGF2*. El ICR2 que se encuentra más hacia el centrómero, se encuentra metilado en el alelo materno y contiene a los genes *KCNQ1OT1* y *CDKN1C*, entre otros (Russo, et al., 2016).

En el ICR1 la diferencia en la arquitectura de la cromatina en los alelos materno y paterno lleva a la expresión recíproca de *H19* o *IGF2*. El ICR1 contiene siete sitios blanco para el factor de unión a CCCTC (CTCF) en las DMR y se localiza 2 kilobases corriente arriba de *H19*. El CTCF se une al ICR1 desmetilado del alelo materno y forma una barrera que bloquea la expresión de *IGF2* y promueve mediante potenciadores la transcripción de *H19* en el alelo materno. Por el contrario, la metilación del alelo paterno impide la unión de CTCF y promueve la expresión de *IGF2* (Fig. 3), que se encuentra relacionado con el desarrollo y el crecimiento fetal (Eggermann, et al., 2016).

El ICR2 regula la expresión de *CDKN1C* y *KCNQ1*, encontrándose metilado sólo en el alelo materno. El gen *KCNQ1OT1* (también conocido como *LIT1*) inicia en el intrón 10 de *KCNQ1* y su transcrito antisentido se expresa del alelo paterno y reprime la expresión de *CDKN1C* en el mismo alelo. La pérdida de la metilación de ICR2 en el alelo materno provoca una sobreexpresión de *KCNQ1OT1*, lo que produce la falta de expresión de *CDKN1C* cuyo producto proteico, P57, tiene actividad de inhibidor de ciclina-cinasa o CKI (Fig. 3) (Eggermann, et al., 2016). Cuando existe alguna alteración en los mecanismos de impronta de los genes de la región 11p15.5, puede provocar síndromes de sobrecrecimiento como por ejemplo el de Beckwith Wiedemann o por el contrario el síndrome de Silver-Russell que cursa con talla baja (Ounap, 2016).

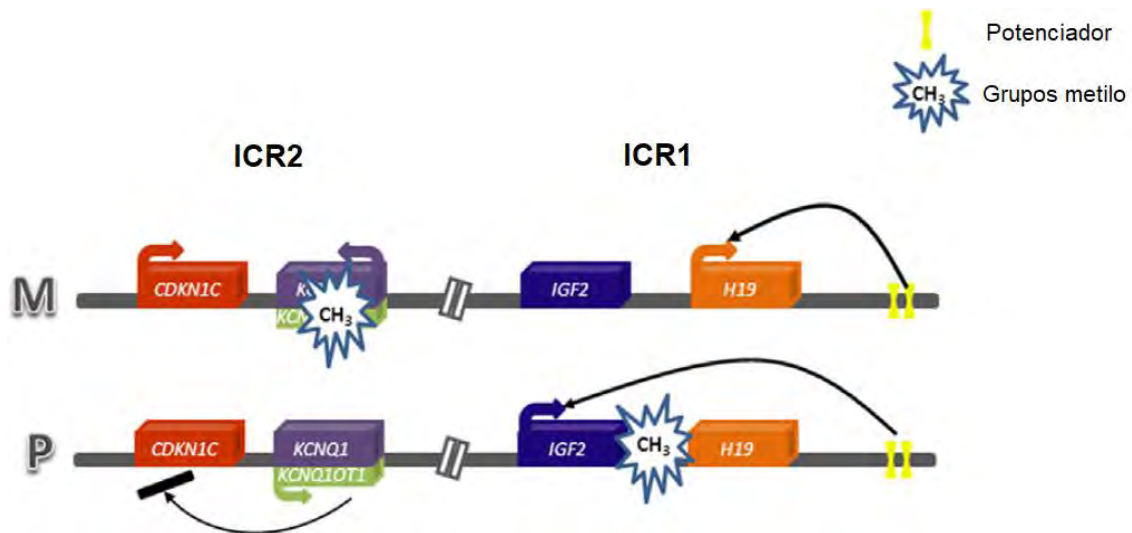


Figura 3. Representación esquemática de la regulación de la impronta en la región 11p15.5. “M” representa el alelo materno y “P” el alelo paterno. Típicamente el ICR1 se encuentra metilado en el alelo paterno, resultando en la expresión de *IGF2* y en el silenciamiento de *H19* y en el alelo materno el ICR2 se encuentra metilado, resultando en silenciamiento de *KCNQ1OT1* y expresión de *KCNQ1* y *CDKN1C*. Modificada de Cytrynbaum, et al., 2016.

1.4. Variaciones fenotípicas relacionadas a alteraciones de la impronta en la región 11p15.5.

1.4.1. Síndrome de Beckwith-Wiedemann.

El síndrome de Beckwith-Wiedemann (SBW) (MIM 130650) es un desorden pediátrico de sobrecrecimiento con predisposición variable para presentar tumores embrionarios (Weksberg, 2010) con una prevalencia reportada de 1/10,340 recién nacidos vivos (Mussa, 2013). La incidencia del SBW es igual en hombres y en mujeres, con la excepción de casos de gemelos monocigóticos en donde se ha observado más frecuentemente en pacientes femeninos (Weksberg, 2010).

Este síndrome fue descrito en los años 60 por Beckwith y Wiedemann, quienes describieron pacientes que compartían características como: defectos en la pared abdominal, macroglosia y sobrecrecimiento (Moreno, et al., 2013). Esta enfermedad fue previamente llamada síndrome EMG por sus características principales de exomfalos, macroglosia y gigantismo (Ounap, 2016).

Se ha encontrado mayor incidencia de SBW en procedimientos de reproducción asistida como la fertilización *in vitro* y la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (Halliday, 2004). A pesar de que estas técnicas se han considerado seguras, se ha observado que algunos *loci* improntados pueden sufrir cambios en la metilación del DNA y que la incidencia de SBW aumenta con estas técnicas hasta en 1/1000-4000 recién nacidos vivos (Mussa, 2017; Halliday, 2004).

1.4.1.1. Manifestaciones clínicas del Síndrome de Beckwith-Wiedemann.

Este síndrome se encuentra asociado a diferentes manifestaciones clínicas que pueden presentarse con diferente gravedad. Los individuos con SBW tienen una frecuencia elevada de malformaciones incluyendo los defectos de la pared abdominal como onfalocele, hernia umbilical y diástasis de rectos abdominales; y visceromegalias que pueden afectar uno o varios órganos como el hígado, bazo, páncreas, riñones y adrenales (Mussa, 2016).

El crecimiento se ve afectado en los pacientes con SBW quienes generalmente se encuentran con peso y talla arriba del percentil 95 y perímetro cefálico cercano al percentil 50 (Weksberg, et al., 2010). Sin embargo la macrosomía al nacimiento sólo se ha descrito en aproximadamente la mitad de los casos (Mussa, 2016b). Las características faciales en estos pacientes son los ojos prominentes, nevus flammeus facial (73.1%), lóbulos de pabellones auriculares con crestas anteriores, hoyuelos (pits) retroauriculares (66.8%) (Ibrahim, et al., 2014) y macroglosia (Fig. 4), siendo esta última la característica más frecuente al estar presente en 90-97% de los casos (Elliot, et al., 1994; Gaston, et al., 2001; Ibrahim, et al., 2014). Los rasgos craneofaciales son más evidentes antes de los 3 años de edad y en la mayoría de los pacientes posterior a los 5 años puede encontrarse sólo dismorfismo leve (Elliot, Maher, 1994). Entre el 3-10% de los pacientes pueden presentar paladar hendido cuya incidencia varía dependiendo del mecanismo molecular (Mussa, et al., 2016b).



Figura 4. Paciente con Síndrome de Beckwith-Wiedemann. A) 7 días de vida. B) 5 meses de vida. Nótese los ojos prominentes, macroglosia y el nevus flammeus. Modificada de Ounap, 2016.

Se reporta hipoglicemia en el 30-50% de los neonatos con SBW causada por la hiperplasia de los islotes del páncreas y el hiperinsulinismo (Weksberg, et al., 2010), y las anomalías cardíacas como la tetralogía de Fallot, defectos septales atrio-ventriculares, persistencia del conducto arterioso y cardiomegalia están presentes en el 20- 55.6% de los pacientes (Ounap, 2016; Ibrahim, et al., 2014).

Otras alteraciones frecuentes en pacientes con SBW son la hemihiperplasia, cuyo término ha sido redefinido como sobrecrecimiento lateralizado (Brioude, 2018) la cual se considera la característica más fuertemente asociada al desarrollo de tumores embrionarios y se encuentra en aproximadamente en 38% de los pacientes ((Ibrahim, et al., 2014).

En el 28-61% de los casos de SBW existen alteraciones urológicas variables como la nefromegalia y malformaciones renales, siendo un hallazgo patognomónico la citomegalia adrenocortical (Mussa, 2016a).

Existe un riesgo elevado de 4-21% para neoplasias de origen embrionario, principalmente para el tumor de Wilms seguido del hepatoblastoma, neuroblastoma, y el carcinoma adrenocortical, entre otros. Estas neoplasias se presentan casi en su totalidad durante los primeros 8-10 años de vida (Ounap, 2016).

El SBW se ha caracterizado por las manifestaciones antes mencionadas; sin embargo, se ha observado que no todos los pacientes presentan las características clásicas de esta entidad y que por ello una gran parte permanece sin diagnóstico. El grupo del consenso internacional de SBW fue compuesto por 41 participantes pertenecientes a 36 instituciones de 11 países, la mayoría europeos donde se propusieron 72 recomendaciones para el diagnóstico clínico y molecular, así como para el manejo y tratamiento de los pacientes y se introduce el término “Espectro de Beckwith-Wiedemann” debido a su expresividad variable (Brioude, et al., 2018).

1.4.1.2. Bases Moleculares del Síndrome de Beckwith-Wiedemann.

El SBW se ha relacionado a alteraciones en la impronta de la región 11p15.5 hasta en 80% de los pacientes (Choufani, 2010). En el 50% de los pacientes con SBW se encuentra una pérdida de la metilación del ICR2 del alelo materno, mientras que en el 5-10% de los casos hay ganancia de metilación del ICR1 en el alelo materno (Eggermann, 2013). La disomia uniparental paterna del cromosoma 11 se detecta en el 20% de los casos y está relacionada principalmente con sobrecrecimiento lateralizado, defectos renales y mayor riesgo de neoplasias de origen embrionario principalmente para hepatoblastoma (Engel, et al., 2000).

Las mutaciones de pérdida de función en *CDKN1C* se han detectado en 8-10% de los casos, correspondiendo a 5-31% de casos esporádicos y a 50-68% de los familiares (Cooper, et al., 2005; Weksberg, et al., 2010; Eggermann, et al., 2014a; Brioude, et al., 2015), en estos pacientes es más frecuente la incidencia de neuroblastoma (Maas, et al., 2016) y paladar hendido (Mussa, et al., 2016b). Por otro lado, en el 5% de los pacientes se han detectado microdeleciones maternas del ICR2 y duplicaciones de ICR1 de origen paterno se han diagnosticado en menos del 1% de los individuos con SBW (Ounap, 2016). Las translocaciones/inversiones de origen materno se han descrito en poco casos en la literatura (Begemann, et al, 2012).

Se han encontrado alteraciones constitutivas en 11p15.5 en el 3% de los individuos con tumor de Wilms esporádico sin manifestaciones de sobrecrecimiento (Scott, et al., 2008). El onfalocele, el nevus flammeus y las alteraciones en los pabellones auriculares están asociados con mayor frecuencia a modificaciones en el ICR2 y a mutaciones en el gen *CDKN1C*. Cuando existe hipermetilación del ICR1 se presenta un mayor riesgo para malformaciones ureterales, macrosomía y neoplasias. La hipometilación del ICR2 se relaciona principalmente con el sobrecrecimiento postnatal. En más del 90% de los pacientes concebidos por técnicas de fertilización asistida se han identificado epimutaciones en ICR2 (Lim, 2009).

1.4.1.3. Diagnóstico clínico del Síndrome de Beckwith-Wiedemann.

En 1994 Elliot y Maher fueron los primeros en resumir las características clínicas de 91 casos de pacientes con SBW y describieron los primeros criterios diagnósticos (Ounap, 2016). Se han propuesto varios sistemas de clasificación del SBW, los últimos propuestos por Ibrahim y colaboradores en el año 2014 realizaron la última actualización de los criterios diagnósticos del síndrome de Beckwith-Wiedemann en los cuales identificaron las características con el valor predictivo más alto de encontrar una alteración en la metilación (Ibrahim, et al., 2014; Brioude, et al., 2018). Para realizar el

diagnóstico clínico de acuerdo a la clasificación de Ibrahim se necesitan tres criterios mayores o dos criterios mayores y uno a tres menores (Tabla 3).

Tabla 3. Criterios clínicos diagnósticos para el Síndrome de Beckwith-Wiedemann. (Ibrahim, et al., 2014).

CRITERIOS MAYORES
Defectos de la pared abdominal
Macroglosia
Macrosomia
Visceromegalias
CRITERIOS MENORES
Hipoglicemia neonatal
Nevus flammeus
Hemihiperplasia

De acuerdo al consenso internacional para el diagnóstico del espectro Beckwith Wiedemann publicado en 2018 se han denominado “manifestaciones cardinales” a las características que al estar presentes es probable que conlleven a un diagnóstico positivo, e incluyen la macroglosia, exomfalos, sobrecrecimiento lateralizado, tumor de Wilms multifocal o nefroblastomatosis, hiperinsulinismo que se ha definido como hipoglucemia prolongada por más de una semana y/o que requiere tratamiento escalado para resolverse; citomegalia adrenal, displasia mesenquimal placentaria y adenomatosis pancreática (Brioude, et al., 2018).

Las manifestaciones definidas como “sugestivas” son las que pueden observarse de forma independiente en la población pediátrica y a las que se les ha dado menor peso para el diagnóstico de este espectro. Estas características incluyen el peso al nacimiento mayor a dos desviaciones estándar (DE), *naevus flammeus* facial, polihidramnios o placentomegalia, hendiduras o hoyuelos (pits) auriculares, hipoglucemia transitoria, tumores embrionarios, nefromegalia o hepatomegalia y hernias umbilicales o diástasis de rectos (Brioude, et al., 2018) (Tabla 4).

Tabla 4. Manifestaciones clínicas del espectro del Síndrome de Beckwith-Wiedemann. Modificado de Brioude, et al., 2018.

MANIFESTACIONES CARDINALES (2 PUNTOS POR MANIFESTACIÓN)

- Macroglosia
- Exomfalos
- Sobrecrecimiento lateralizado
- Tumor de Wilms multifocal y/o bilateral o nefroblastomatosis
- Hiperinsulinismo (> 1 semana con tratamiento escalado)
- Hallazgos de patología: Citomegalia adrecortical, displasia mesenquimal placentaria o adenomatosis pancreática

MANIFESTACIONES SUGESTIVAS (1 PUNTO POR MANIFESTACIÓN)

- Peso al nacimiento >2 DE
- Naevus flammeus facial
- Polihidramnios y/o placentomegalia
- Hendiduras o hoyuelos (pits) en pabellones auriculares
- Hipoglucemia transitoria (<1 semana)
- Tumores típicos del espectro Beckwith-Wiedemann (neuroblastoma, rabdomyosarcoma, tumor de Wilms unilateral, hepatoblastoma, carcinoma adrenocortical o feocromocitoma)
- Nefromegalia y/o hepatomegalia
- Hernia umbilical y/o diástasis de rectos

Diagnóstico clínico de SBW clásico ≥ 4 puntos (no requiere confirmación molecular). **Pacientes ≥ 2 puntos** (incluyendo los casos clásicos), requieren estudio genético para investigación o diagnóstico. **Pacientes < 2 puntos**= Sin criterios para estudio molecular. **Pacientes con ≥ 2 puntos con estudio genético negativo**, considerar diagnósticos alternativos.

1.4.1.4. Diagnóstico molecular del Síndrome de Beckwith-Wiedemann.

Se propuso un algoritmo para el diagnóstico molecular del ESBW en el consenso internacional del 2018 (Fig. 5) donde se plantea que el estudio de primera línea es el análisis de metilación de los ICR1 e ICR2. Un patrón de metilación anormal confirma el diagnóstico de SBW, sin embargo debe establecerse el mecanismo por el cual la metilación se encuentra alterada para definir el manejo, el asesoramiento genético y el riesgo de recurrencia. Se aconseja el análisis de metilación por medio de la Amplificación Múltiple de Sondas Ligadas sensible a metilación (MS-MLPA), ya que simultáneamente detecta el *estatus* de la metilación y del número de copias presentes de la región (Brioude, et al., 2018).

Si se identifican variantes en el número de copias en el se debe considerar estudio de microarreglos para determinar la naturaleza y la extensión de la delección o duplicación. El cariotipo y la hibridación in situ fluorescente (FISH) debe considerarse para identificar posibles translocaciones cromosómicas (Russo, et al., 2016; Baskin, et al., 2014).

El análisis con microarreglos de polimorfismos o variantes de un solo nucleótido (SNP o SNV) se considera el método más sensible para descartar mosaicismo o disomia uniparental (Keren, et al., 2013).

En caso de que se obtenga un resultado negativo con los estudios de primera línea, no se excluye el diagnóstico de SBW por la posibilidad de un mosaicismo en baja proporción que no se haya identificado en el estudio de metilación, o la presencia de mutaciones en el alelo materno de *CDKN1C* o rearrreglos cromosómicos balanceados, también por lo general de origen materno y que producen un efecto de posición que impide la expresión de *CDKN1C*. Un resultado negativo también puede deberse a un diagnóstico clínico incorrecto, por lo que se debe revalorar al paciente para considerar diagnósticos diferenciales (Brioude, et al., 2018).

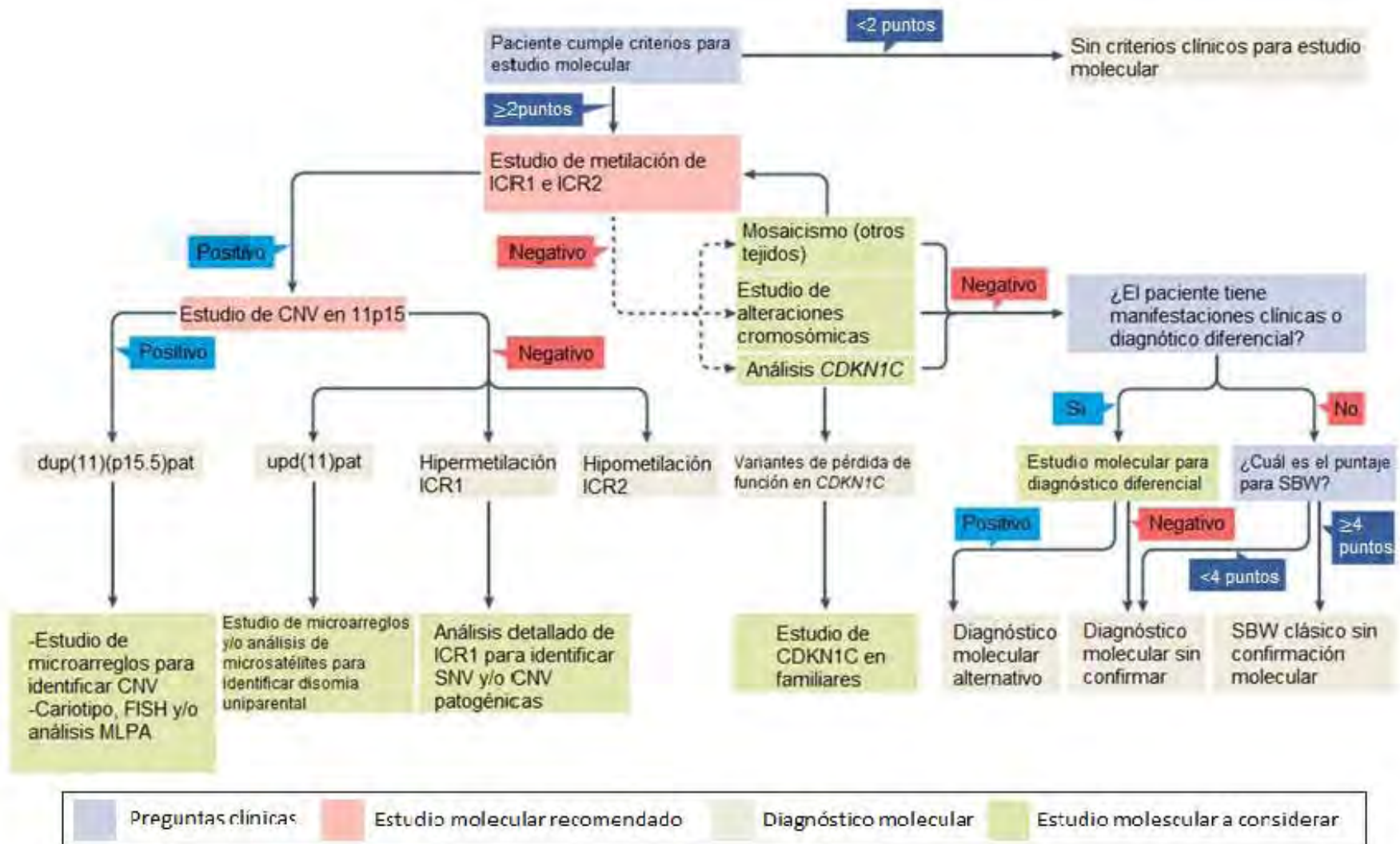


Figura 5. Algoritmo diagnóstico para el espectro de síndrome de Beckwith-Wiedemann. UPD= Disomía uniparental. Modificado de Brioude, et al., 2018.

1.4.1.5. Manejo de los pacientes con espectro del Síndrome de Beckwith Wiedemann

La detección de defectos de pared, macroglosia, macrosomia, visceromegalias, polihidramnios, placentomegalia o sobrecrecimiento del páncreas por medio de ultrasonografía en la etapa prenatal debe hacer sospechar del diagnóstico de espectro de Beckwith-Widemann. Niveles elevados de la fracción beta de la gonadotropina corionica humana en el tercer trimestre de embarazo (Brioude, et al., 2018) y/o aumento de la alfafetoproteína en el segundo trimestre pueden ser indicadores de exomfalos (Guanciali-Franchi, 2012).

Después del nacimiento, en estos pacientes se recomienda analizar la placenta en busca de hallazgos de patología que nos hagan sospecha de esta entidad, como la displasia mesenquimal placentaria (Brioude, et al., 2018). Se ha descrito que aproximadamente el 20% de los pacientes diagnosticados con displasia mesenquimal placentaria (Nayeri, et al., 2013) y del 10-20% de los diagnosticados con exomfalos en la etapa prenatal, tendrá un diagnóstico positivo de SBW (Guanciali-Franchi, et al., 2012).

En cuanto al crecimiento no se ha establecido tratamiento para la talla alta en estos pacientes, sin embargo se ha observado que la talla final en la adultez es mayor que la talla blanco familiar por encima de dos desviaciones estándar (Brioude, et al., 2014).

El manejo del sobrecrecimiento lateralizado depende de la severidad de la discrepancia en la longitud de las extremidades. Está indicado el uso de calzado especial cuando la diferencia es menor a 2 cm y la epifisiodesis cuando es mayor a 2 cm (Mussa, et al., 2015). Por otra parte los pacientes que presentan macroglosia pueden cursar con regresión espontánea sin requerir cirugía, pero alrededor del 40% de los casos deben ser sometidos a reducción del tamaño de la lengua (Kadouch, et al., 2012), sobre todo cuando existe dificultad respiratoria o para la alimentación, y en estos casos puede indicarse una traqueostomía mientras se realiza el procedimiento quirúrgico (Brioude, et al., 2018).

Cuando se presenta hipoglucemia en la etapa neonatal se debe tratar hasta lograr una concentración >70 mg/dl y escalarlo usando diazóxido y análogos de la somatostatina. La pancreatectomía está indicada cuando ya se ha intentado resolver la hipoglucemia usando terapias farmacológicas, sin lograrse la remisión de los eventos de hiperinsulinismo (Rozenkova, 2015).

En los pacientes con SBW es de gran importancia el seguimiento para detectar tumores embrionarios. El tumor de Wilms al ser el más frecuente, debe detectarse en estadios tempranos y se recomienda realizar una ultrasonografía renal cada 3-4 meses (Brioude et al., 2018), en especial en los casos con el mecanismo molecular relacionado a mayor incidencia de esta neoplasia entre ellos la disomía uniparental paterna del cromosoma 11 y la hipermetilación del ICR1 y en las edades en las que es mayor el riesgo (primeros 8-10 años de vida) (Ounap, 2016). Se debe evaluar la alfafetoproteína que se eleva en $>95\%$ los hepatoblastomas y estos tumores son la segunda neoplasia más frecuente (Spector, et al., 2012).

La detección de neuroblastomas asintomáticos puede realizarse mediante determinación de marcadores tumorales como el ácido vanilmandélico y homovanílico y/o con la relación de catecolaminas/creatinina, combinado con un ultrasonido cada tres meses durante los primeros 2-3 años de vida (Mussa, et al., 2016).

En el consenso internacional se estableció que el seguimiento para detectar tumores embrionarios debe estar dirigido a los subgrupos moleculares que se encuentran en mayor riesgo de presentarlas. En los pacientes con hipometilación del ICR2 no debe ofrecerse ultrasonografía de rutina, pero cuando existen casos de SBW clásico donde no se ha confirmado el mecanismo molecular se recomiendan ultrasonidos abdominales cada 3 meses hasta los 7 años de edad (Brioude, et. al., 2018).

1.4.2. Síndrome de Silver-Russell (MIM 180860).

El fenotipo del síndrome de Silver Russell (SSR) (MIM 180860), es la contraparte del fenotipo del síndrome de Beckwith-Wiedemann, ya que se caracteriza por restricción del crecimiento intrauterino y retardo en el crecimiento postnatal con facies característica y alteraciones en varios órganos y sistemas (Ounap, 2016). Se ha reportado una incidencia del síndrome de Silver Russell de 1/3000-100,000 recién nacidos vivos (Wakeling, et. al., 2016), con una prevalencia de 1-54,537 si se toma en cuenta solo a los pacientes con alteraciones moleculares confirmadas (Yakoreva, et al., 2015). No hay predilección de sexo encontrándose SSR en todos los grupos étnicos (Galaz-Montoya, et al., 2014).

El síndrome de Silver Russell fue descrito por el Dr. Alex Russell (1954), quien presentó 5 casos de “enanismo intrauterino” con disostosis craneofacial; un año después de que el Dr. Silver y colaboradores describieran a dos pacientes con un fenotipo similar (Silver, et al., 1953). Uno de los pacientes descritos por Russell se identificó con el nombre de “DS” en su artículo original, nació a las 42.2 semanas de gestación con un peso de 2,100 gramos (-2.9 DE); se reportó una cara triangular, frontal abombado, estrechamiento del diámetro bitemporal, comisuras labiales descendentes, mandíbula hipoplásica (Fig.6); pie cavo, clinodactilia bilateral del quinto dedo de manos, falla de medro, reflujo gastroesofágico e hipogonadismo hipogonadotrófico. Su talla máxima fue de 154.5 centímetros (-3.1 DE) y su peso máximo de 52 kg (percentil 2), ha sido el paciente con mayor edad reportado en la literatura, con 69 años de edad y diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2 desde los 22 años, hipercolesterolemia y osteopenia (Searle, et al., 2015).



Figura 6. Fenotipo de paciente publicado en 1954. A) 4 meses de edad con brazos cortos y facies típica. B y C) Fenotipo a los 3.5 años y 7 años con frontal prominente, diámetro bitemporal estrecho, puente nasal alto, comisuras labiales descendentes y micrognatia. D) Habitus del paciente a los 3.5 años. Modificada de Searle, et al., 2015.

1.4.2.1. Manifestaciones clínicas del Síndrome de Russell.

El SSR es un síndrome bien reconocido que puede presentar fenotipos variables. Entre las características descritas en los individuos con este síndrome se encuentran: el retraso en el crecimiento intrauterino en el 78% de los casos, con peso y talla al nacimiento por debajo de -2 DE; retardo en el crecimiento postnatal, asimetría facial y/o corporal, macrocefalia relativa y un fenotipo facial distintivo que incluye: frontal prominente, cara triangular, comisuras labiales descendentes y micrognatia (Fig. 7 y Tabla 5) (Ounap, 2015).

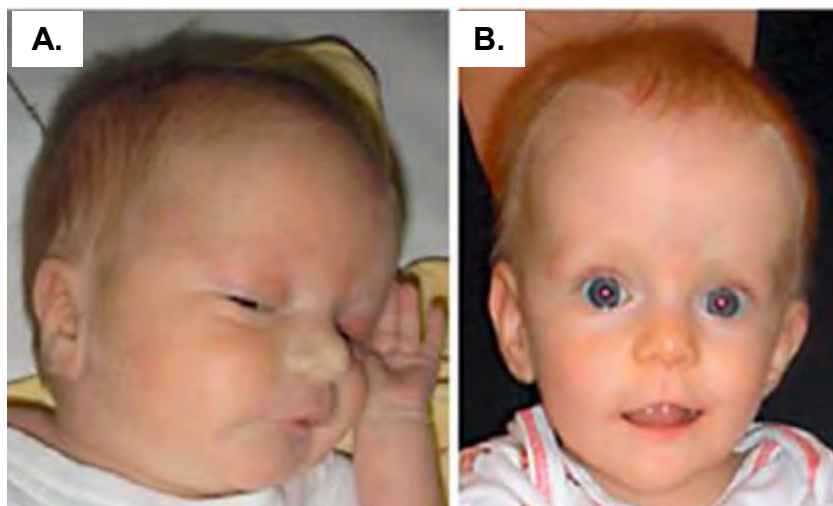


Figura 7. Paciente con Síndrome de Silver-Russell. A) Paciente femenino de una semana de edad. B) Misma paciente a los 7 meses de edad. Modificada de Ounap, 2015.

Tabla 5. Manifestaciones clínicas del Síndrome de Silver-Russell y su frecuencia. Modificada de Wakeling, et al., 2016.

MANIFESTACIÓN CLÍNICA	FRECUENCIA %
Cara triangular	94
Clinodactilia del 5 ^a dedo	75
Hoyuelos en hombros	66
Micrognatia	62
Masa muscular disminuida	56
Sudoración excesiva	54
Pabellones auriculares de implantación baja y/o en retroposición	49
Comisuras bucales descendentes	48
Voz aguda	45
Talones prominentes	44
Cierre retrasado de fontanelas	43
Alteraciones genitales	40
Retraso del lenguaje	40
Apiñamiento dental	37
Retraso en el desarrollo psicomotor	37
Sindactilia de orfejos	30
Hipoglucemia	22
Escoliosis o cifosis	18

El 86% de los pacientes con SSR presentan dificultades en la alimentación que puede manifestarse como imposibilidad para succionar, anorexia, aversión a la comida (32%), esofagitis (25%) o reflujo gastroesofágico (34%). Generalmente no presentan discapacidad intelectual pero el 34% puede cursar con retraso global del desarrollo, siendo la mayoría de los casos de gravedad moderada y puede no ser aparente hasta la infancia tardía (Ounap, 2015). La incidencia de la hipoglucemia se presenta hasta en el 27% de los pacientes, con una alta frecuencia de hipoglucemia nocturna asintomática (Wakeling, 2010).

Otras alteraciones menos frecuentes son los defectos en las extremidades, cardiacos, paladar hendido, genitourinarias y las alteraciones en el comportamiento.

1.4.2.2. Bases moleculares del Síndrome de Silver-Russell.

Se ha identificado una causa molecular en alrededor del 60% de los pacientes con diagnóstico clínico con SSR (Netchine, et. al., 2007) y aproximadamente en el 30-40% de los pacientes que presentan el fenotipo clásico no se ha identificado el mecanismo molecular causante de la enfermedad (Ounap, 2016).

El primer mecanismo que se describió para el SSR fue la disomía uniparental materna del cromosoma 7, presente en 5-10% de los casos. En la actualidad no se conoce la región específica en el cromosoma 7 que ocasiona esta enfermedad, sin embargo se conocen varios genes improntados en este cromosoma; entre ellos, los genes *GRB10* en 7p12 y *MEST* en 7q32.2 que podrían jugar un papel importante en el mecanismo molecular del SSR (Carrera, et al., 2016).

La hipometilación de ICR1 en el alelo paterno es el mecanismo molecular más frecuente en el SSR, encontrándose en 30-60% de los individuos afectados (Netchine, et. al., 2007). Los datos clínicos son resultado de la disminución de

la expresión de *IGF2* en el alelo paterno o de la sobreexpresión de *H19* en el alelo materno lo que provoca restricción en el crecimiento (Gicquel, et al., 2005). La hipometilación en el ICR1 puede ser incompleta, lo que puede dificultar la detección del SSR, por otra parte los patrones de metilación pueden variar entre tejidos y células; por lo que en algunos casos el diagnóstico molecular es negativo cuando se utiliza DNA de sangre periférica (Wakeling, et al., 2016).

Existen otros mecanismos que involucran a la secuencia de DNA: se han descrito mutaciones sin sentido en el gen *IGF2* de origen paterno asociadas con restricción del crecimiento intrauterino severo; mutaciones en la región potenciadora de *H19/IGF2*, duplicaciones maternas de la región 11p15 (1-2%) que involucran en su mayoría tanto al ICR1 como al ICR2 y que se relacionan con mayor frecuencia a hipoacusia; también se han encontrado duplicaciones parciales de solo el ICR1. Otras regiones implicadas en SSR incluyen: microdelección de 12q14, anillo del cromosoma 15 y delección 15qter (Nakashima, et al., 2015).

Entre las bases moleculares asociadas con poca frecuencia a SSR se han descrito CNV que involucran a la región 11p15.5 y el fenotipo depende del tamaño, localización y origen parental. Las alteraciones de la impronta en múltiples *loci* se han reportado en el 15-38% de los pacientes con SSR (Wakeling et al., 2016). La disomía uniparental materna del cromosoma 11 y las mutaciones en el gen *CDKN1C* se han reportado como casos únicos en la literatura (Brioude, et al., 2013; Bullman, et al., 2008).

1.4.2.3. Diagnóstico clínico del Síndrome de Silver-Russell.

Se han descrito 6 sistemas diagnósticos para el SSR, siendo los de Azzi y colaboradores los últimos actualizados en el año 2015 (Ounap, 2016). Este último sistema se conoce como Sistema de Clasificación Clínica de Netchine-Harbison y cuatro de sus seis criterios son objetivos, a diferencia del frontal abombado y la dificultad en la alimentación que son considerados subjetivos.

Presenta una sensibilidad del 98%, comparado con los sistemas previamente publicados y un valor predictivo negativo del 89%, dando un nivel de confianza alto de que los pacientes con menos de cuatro puntos no presentan esta entidad (Tabla 6) (Azzi, et al., 2015). El diagnóstico clínico se realiza asignando un punto a cada característica siendo positivo cuando hay más de cuatro puntos de los 6 totales.

Tabla 6. Criterios clínicos diagnósticos del Síndrome de Silver-Russell.

(Azzi, et al., 2015).

CRITERIOS DIAGNÓSTICOS

Peso y talla baja al nacimiento ≤ 2 DE

Talla ≤ 2 DE a partir de los 2 años de edad

Macrocefalia relativa al nacimiento

Asimetría facial, corporal y/o extremidades

Fenotipo facial clásico: frontal prominente, cara triangular, comisuras labiales descendentes, micrognatia o protrusión de la frente

Dificultad para alimentarse

1.4.2.4. Diagnóstico molecular del Síndrome de Silver-Russell.

Un estudio molecular positivo es útil para confirmar el diagnóstico clínico. Se debe analizar principalmente el estado de metilación de la región 11p15.5. Se propuso en el año 2016 por Wakeling y colaboradores un algoritmo diagnóstico para el SSR (Fig. 8), siendo el MS-MLPA el método más usado debido a su costo, efectividad y a que se pueden evaluar también las CNV.

Los patrones de metilación pueden variar dependiendo del tejido, y esto puede explicar los casos negativos al usar una muestra de sangre periférica. A pesar de que el MS-MLPA puede analizar el estado de metilación y las CNV, debe complementarse con estudio de microarreglos para caracterizar el tamaño y el contenido de genes de la región implicada en cada paciente (Wakeling, et al., 2016).

El estudio de primera línea puede incluir además el análisis de metilación de *GRB10* y *MEST* y de ser positivo puede complementarse con estudio para analizar microsatélites y confirmar la disomía uniparental. En caso de que los estudios previos sean negativos se debe realizar la búsqueda para alteraciones moleculares raras como las mutaciones en *CDKN1C* e *IGF2*, disomía uniparental materna de los cromosomas 20 o 16, así como análisis en otros tejidos para detectar mosaicismo somático (Wakeling, et al., 2016).

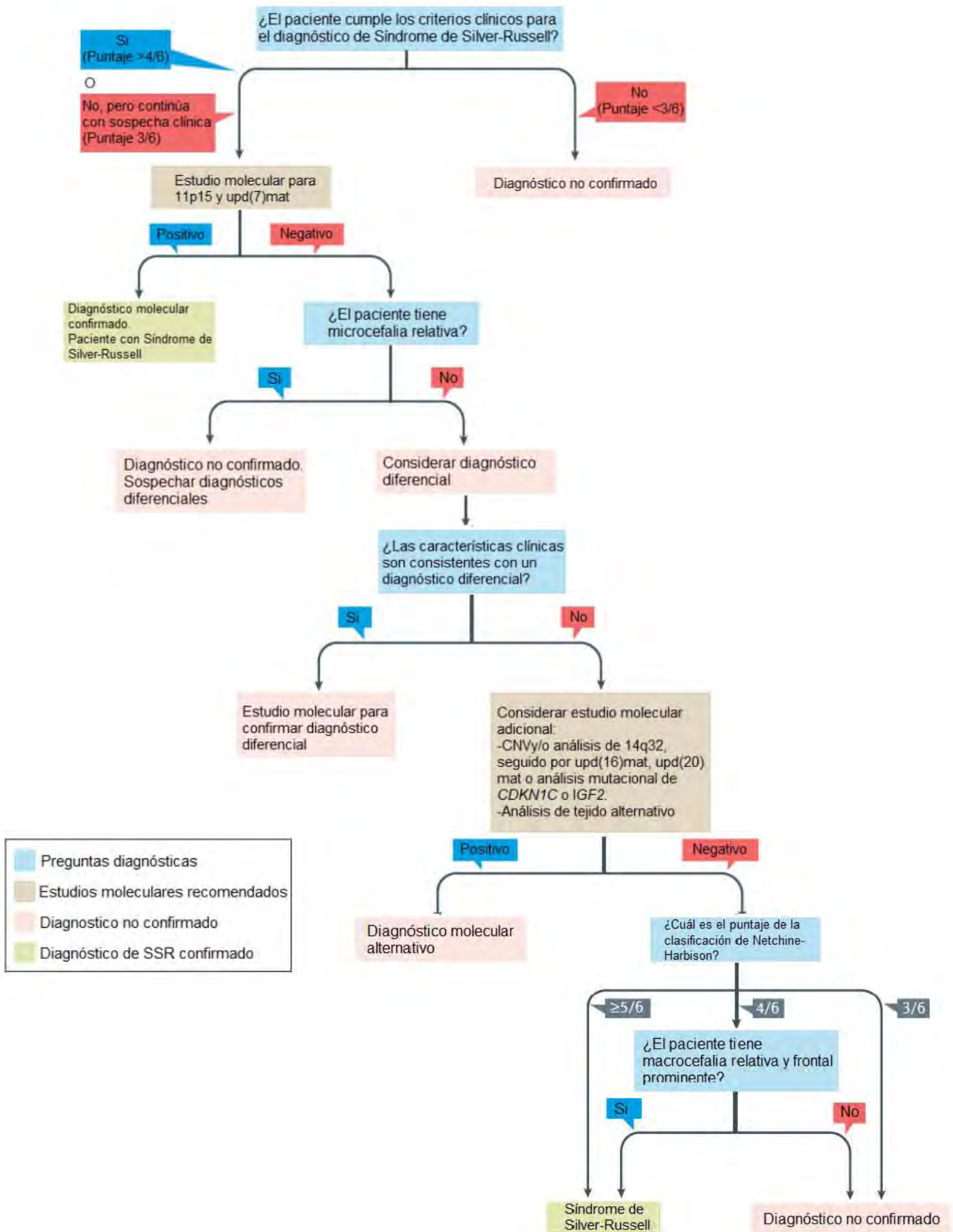


Figura 8. Algoritmo diagnóstico del Síndrome de Silver-Russell. Upd= disomía uniparental. Modificado de Wakeling, et al., 2016.

1.4.2.5. Manejo del Síndrome de Silver-Russell.

Los pacientes con SSR deben tener seguimiento por un equipo multidisciplinario. Debe darse tratamiento para disminuir los problemas gastrointestinales como el reflujo y el estreñimiento, así como la prevención de la hipoglucemia (Wakeling, et al., 2016). Se recomienda el tratamiento con hormona del crecimiento a partir de los 2-4 años de edad para mejorar la composición corporal, el desarrollo psicomotor y favorecer la velocidad de crecimiento (Schweizer, et al., 2008).

En la edad adulta deben descartarse enfermedades crónico-degenerativas como la hipertensión, dislipidemia, resistencia a la insulina, obesidad y enfermedad coronaria (Wakeling, et al., 2016). Deben mantener seguimiento con un ortopedista para manejo de la discrepancia entre miembros pélvicos, escoliosis y asimetría corporal. En caso de que coexistan alteraciones en otros sistemas, es importante enviar con el especialista respectivo para dar un tratamiento adecuado y lograr mejorar la calidad de vida.

1.4.3. Hemihiperplasia Aislada.

La hemihiperplasia, también conocida como “hemihipertrofia”, es un defecto congénito caracterizado por el sobrecrecimiento asimétrico de las extremidades, tronco, cara o del cuerpo completo. La asimetría puede deberse a proliferación del tejido esquelético, tejidos blandos y/o visceromegalias y puede presentarse junto con escoliosis, defectos del pigmento, obesidad, sindactilia, hipermovilidad articular, discapacidad intelectual y tumores embrionarios (Clericuzio, 2009).

La hemihiperplasia tiene causas heterogéneas y cuando se encuentra de forma aislada se conoce como hemihiperplasia aislada idiopática (MIM 23500). Tiene una incidencia de 1/13,000 a 1/86,000 recién nacidos vivos (Hoyme, et al. 1998).

1.4.3.1. Manifestaciones clínicas de la hemihiperplasia aislada.

Los pacientes con hemihiperplasia aislada pueden tener sobrecrecimiento de un segmento corporal o de todo el cuerpo y adicionalmente tienen un riesgo incrementado de presentar tumores embrionarios (5.9%) comparados con la incidencia en la población general (0.17%) (Bliek, et al., 2008). Hoyme y colaboradores en 1998 realizaron un estudio donde se siguió a 168 pacientes con diagnóstico de hemihiperplasia aislada durante 10 años y se reportaron 10 tumores en 9 individuos (seis tumores de Wilms, un hepatoblastoma, dos carcinomas adrenales y un leiomiomasarcoma de intestino delgado) (Hoyme, et al., 1998).

La hemihiperplasia aislada también se ha asociado a espongirosis medular renal que es una malformación benigna poco frecuente que se mantiene subclínica hasta que existen complicaciones como litos renales o infecciones de vías urinarias de repetición. La prevalencia de la espongirosis medular renal y la hemihiperplasia es desconocida pero se estima en alrededor del 5-10% (Priyamvada, et al., 2014).

1.4.3.2. Bases moleculares de la hemihiperplasia aislada.

La causa genética de la hemihiperplasia aislada fue descrita por Martin, et al. en el año 2005. En 8 de 27 pacientes (30%) con hemihiperplasia aislada se encontraron perfiles de metilación anormal en los genes *KCNQ10T1* y *H19* de la región 11p15.5 (Martin, et al., 2005). En aproximadamente el 80% de los pacientes con hemihiperplasia aislada no se encuentra una alteración molecular, el 16% presentan disomía uniparental del cromosoma 11, y 6 % tienen hipometilación materna del ICR2 y 3% hipermetilación en el ICR1 (Niemitz, et al., 2005; Shuman, et al., 2006). Los disomía uniparental del cromosoma 11 por lo general se presenta en forma de mosaico y el sobrecrecimiento de órganos en los pacientes es consistente con una mayor proporción de células disómicas (Bliek, et al., 2008).

1.4.3.3. Diagnóstico clínico de la hemihiperplasia aislada.

Hoyme y colaboradores propusieron en 1998 una clasificación anatómica para la hemihiperplasia aislada, la cual se dividió en hemihiperplasia compleja, cuando estaba involucrada la mitad del cuerpo incluyendo al menos un brazo y una pierna, pudiendo afectar el lado contralateral o ipsilateral; y simple cuando involucra solo la cara o una extremidad (Hoyme, et al., 1998).

En el año 2018 se realizó un consenso internacional donde se consideró a la hemihiperplasia aislada como el grado mínimo dentro de las manifestaciones del espectro de Beckwith-Wiedemann debido a que las bases moleculares son concordantes con esta entidad (Brioude, et al., 2018).

En la evaluación de los pacientes con hemihiperplasia es importante poner especial atención en otros datos que nos puedan sugerir alguna entidad sindrómica. Algunos de los síndromes genéticos que cursan con este tipo de sobrecrecimiento son el síndrome de Proteus (MIM 176920), síndrome de Sotos (MIM 117550), Neurofibromatosis tipo 1 (MIM 162200), síndrome de Maffucci (MIM 614569), y síndrome de McCune-Albright (MIM 174800), entre otros.

1.4.3.4. Manejo de la hemihiperplasia aislada.

Debe considerarse el manejo médico de la hemihiperplasia aislada cuando existe disimetría de miembros que altera la función y afecta la calidad de vida de los pacientes. Debido a que se considera a la hemihiperplasia aislada como un grado mínimo de expresión del espectro de Beckwith-Wiedemann, se recomienda seguir las guías para realizar diagnóstico molecular, dar manejo a los problemas ortopédicos y establecer la vigilancia para detectar tumores embrionarios (Brioude, et al., 2018).

1.5. Fundamento del análisis del patrón de metilación de la región 11p15.5 por amplificación de sondas ligadas múltiples sensible a metilación (MS-MLPA).

El análisis por amplificación de sondas dependiente de sondas múltiples ligadas sensible a metilación o MS-MLPA por sus siglas en inglés, es una técnica de biología molecular semi-cuantitativa para determinar el perfil de metilación de una región. Es una variante del MLPA en la que la detección del número de copias se combina con una enzima de restricción sensible a metilación. La técnica se basa en una primera reacción de unión-ligación de sondas complementarias a la zona de interés y sólo las sondas adyacentes que hayan hibridado con el DNA a analizar podrán ser ligadas y posteriormente amplificadas por PCR (MS-MLPA protocolo versión MSP-v006, 2016).

Cada *locus* amplificable por PCR es reconocido por dos sondas, cada una de las cuales contiene la mitad de la secuencia blanco y uno de los dos cebadores necesarios para la amplificación; una de ellas contiene además un fragmento variable en tamaño que permitirá la identificación del amplicón en la electroforesis en capilar. La técnica de MLPA utiliza un único par de cebadores para amplificar todas las sondas ligadas (Fig. 9).

Los cinco pasos de la técnica son:

- 1) Desnaturalización del DNA e hibridación con las sondas: las dos sondas para un *locus* son hibridadas con secuencias adyacentes.
- 2) Reacción de ligación: únicamente cuando las 2 sondas se encuentren hibridadas correctamente podrán ser ligadas.
- 3) Reacción de PCR.
- 4) Separación de los productos de amplificación por electroforesis: los productos amplificados generan fragmentos de longitud variable que son separados por electroforesis capilar y analizados en un secuenciador automático.
- 5) Análisis de datos.

En la técnica de MLPA sensible a metilación se diseñan sondas que tienen como blanco secuencias de DNA que contienen sitios de reconocimiento y corte para una enzima de restricción sensible a metilación (*HhaI*). En esta modalidad de la técnica de MLPA, la reacción de hibridación con las sondas se divide en 2 partes: una se procesa como una reacción de MLPA habitual y la otra se trata con la enzima *HhaI*. Cuando las sondas se unen a un blanco de DNA no metilado, las sondas serán ligadas y digeridas en forma simultánea por la enzima de restricción por lo que no generará una sonda ligada para ser amplificada. En cambio, cuando se encuentra metilada la secuencia blanco, el grupo metilo previene la digestión por la enzima y las sondas ligadas podrán ser amplificadas durante la PCR resultando en un pico señal (MS-MLPA protocolo versión MSP-v006, 2016).



Figura 9. Reacción de MLPA. (MS-MLPA protocolo versión MSP-v006, 2016).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La epigenética se refiere a los cambios que modifican la expresión génica sin involucrar cambios en la secuencia de DNA e incluye al concepto de impronta genómica que se refiere a la expresión de los genes dependiendo del progenitor del que han sido heredados. Los pacientes con los diagnósticos de síndrome de Beckwith-Wiedemann, síndrome de Silver-Russell y hemihiperplasia aislada tienen en común entre algunas de sus causas las alteraciones de la impronta la región 11p15.5, la cual contiene dos regiones de control de impronta. La hipermetilación o hipometilación ocasionan alteraciones en la expresión de los genes en esta región.

3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuáles son y qué frecuencia tienen las características clínicas en una cohorte de pacientes pediátricos con enfermedades por alteraciones en la impronta en la región 11p15.5 diagnosticados en el Hospital Infantil de México Federico Gómez?

4. JUSTIFICACIÓN

El Hospital Infantil de México Federico Gómez es un hospital de tercer nivel de atención al que acude un gran número de pacientes con enfermedades genéticas. En nuestra institución no se ha estudiado la relación de las características clínicas presentes con el genotipo de pacientes con los diagnósticos de síndromes de Beckwith-Wiedemann, de Silver-Russell, y hemihiperplasia aislada que tienen en común entre algunas de sus causas las alteraciones de la impronta de la región 11p15.5. Identificar estos mecanismos es importante, ya que permite definir cuáles individuos tienen un riesgo más elevado de presentar neoplasias y aporta conocimiento sobre las características de los pacientes con estas enfermedades en nuestra población.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo General.

Describir el tipo y la frecuencia de las características clínicas de una cohorte de pacientes pediátricos con síndrome de Beckwith-Wiedemann, síndrome de Silver-Russell y hemihiperplasia aislada, y su relación con el perfil de las alteraciones de la impronta de la región 11p15.5 identificadas por MS-MLPA.

5.2. Objetivos Específicos.

- Identificar las características clínicas y su frecuencia en los pacientes con Síndrome de Beckwith-Wiedemann.
- Determinar las alteraciones de la impronta de la región 11p15.5 que presentan los pacientes con el Síndrome de Beckwith-Wiedemann.
- Identificar las características clínicas y su frecuencia en los pacientes con Síndrome de Silver-Russell.
- Determinar las alteraciones de la impronta de la región 11p15.5 que presentan los pacientes con el Síndrome de Silver-Russell.
- Identificar las características clínicas y su frecuencia en los pacientes con Hemihiperplasia Aislada.
- Determinar las alteraciones de la impronta de la región 11p15.5 que presentan los pacientes con Hemihiperplasia Aislada.
- Comparar con la literatura las características clínicas, su frecuencia y el tipo de alteración de la impronta de la región 11p15.5 encontrados en cada grupo.

6. MATERIAL Y MÉTODOS.

Esta tesis fue parte del protocolo de investigación titulado “Determinación de las variantes en el patrón de impronta genómica en la región 11p15.5 en patologías pediátricas tipo síndrome de Silver Russell o de Beckwith Wiedemann, Tumor de Wilms y hemihiperplasia”, el cual cuenta con el registro HIM 2017/033, y fue autorizado por la Dirección de investigación del HIMFG. En este estudio se identificaron los pacientes con los diagnósticos clínicos mencionados quienes acudieron a la consulta de Genética del Hospital Infantil de México Federico Gómez de julio de 2017 a marzo de 2018 por búsqueda retrospectiva en el Archivo Clínico.

6.1. Tipo de estudio.

Prospectivo, observacional y transversal.

6.2. Tamaño de la muestra.

Tamaño de muestra por conveniencia. Se incluyeron 11 pacientes con diagnóstico clínico de síndrome de Beckwith-Wiedemann, 8 pacientes con síndrome de Silver-Russell y 9 pacientes con hemihiperplasia aislada.

6.3. Criterios de selección.

6.3.1. Criterios de Inclusión.

1. Pacientes que cumplan los criterios de Ibrahim y colaboradores para diagnóstico clínico de Síndrome de Beckwith-Wiedemann.
2. Pacientes que cumplan lo criterios de Azzi y colaboradores para diagnóstico clínico de Síndrome de Silver-Russell.
3. Pacientes con hemihiperplasia aislada izquierda o derecha.
4. Edad desde recién nacido hasta los 18 años.
5. Cariotipo con técnica de bandas GTG.

6.3.2. Criterios de exclusión.

1. Paciente que no acepte participar en el estudio.

2. Paciente que no cumpla con los criterios para diagnóstico clínico de Síndrome de Beckwith-Wiedemann, Síndrome de Silver Russell o hemihiperplasia aislada.
3. Paciente que ya cuente con estudio molecular y con análisis de metilación de la región 11p15.5 previo a la realización de este protocolo.

6.3.3. Criterios de eliminación.

1. Paciente que decida retirarse del estudio.
2. Muestras sanguíneas o de DNA insuficientes en calidad o cantidad para realizar el análisis molecular.

6.4. Evaluación clínica de los pacientes.

Se realizó la evaluación clínica cuidadosa de los pacientes para determinar si cumplían con los criterios establecidos para el diagnóstico del síndrome de Beckwith-Wiedemann, el síndrome de Silver-Russell o la hemihiperplasia aislada. Se realizaron las evaluaciones correspondientes según el caso: estudio radiológicos, ultrasonido abdominal, medición de segmentos, valoración multidisciplinaria, entre otros. La información clínica se recogió en la hoja de recolección de datos (Anexo I).

6.5. Análisis moleculares por MS-MLPA.

A los pacientes se les realizó análisis de amplificación dependiente de sondas múltiples ligadas sensible a metilación o MS-MLPA por sus siglas en inglés, para determinar las alteraciones de la impronta de la región 11p15.5 (Anexo II). Estos estudios fueron realizados en el Laboratorio de Diagnóstico Genómico del Instituto Nacional de Medicina Genómica en colaboración por la Dra. Carmen Alaez Versón y Lic. Marco Jiménez.

7. CONSIDERACIONES ÉTICAS

Este estudio fue aprobado por los Comités de Investigación, ética y bioseguridad de las Instituciones participantes con registro HIM 2017/033. Los pacientes fueron invitados a participar y se contó con carta de consentimiento informado (Anexo III) aprobada por la institución para participación, toma de muestra sanguínea y de fotografías clínicas (Anexo IV).

8. RESULTADOS

A continuación se describen los hallazgos clínicos y moleculares en cada grupo de pacientes.

Resultados clínicos y moleculares de los pacientes con Síndrome de Beckwith-Wiedemann.

Se identificaron 11 pacientes con diagnóstico clínico de síndrome de Beckwith-Wiedemann. El género de los pacientes fueron 7 masculinos y 4 femeninos, con un rango de edad entre los 3 meses y los 15 años (Tabla 7).

Tabla 7. Distribución de pacientes con Síndrome de Beckwith-Wiedemann por edad y sexo.

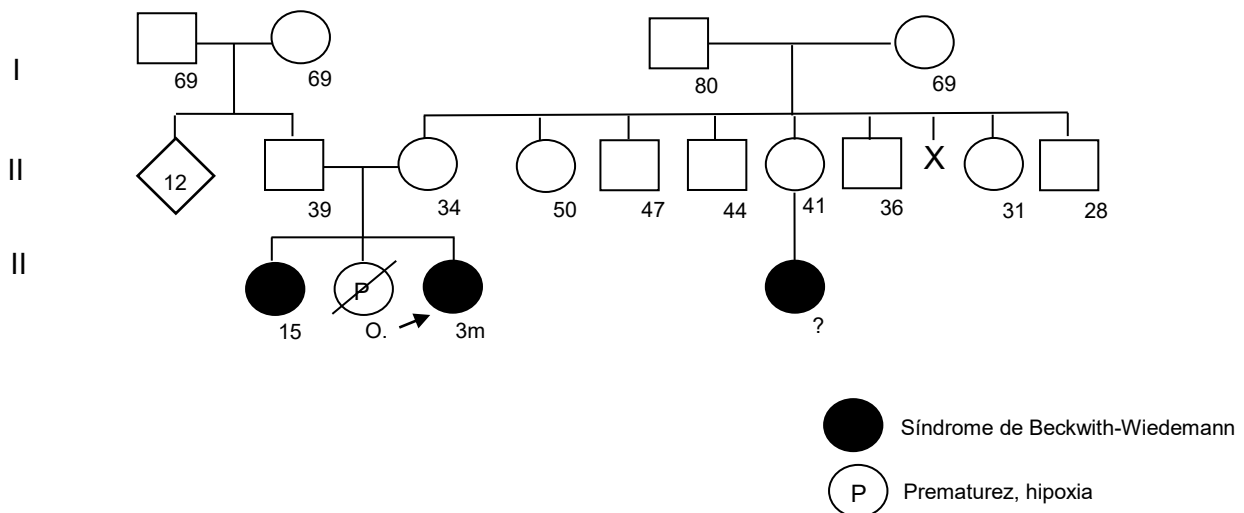
Edades	Frecuencia	Masculinos	Femeninos
<1 año	2 (18.2%)	1	1
1-3 años	1 (9%)	1	0
4-6 años	4 (36.4%)	1	3
7-9 años	2 (18.2%)	2	0
10-12 años	0	0	0
13-15 años	2 (18.2%)	2	0
Total	11	7 (64%)	4 (36%)

Los criterios diagnósticos utilizados para la muestra de pacientes con SBW fueron los criterios propuestos por Ibrahim y colaboradores (Ibrahim, et al., 2014). A continuación se describen los casos clínicos de los pacientes con SBW.

CASO 1.

Femenino de 3 meses de edad, hija de padres jóvenes, no consanguíneos, originaria de la ciudad de México. Producto de la tercera gesta, madre acudió a 1 consulta de control prenatal y se realizó 7 USG (2º. con reporte de onfalocele). Refiere infección de vías urinarias en el 6º mes de embarazo tratado con azitromicina. Fue obtenida vía abdominal a las 38 SDG por antecedente de diagnóstico de onfalocele con peso de 3980 gramos (p>95), talla 52 cm (p90) Al nacimiento se evidenció hernia umbilical, macrosomía y por USG se diagnosticó ambos riñones aumentados de tamaño con predominio derecho y hepatomegalia a expensas de lóbulo izquierdo. A la E.F a los 3 meses de edad con peso de 6.940 kg (p>95), talla de 66 cm (p>95) y PC de 42 cm (p90). Cráneo con tendencia a la dolicocefalia, *naevus flammeus*, ojos prominentes, macroglosia, hendiduras en lóbulos y hoyuelos (pits) retrauriculares (Fig.10). Se realizó revisión clínica, no se realizó estudio molecular.

ÁRBOL GENEALÓGICO



FOTOGRAFÍAS CLÍNICAS

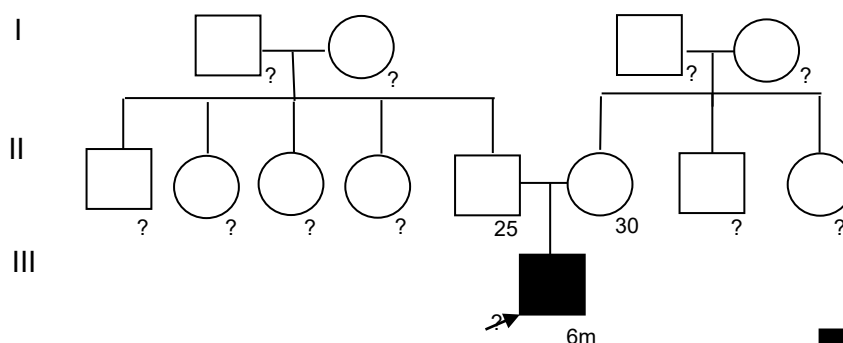


Figura 10. Fotografías clínicas del paciente 1 con SBW. A) Hernia umbilical. B) Nevus flammeus, ojos prominentes, macroglosia. C) Cráneo con tendencia a la dolicocefalia, hendiduras en lóbulo, tendencia a mantener la boca abierta secundaria a macroglosia.

CASO 2.

Masculino de 6 meses de edad. Producto de 1 gesta de padres jóvenes, no consanguíneos. Diagnóstico de polihidramnios en el 4to. mes de gestación. Obtenido vía abdominal a las 34 SDG con peso de 3140g (p>95), talla de 49 cm (p>95), se detectó macroglosia al nacimiento. A la E.F. a los 3 meses de edad con peso de 5.665 kg (p50), talla de 60 cm (p50) y PC 40 cm (p25-50). Cráneo con tendencia a la dolicocefalia, *naevus flammeus*, pabellones auriculares de adecuada implantación sin hoyuelos (pits) o hendiduras en lóbulos, macroglosia, hernia umbilical de 2x2 cm, hemihiperplasia facio-corporal izquierda. Se realizó revisión clínica y estudio molecular, no se autorizó la toma de fotografías clínicas.

ÁRBOL GENEALÓGICO

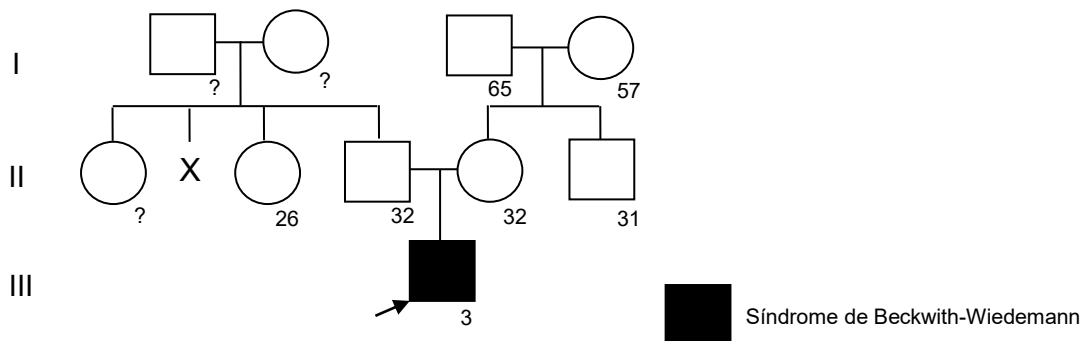


 Síndrome de Beckwith-Wiedemann

CASO 3.

Masculino de 3 años de edad. Producto de primera gesta de padres jóvenes no consanguíneos, se detectó por ultrasonido defecto de pared abdominal a las 12 semanas de gestación. Amniocentesis con cariotipo 46,XY, se diagnosticó biabetes gestacional en la semana 18 que fue tratada con metformina y dieta. Obtenido vía abdominal a las 38 SDG con peso de 3300 g (p50-75) talla de 50 cm (p50) y fue trasladado a HIMFG para corrección de onfalocele e hipoglicemias. Post operado (PO) de orquiectomía izquierda y orquidopexia derecha a los 2 años de edad. PO corrección de polidactilia postaxial en pie derecho. A la E.F. a los 3 años de edad con peso de 18.800 kg (p>95), talla 107 cm (p>95) y PC de 49 cm (p50). Cráneo con tendencia a la dolicocefalia, *naevus flammeus*, labios gruesos, tendencia a mantener la boca abierta, macroglosia, hendiduras en lóbulos y hoyuelos (pits) retroauriculares (Fig. 11), cicatriz infraumbilical, extremidades simétricas. Se realizó revisión clínica, toma de fotografías y estudio molecular.

ÁRBOL GENEALÓGICO



FOTOGRAFÍAS CLÍNICAS

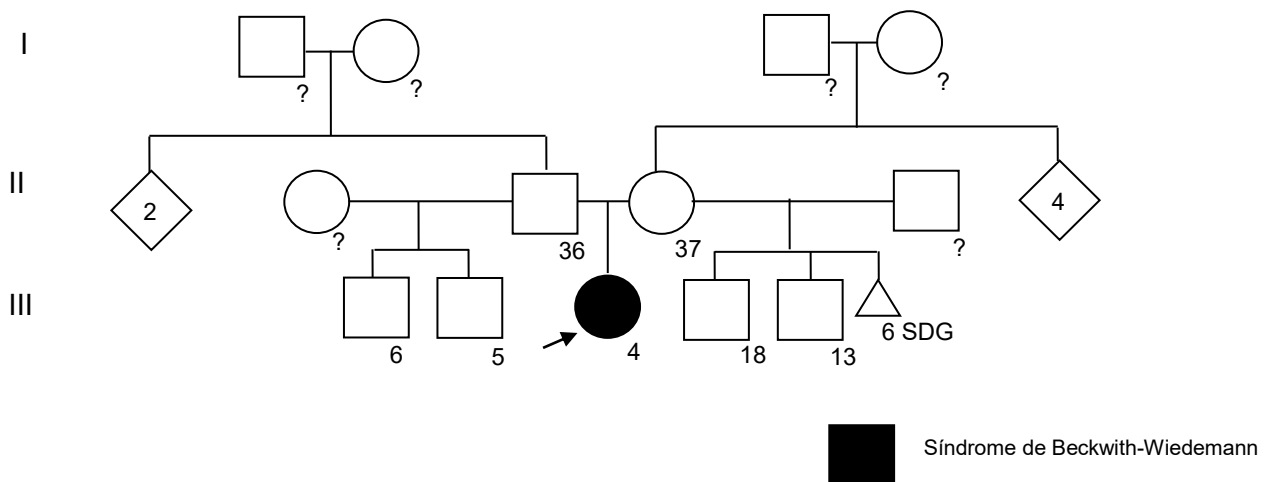


Figura 11. Fotografías clínicas de paciente 3 con SBW. A) Naevus flammeus y ojos prominentes. B) Cráneo con tendencia a la dolicocefalia. C) Hendiduras en lóbulo.

CASO 4.

Femenino de 4 años de edad. Producto de cuarta gesta de padres jóvenes no consanguíneos. Madre refiere consumo de alcohol y tabaco en 2 ocasiones antes de percepción del embarazo al tercer mes. Embarazo normoevolutivo acudió a 3 consultas de control prenatal y 1 USG. Obtenida vía vaginal aproximadamente a las 32 semanas de gestación con peso de 3000g (p>95), talla de 49 cm (p>95). Presentó macroglosia y hernia umbilical desde el nacimiento y se diagnosticó hepatoblastoma a los 2 años de vida. A la E.F a los 4 años de edad con peso de 19.600 kg (p90) talla de 104 cm (p90) y PC de 51 cm (p95). Cráneo con tendencia a la dolicocefalia, perfil facial plano, macroglosia, pit retroauricular derecho y cicatriz en línea media (Fig. 12). Se realizó revisión clínica y toma de fotografías, no se llevó a cabo estudio molecular.

ÁRBOL GENEALÓGICO



FOTOGRAFÍAS CLÍNICAS

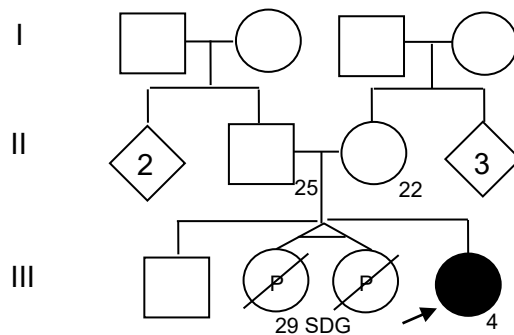


Figura 12. Fotografías clínicas de paciente 4 con SBW. A) Macroglosia. B) Perfil facial plano. C) Pit retroauricular derecho.

CASO 5.

Femenino de 4 años de edad. Producto de tercera gesta de padres jóvenes, no consanguíneos, antecedente de dos hijas finadas a las 29 semanas de gestación por prematuridad. Se realizó diagnóstico de macrosomía y polihidramnios mediante USG obstétrico; madre cursó con hipertensión gestacional. Obtenida vía abdominal a las 36 semanas de gestación con peso de 3374g (p>95) y talla de 52 cm (p95), presentó hipoglicemia neonatal y alteración de la mecánica de la deglución. Requirió hospitalización a los 12 días de vida por obstrucción de vía aérea secundaria a macroglosia. A la E.F a los 4 años de edad con peso de 20,900 kg (p>95), talla de 117 cm (p>95) y PC de 50 cm (p95). Cráneo con tendencia a la dolicocefalia, *naevus flammeus*, macroglosia y hoyuelos retroauriculares. Se realizó revisión clínica y estudio molecular. No se aceptó la toma de fotografías clínicas.

ÁRBOL GENEALÓGICO

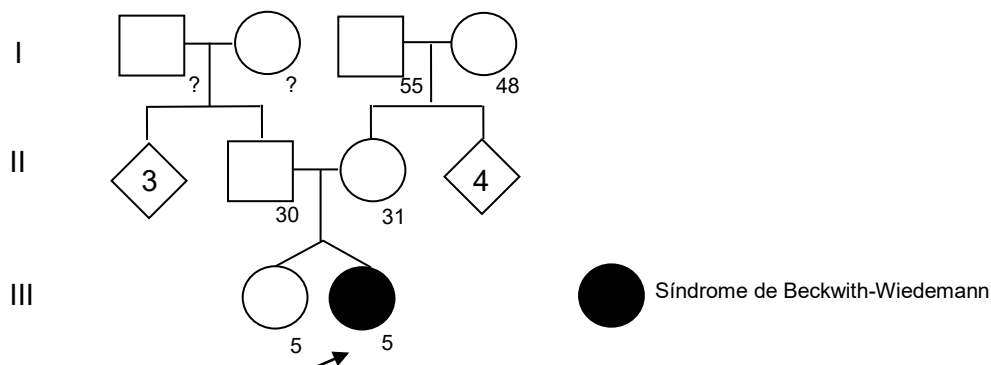


Síndrome de Beckwith-Wiedemann

CASO 6.

Femenino de 5 años de edad, hija de padres jóvenes, no consanguíneos. Producto de primera gesta de embarazo gemelar dicigótico. Se reportó defecto de pared abdominal en semana 20 de embarazo, por lo que acudió a 20 consultas de control prenatal. Obtenida vía abdominal por preeclampsia a las 38 semanas de gestación, peso de 2440g (p10), talla de 54 cm (p>95), se diagnosticó onfalocele al nacimiento. PO de plastia de pared y de hernioplastia umbilical por hernia umbilical recidivante. A la E.F. con a los 5 años de edad peso de 19.700 kg (p50), talla de 116 cm (p95) y 48 cm (p50), asimetría facial leve, se observa *naevus flammeus*, ojos prominentes, hoyuelos en región malar, macroglosia, hendiduras en lóbulos (Fig. 13). USG abdomen sin alteraciones. Se realizó revisión clínica, toma de fotografías y toma de sangre para estudio molecular.

ÁRBOL GENEALÓGICO



FOTOGRAFÍAS CLÍNICAS

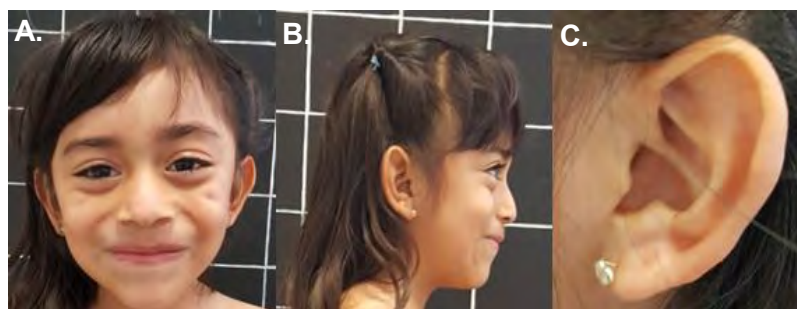
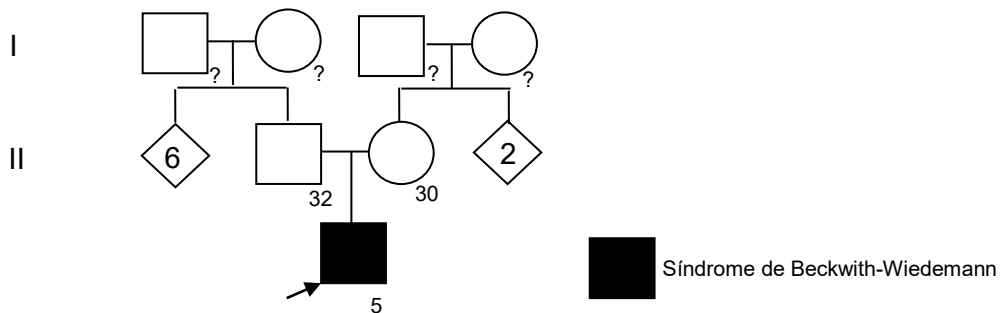


Figura 13. Fotografías clínicas de paciente 6 con SBW. A) *Naevus flammeus*, ojos prominentes, hoyuelos en región malar. B) Perfil facial plano con adecuada implantación de pabellones auriculares. C) Hendidura en lóbulo.

CASO 7.

Masculino de 5 años de edad. Producto de única gesta de padres jóvenes, no consanguíneos. Acudió a 15 consultas de control prenatal, 10 USG obstétricos con diagnóstico de polihidramnios, hidronefrosis y protrusión de la lengua en USG obstétrico en el 4° mes de embarazo. Presentó amenaza de aborto en 2º. mes de embarazo (se desconoce tratamiento). Obtenido vía abdominal a las 36 semanas de gestación con peso de 4250g (p>95), talla de 53 cm (p>95). Presentó crisis convulsivas al nacimiento secundarias a hipoglicemia severa por lo que se mantuvo 10 días en hospitalización. PO de corrección de macroglosia. A la E.F. a los 5 años de edad con peso de 22.200 kg (p95), talla de 115 cm (p90) PC de 52 cm (p90). Cráneo con tendencia a la dolicocefalia, asimetría facial, tendencia a mantener la boca abierta, macroglosia, pabellones auriculares de adecuada implantación con hoyuelos (pits) retroauriculares bilaterales (Fig.14). Abdomen con hernia umbilical y hemihiperplasia izquierda corporal. USG de abdomen con nefromegalia derecha. Se realizó revisión clínica, toma de fotografías y toma de sangre para estudio molecular.

ÁRBOL GENEALÓGICO



FOTOGRAFÍAS CLÍNICAS

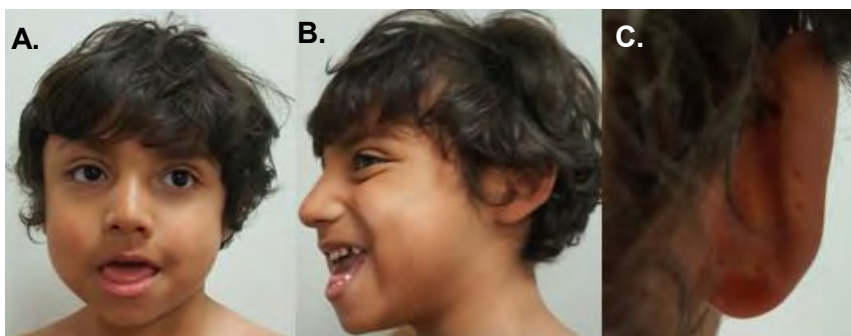
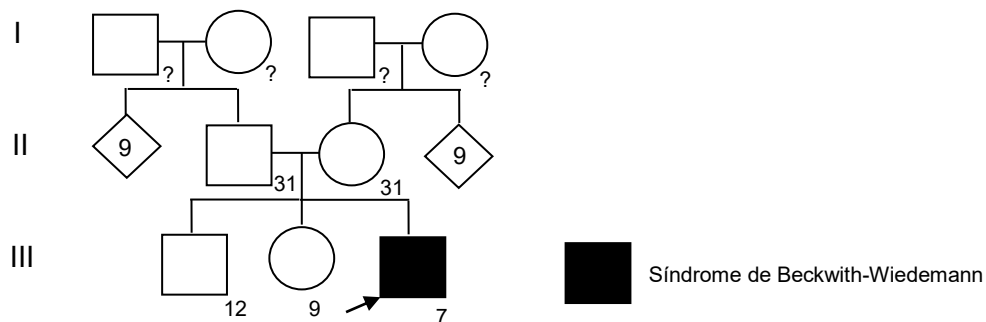


Figura 14. Fotografías clínicas de paciente 7 con SBW. A) Macrogllosia. B) Cráneo con tendencia a la dolicocefalia. C) Pits retroauriculares.

CASO 8.

Masculino de 7 años de edad. Producto de tercera gesta de padres jóvenes, no consanguíneos. Acudió a 6 consultas de control prenatal y se realizó 6 USG donde se diagnosticó nefromegalia en 4° mes de gestación. Presentó amenaza de aborto en 3° mes (se desconoce tratamiento). Obtenido vía abdominal a término (se desconocen semanas de gestación) por macrosomía, peso de 4650g (p>95), talla de 52 cm (p90). Presentó macroglosia e hipoglicemia recurrentes y criptorquidia bilateral en etapa neonatal. PO de orquidopexia bilateral. A la E.F. a los 6 años 11 meses de edad presentó peso de 28.800 kg (p90), talla 128 cm (p90) y PC 51.2 cm (p50). Cráneo con tendencia a la dolicocefalia, fisuras palpebrales horizontalizadas con euriblefarón bilateral, labios gruesos, pabellones auriculares de adecuada implantación, con hendiduras en lóbulos bilateral (Fig. 15). Abdomen con hernia umbilical, hemihiperplasia derecha a expensas de miembros pélvicos. USG abdomen con reporte de nefromegalia, hepatomegalia. Se realizó revisión clínica, toma de fotografías y toma de sangre para estudio molecular.

ÁRBOL GENEALÓGICO



FOTOGRAFÍAS CLÍNICAS

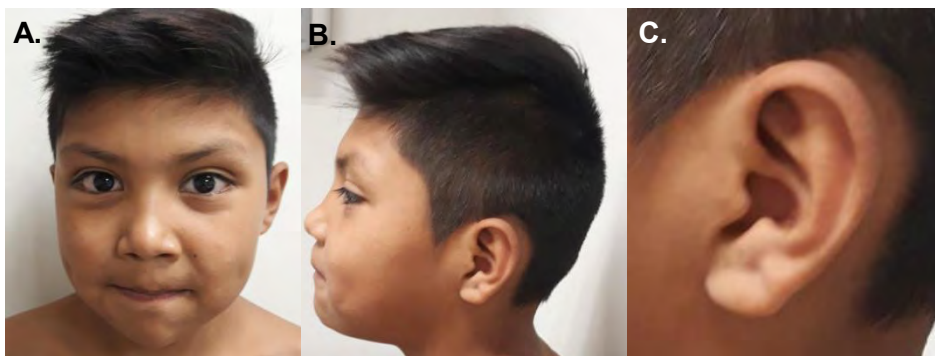
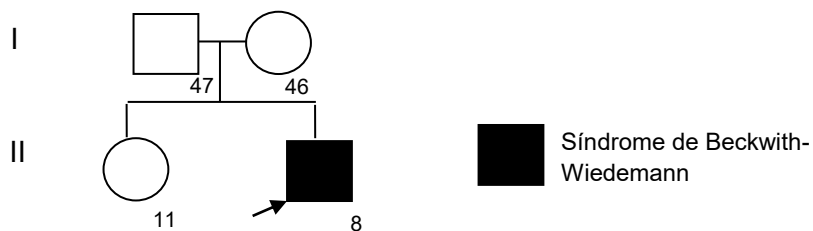


Figura 15. Fotografías clínicas de paciente 8 con SBW. A) Fisuras palpebrales largas con euriblefarón, ojos prominentes. B) Cráneo con tendencia a la dolicocefalia. C) Hendidura en lóbulo.

CASO 9.

Masculino de 8 años de edad. Producto de segunda gesta de padres jóvenes, no consanguíneos. Embarazo normoevolutivo con adecuado control prenatal. Obtenido vía abdominal a las 38 semanas de gestación con peso de 3300g (p50-95), talla 50 cm (p50-95), se identificó hernia umbilical y macroglosia al nacimiento. A la E.F. a los 8 años de edad con peso de 26,500 kg (p75), talla de 126 cm (p50) y PC 52.5 (P50). Cráneo con tendencia a la braquicefalia, naevus flammeus, macroglosia, hoyuelos retroauriculares. Abdomen con hernia umbilical pequeña, asimetría de miembros pélvicos a expensas de pierna izquierda. USG abdominal sin alteraciones. Se realizó revisión clínica y toma de sangre para estudio molecular. No se autorizó toma de fotografías clínicas.

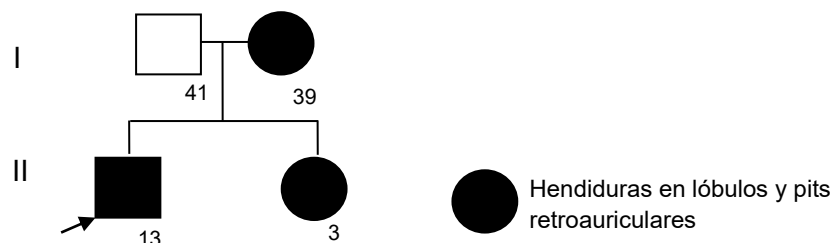
ÁRBOL GENEALÓGICO



CASO 10.

Masculino de 13 años de edad. Producto de primera gesta de padres jóvenes, no consanguíneos. Adecuado control prenatal con 7 consultas y 7 USG obstétricos reportados normales. Infecciones de vías urinarias de repetición. Amenaza de aborto en 3° mes del embarazo. Obtenido vía abdominal a las 37 SDG por sufrimiento fetal con peso de 3985g ($p > 95$), talla de 53 cm ($p > 95$), presentó hipoglicemia al nacimiento e hiperbilirrubinemia que requirió baños de sol. PO de resección de adenoides a los 3 años de edad. A la E.F a los 13 años con peso de 39.400 kg (p_{25}), talla de 160 cm (p_{75}) y PC 54.5 (p_{59-95}) con cráneo con tendencia a la dolicocefalia, fisuras palpebrales largas, boca grande, labios gruesos, macroglosia, hendiduras en lóbulos (Fig. 16), hoyuelos (pits) retroauriculares y asimetría torácica, extremidades íntegras. USG abdomen sin alteraciones. Se realizó revisión clínica, toma de fotografías y toma de sangre para estudio molecular.

ÁRBOL GENEALÓGICO



FOTOGRAFÍAS CLÍNICAS

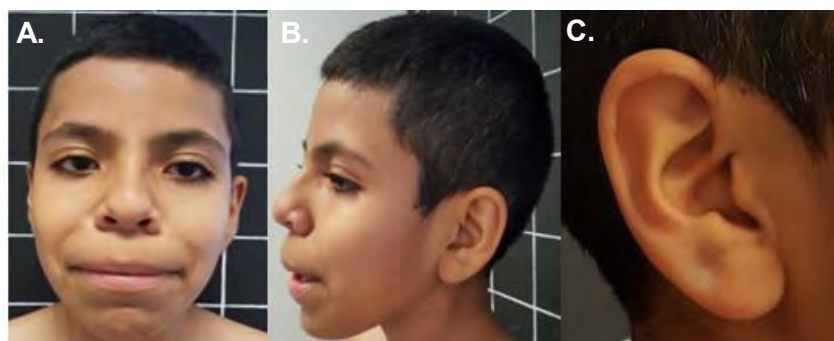
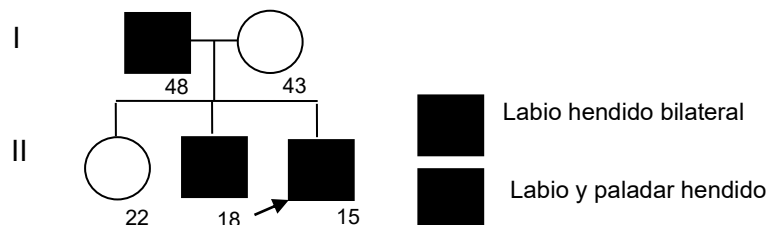


Figura 16. Fotografías clínicas de paciente 10 con SBW. A) Fisuras palpebrales largas, boca grande, labios gruesos. B) Cráneo con tendencia a la dolicocefalia. C) Hendidura en lóbulo.

CASO 11.

Masculino de 15 años de edad. Padre con antecedente de labio hendido bilateral. Producto de tercera gesta de padres jóvenes, no consanguíneos. Embarazo normoevolutivo con adecuado control prenatal. Obtenido a las 40 semanas de gestación con peso de 4200g (p>95) y talla de 59 cm (p>95), presentó hipoglucemia. PO por divertículo de Meckel y duplicación intestinal a los 4 años de edad. A la E.F. a los 15 años de edad con peso de 83.500 kg (p>95), talla de 179 cm (p90) y PC de 56 cm (p90) con cráneo con tendencia a la dolicocefalia, labios gruesos, macroglosia, hendiduras en lóbulos (Fig. 17), hemihiperplasia de miembros pélvicos a expensas de miembro izquierdo y criptorquidia bilateral. Se realizó USG con reporte de hipoplasia renal derecha. Se realizó revisión clínica, toma de fotografías y toma de sangre para estudio molecular.

ÁRBOL GENEALÓGICO



FOTOGRAFÍAS CLÍNICAS

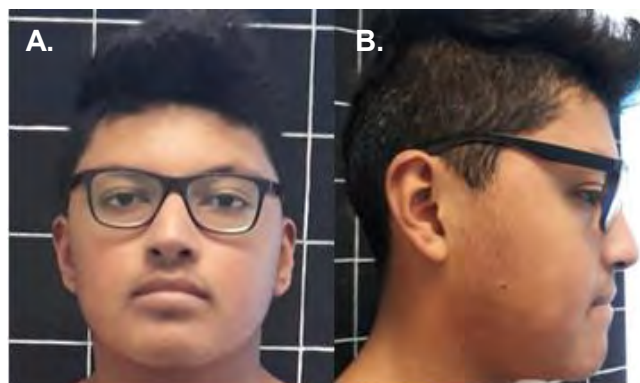


Figura 17. Fotografías clínicas de paciente 11 con SBW. A) Labios gruesos. B) Cráneo con tendencia a la dolicocefalia y hendidura en lóbulo.

Se consideraron positivos para SBW a los pacientes que cumplieron 3 criterios mayores o 2 criterios mayores y 1 a 3 criterios menores (Tabla 8). Posterior a la selección de la muestra se realizó estudio de MS-MLPA para identificar alteraciones de la impronta en la región 11p15.5 (Tabla 9), el cual se llevó a cabo en 9 pacientes.

Tabla 8. Criterios clínicos para el diagnóstico de Síndrome de Beckwith-Wiedemann identificados en los pacientes.

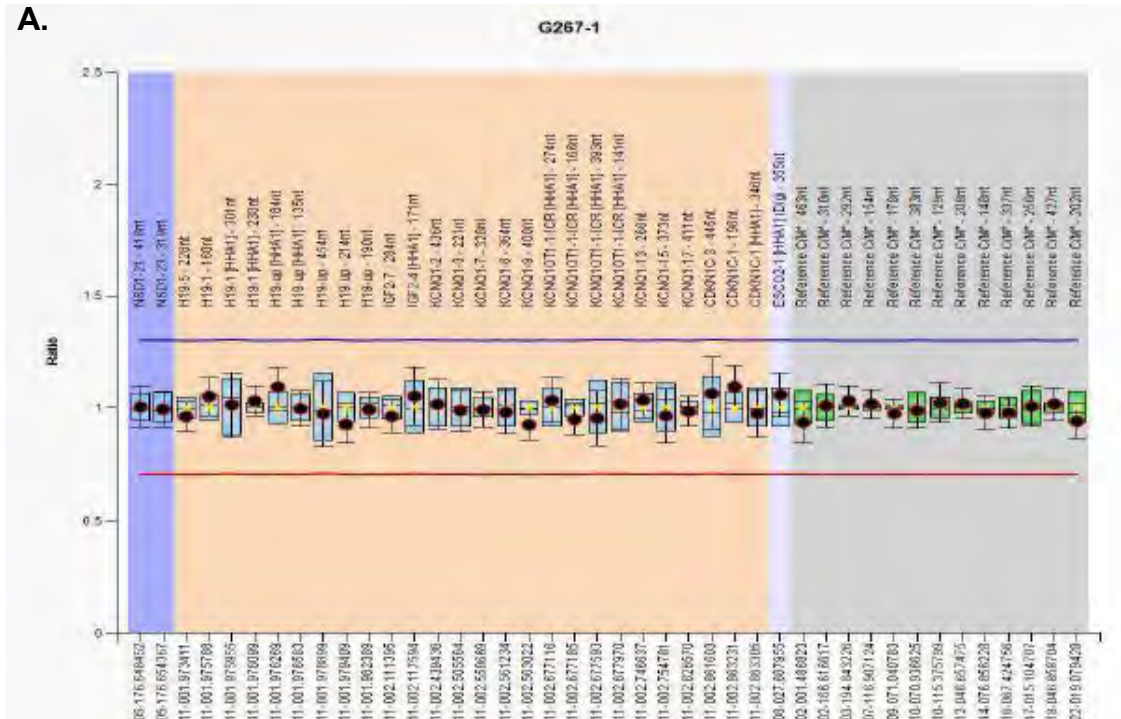
Paciente	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Total/ %	% Literatura	
Genero	F	M	M	F	F	F	M	M	M	M	M	4F/7M	Sin predilección	
Edad	3 m	6 m	3 a	4 a	4 a	5 a	5 a	7 a	8 a	14 a	15 a	3m-15a		
CRITERIOS MAYORES														
Defecto de la pared	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	8/11 72.7%	59.9-72.4%	
Macroglosia	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	11/11 100%	90-97%	
Visceromegalia	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	3/11 27.3%	72.3%	
Macrosomia	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	8/11 72.7%	50%	
CRITERIOS MENORES														
Hipoglucemia	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	6/11 54.5%	30-50%	
Neavus flammeus	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	7/11 63.6%	73.1%	
Hemihiperplasia	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	5/11 45.5%	38.2%	

A 9 de 11 pacientes se les realizó el estudio de MS-MLPA, en el cual se reportó un resultado positivo para alteraciones en la impronta en 6 de los casos, 5 de ellos con hipometilación en ICR2 y 1 con hipermetilación de ICR1. Un solo caso presentó una duplicación de la región 11p15.5 con alteraciones en la metilación tanto del ICR1 como el ICR2 (Tabla 9).

Tabla 9. Resultados de estudio de MS-MLPA en pacientes con SBW.			
Paciente	Resultado MLPA CNV	Metilación ICR1	Metilación ICR2
1	No realizado	No aplica	No aplica
2	Normal	Normal	Hipometilación
3	Normal	Normal	Normal
4	No realizado	No aplica	No aplica
5	Normal	Normal	Hipometilación
6	Normal	Normal	Hipometilación
7	Normal	Normal	Hipometilación
8	Normal	Hipermetilación	Normal
9	Normal	Normal	Hipometilación
10	Normal	Normal	Normal
11	Duplicación 11p15	Hipermetilación	Hipometilación

Se muestran los resultados del estudio molecular realizado a los pacientes 2 y 11 para ejemplificar cómo se observan los resultados. En el primero, no se encontraron CNV en el análisis inicial, y presentó pérdida de la metilación en el ICR2 (Fig. 18). En el paciente 11 se observó la duplicación de la región 11p15.5 con hipermetilación del ICR1 e hipometilación del ICR2 (Fig.19).

A.



B.

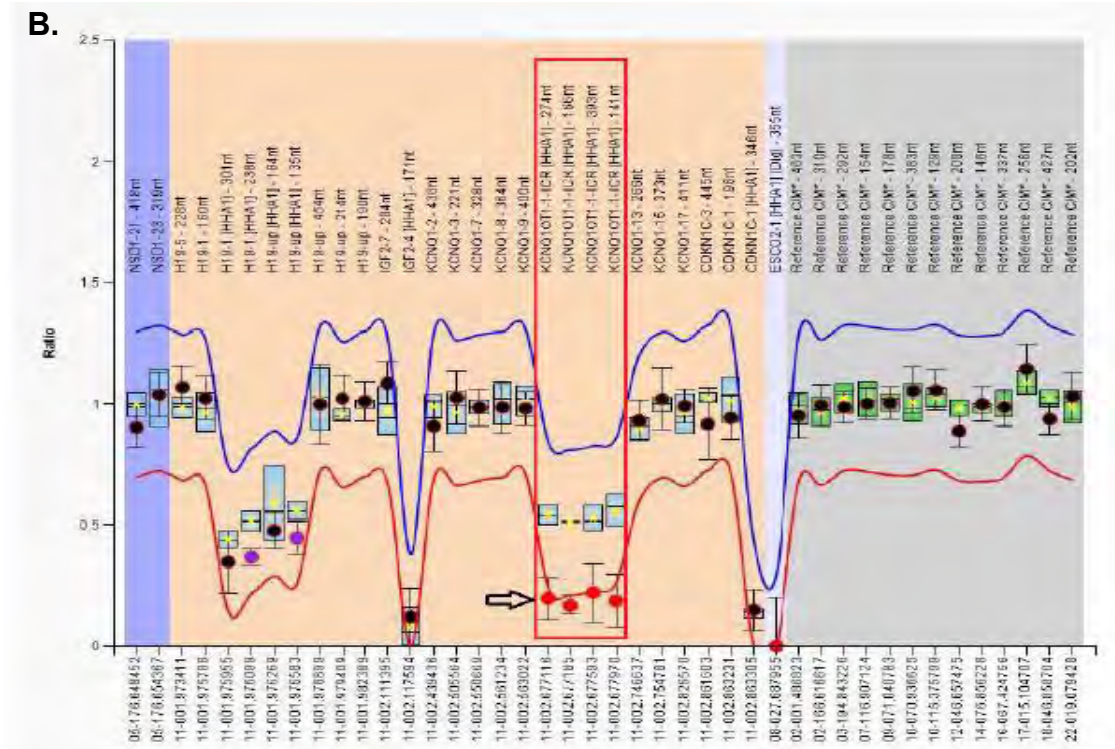


Figura 18. Estudio de MS-MLPA del paciente 2. A. Resultado del estudio de MLPA sin pérdidas o ganancia en la región 11p15.5. **B.** Resultado del análisis del estado de metilación en la región 11p15. La reducción de la señal en ICR2 (ver flecha y recuadro en Figura B), es mayor a la esperada para un patrón de metilación normal. Esto indica que existe una hipometilación del ICR2 en el paciente, confirmando el diagnóstico de Síndrome de Beckwith-Wiedemann.

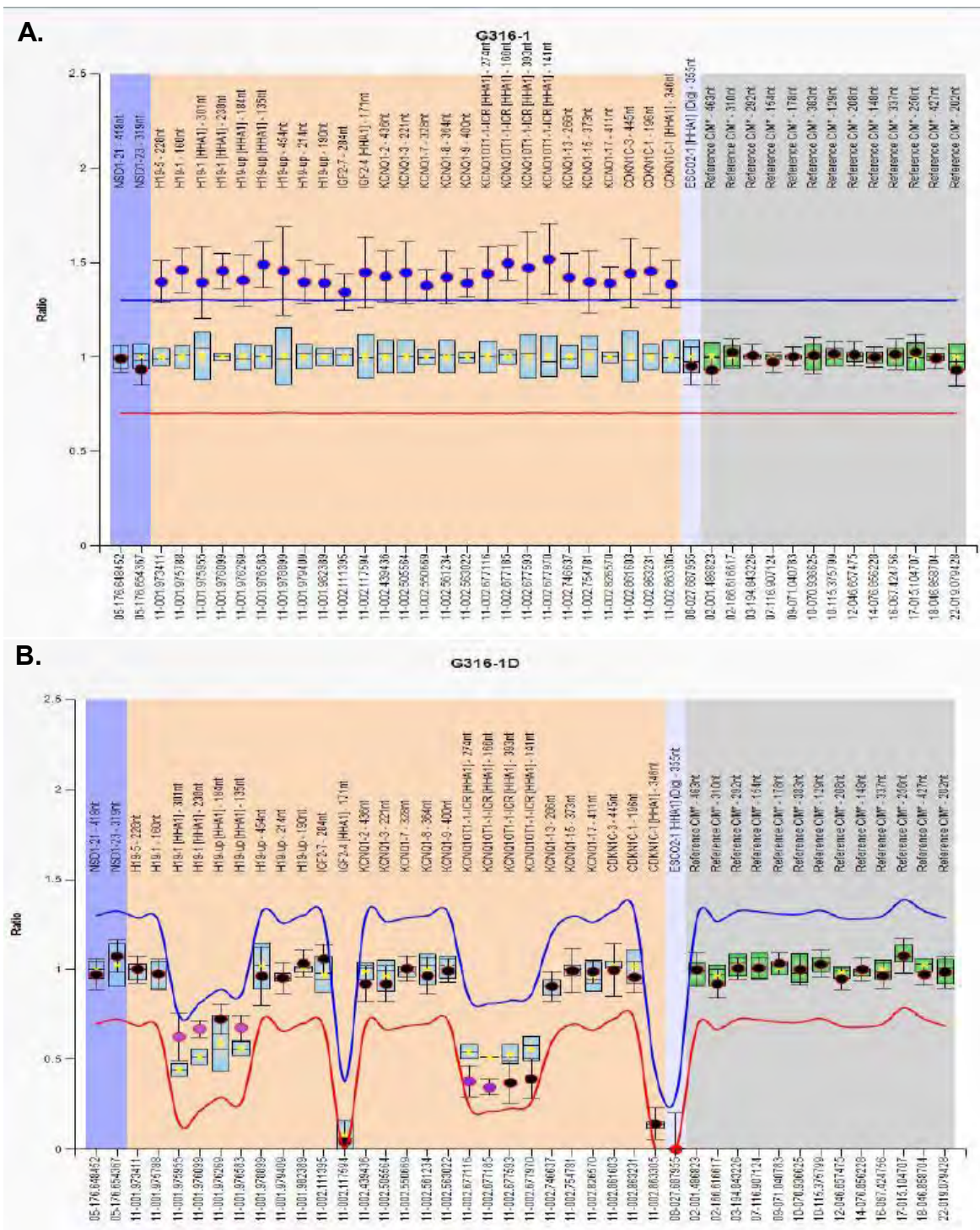


Figura 19. Estudio de MS-MLPA del paciente 11. A. Resultado del estudio que muestra una duplicación de la región 11p15.5. **B.** Resultado del análisis del estado de metilación en la región 11p15. La duplicación de la región provoca hipermetilación del ICR1 e hipometilación del ICR2, confirmando el diagnóstico de Síndrome de Beckwith-Wiedemann.

Resultados clínicos y moleculares de los pacientes con Síndrome de Silver-Russell.

Se identificaron 8 pacientes con diagnóstico clínico de síndrome Silver- Russell. El género de los pacientes fueron 5 masculinos y 3 femeninos, con un rango de edad entre los 2 años y los 12 años (Tabla 10).

Tabla 10. Distribución de pacientes con Síndrome de Silver Russell por edad y sexo.

Edades	Frecuencia	Masculinos	Femeninos
<1 año	0	0	0
1-3 años	2 (25%)	1	1
4-6 años	3 (37.5%)	1	2
7-9 años	1 (12.5%)	1	0
10-12 años	2 (25%)	2	0
13-15 años	0	0	0
Total	8 (100%)	5 (62.5%)	3 (37.5%)

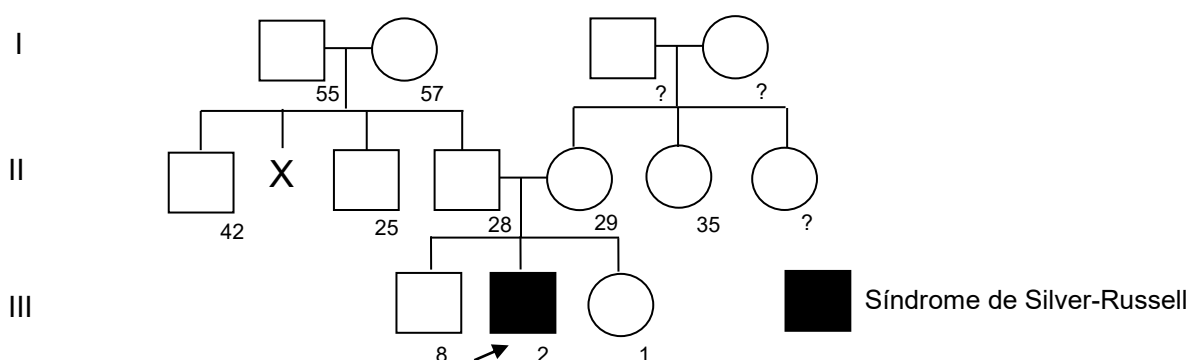
Los criterios diagnósticos utilizados para identificar la muestra de pacientes fueron los criterios de Azzi, et al. Se consideró positivos a los pacientes que cumplieron 4 de las 6 características (Tabla 11).

A continuación se describen los casos clínicos de los pacientes diagnosticados con SSR.

CASO 1.

Masculino de 2 años de edad. Producto de la tercera gesta de padres jóvenes, no consanguíneos. Cursó con hiperémesis gravídica (se desconoce semana de gestación al diagnóstico). Resto del embarazo normoevolutivo con adecuado control prenatal. Obtenido a las 38 semanas de gestación con peso de 1,440 gramos ($p < 5$), talla de 41 cm ($p < 5$). Presentó insuficiencia valvular aórtica y canal AV. PO LAPE con colostomía y posterior cierre, orquidopexia bilateral. Refiere familiar múltiples internamientos por neumonía, fiebre y diarrea. Paciente con retraso en el desarrollo psicomotor. A la E.F. a los 2 años de edad, edad aparente menor a la cronológica, peso de 8.200 kg ($p < 5$), talla de 85 cm ($p < 5$) y perímetro cefálico de 48.5 cm ($p < 25$). Presenta frontal abombado, mentón pequeño, soplo sistólico, abdomen con cicatriz en línea media, criptorquidia derecha y clinodactilia del 5° dedo de ambas manos (Fig. 20). Se realizó revisión clínica, toma de fotografías y estudio molecular.

ÁRBOL GENEALÓGICO



FOTOGRAFÍAS CLÍNICAS

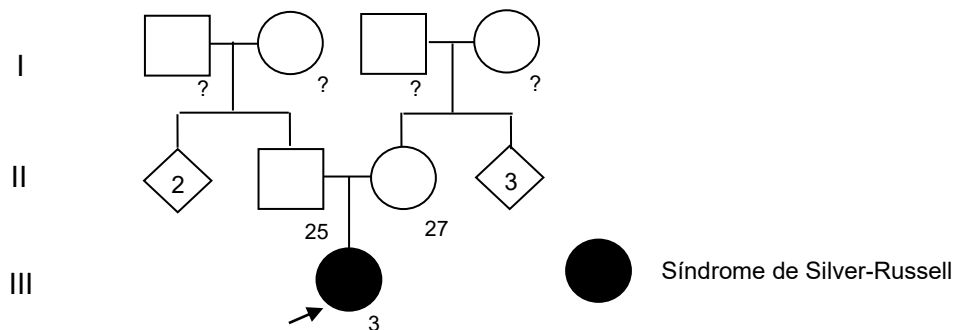


Figura 20. Fotografías clínicas de paciente 1 con SSR. A) Cara triangular, frontal abombado, micrognatia. B) Cráneo con tendencia a la dolicocefalia. C) Clinodactilia del 5°. dedo bilateral

CASO 2.

Femenino de 3 años de edad. Producto de primera gesta de padres jóvenes, no consanguíneos. Se refiere embarazo normoevolutivo. Obtenida vía abdominal a las 40 semanas de gestación por falta de progresión del trabajo de parto con peso de 1, 850 gramos ($p<5$), talla de 40 cm ($p<5$), requirió de casco cefálico e incubadora durante el primer mes por peso bajo y dificultad respiratoria. Presentó un adecuado desarrollo psicomotor. Diagnóstico de foramen oval permeable y acidosis tubular renal a los 2 años de edad. A la E.F a los 3 años de edad, peso de 7.215 kg ($p<5$), talla de 81 cm ($p<5$) y PC de 45.5 cm ($p5$); cara triangular, frontal abombado, epicanto bilateral, puente elevado, labios delgados, micrognatia, pabellones auriculares de adecuada implantación. Cardipulmonar y abdomen sin compromiso, extremidades simétricas con clinodactilia del 5to. dedo de ambas manos (Fig. 21). Se realizó revisión clínica, toma de fotografías y estudio molecular.

ÁRBOL GENEALÓGICO



FOTOGRAFÍAS CLÍNICAS

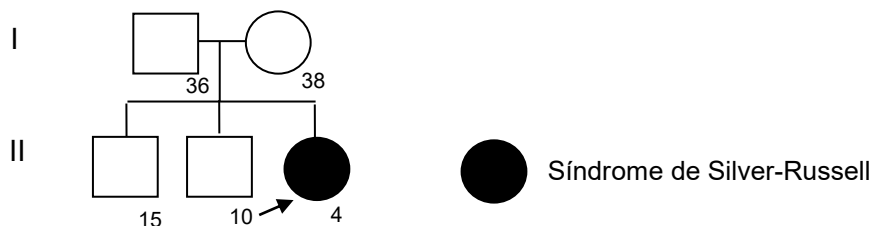


Figura 21. Fotografías clínicas de paciente 2 con SSR. A) Frontal abombado, micrognatia. **B)** Cráneo con tendencia a la dolicocefalia. **C)** Clinodactilia del 5º. dedo bilateral

CASO 3.

Femenino de 4 años de edad, producto de tercera gesta de madre añosa. Diagnóstico de diabetes gestacional en la semana 25 tratada con metformina. Diagnóstico de restricción del crecimiento intrauterino y probable displasia ósea. Obtenida vía vaginal a las 33.6 semanas de gestación por ruptura prematura de membranas, pesó 1488 gramos (p10), talla 39 cm (p10). Hospitalizada al nacimiento por cardiopatía acianógena, hemorragia intraventricular, disfagia orofaríngea leve y enfermedad por reflujo gastroesofágico grado IV. A la E.F. a los 4 años de edad: peso 9.400 kg (p<3), talla 90 cm (p<3) y PC de 48.1 cm (p50). Cráneo con tendencia a la dolicocefalia, implantación capilar anterior alta, frontal abombado, fisuras palpebrales ascendentes, pabellones auriculares de implantación limítrofe, filtrum corto, labios delgados. Extremidades con clinodactilia del 5º. dedo bilateral (Fig. 22). Se realizó revisión clínica, toma de fotografías y estudio molecular.

ÁRBOL GENEALÓGICO



FOTOGRAFÍAS CLÍNICAS

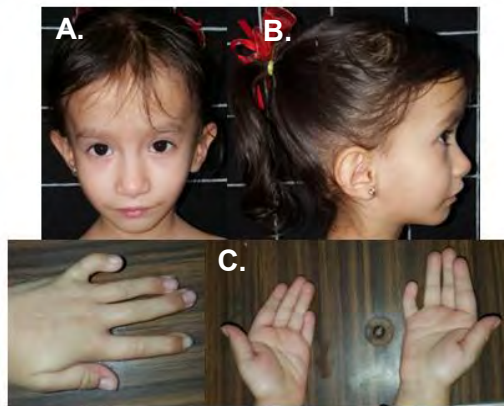
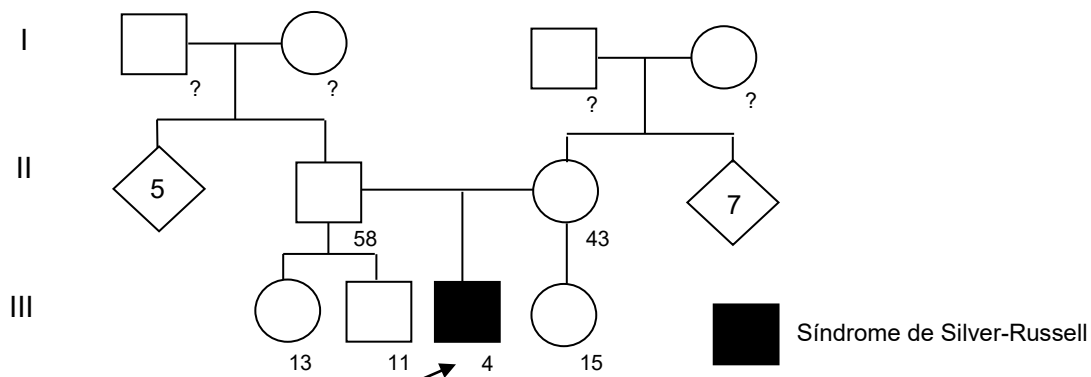


Figura 22. Fotografías clínicas de paciente 3 con SSR. A) Frontal abombado, micrognatia. B) Cráneo con tendencia a la dolicocefalia. C) Clinodactilia del 5º. dedo bilateral.

CASO 4.

Masculino de 4 años de edad. Producto de primera gesta de padres jóvenes, no consanguíneos. Embarazo normoevolutivo, obtenido a las 36 semanas de gestación con peso de 1595g ($p < 5$) y talla de 41cm ($p < 5$). Presenta retraso global del desarrollo, peso y talla baja. A la E.F. a los 4 años de edad con peso de 10.200 kg ($p < 5$), talla de 89.5 cm ($p < 5$) y PC de 50.2 ($p 50$). Cráneo con tendencia a la dolicocefalia macrocefalia relativa, facies triangular, epicanto, nariz pequeña, micrognatia (Fig. 23), pectus excavatum, genitales con criptorquidia bilateral y clinodactilia del 5° dedo de ambas manos. Se realizó revisión clínica, toma de fotografías y estudio molecular.

ÁRBOL GENEALÓGICO



FOTOGRAFÍAS CLÍNICAS

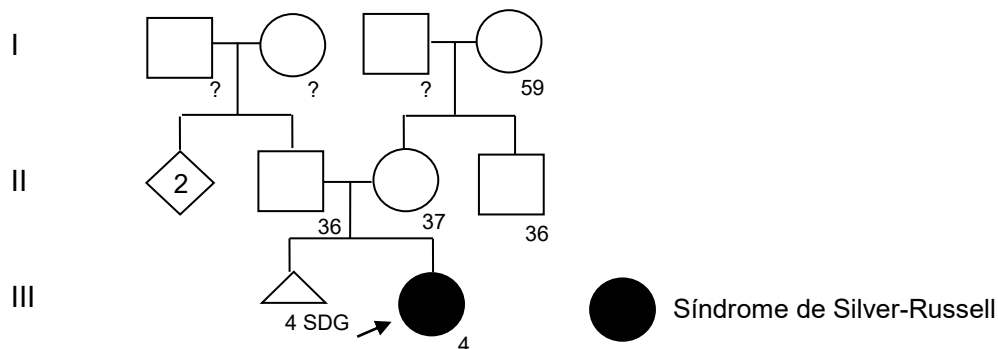


Figura 23. Fotografías clínicas de paciente 4 con SSR. A) Frontal abombado, epicanto bilateral, micrognatia. B) Cráneo con tendencia a la dolicocefalia.

CASO 5.

Femenino de 4 años de edad. Producto de primera gesta de padres jóvenes, no consanguíneos. Embarazo normoevolutivo con USG (desconoce cuantos) normales. Obtenida vía vaginal a las 40 semanas de gestación con peso de 2535 gramos ($p < 5$) y talla de 46 cm ($p < 5$). Traumatismo cráneo-encefálico a los 2 años de edad. A la E.F. a los 4 años presenta retraso global del desarrollo y voz aguda con peso de 9.500 kg ($p < 5$), talla de 84.5 cm ($p < 5$) y PC de 52.5 (p75). Cráneo con tendencia a la braquicefalia, frontal abombado, asimetría facial leve, cara triangular (Fig. 24), hipoplasia medio facial, manchas café con leche en tórax anterior. Se realizó revisión clínica, toma de fotografías y estudio molecular.

ÁRBOL GENEALÓGICO



FOTOGRAFÍAS CLÍNICAS

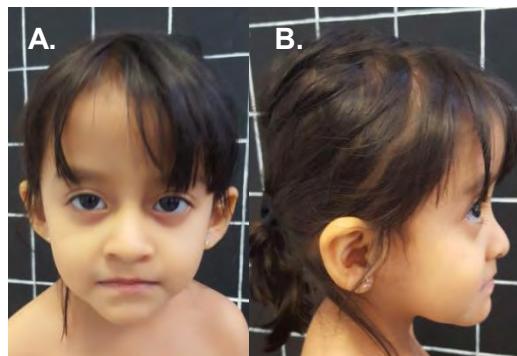
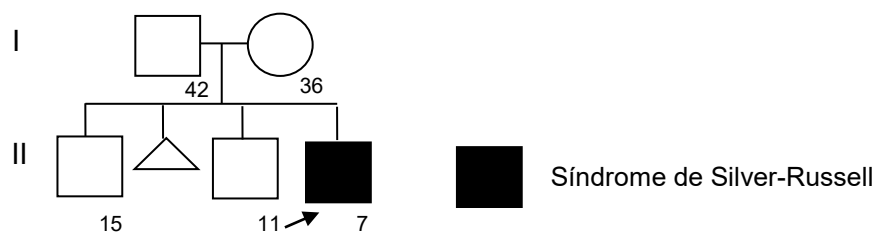


Figura 24. Fotografías clínicas de paciente 5 con SSR. A) Frontal abombado, cara triangular. B) Cráneo con tendencia a la dolicocefalia, hipoplasia medio facial.

CASO 6.

Masculino de 7 años de edad, hijo de padres jóvenes, no consanguíneos. Producto de cuarta gesta, adecuado control prenatal (no refiere cuantos USG se realizaron durante el embarazo), embarazo normoevolutivo. Obtenido a término (se desconocen semanas de gestación) con peso de 2100 gramos ($p < 5$) y talla de 48 cm ($p < 5$). Presentó retraso en el desarrollo psicomotor. Actualmente con diagnóstico de acidosis tubular renal y retraso global del desarrollo. A la E.F. a los 7 años con peso de 15.300 kg ($p < 5$), talla de 107 cm ($p < 5$), perímetro cefálico de 50 cm ($p < 5$). Cráneo con tendencia a la dolicocefalia, cara triangular, ligera asimetría facial, fisuras palpebrales horizontalizadas, puente elevado, pabellones auriculares prominentes, micrognatia (Fig. 25). Cardiopulmonar, abdomen y genitales sin compromiso. Extremidades con clinodactilia del 5º. dedo bilateral. Se realizó revisión clínica, toma de fotografías y estudio molecular.

ÁRBOL GENEALÓGICO



FOTOGRAFÍAS CLÍNICAS

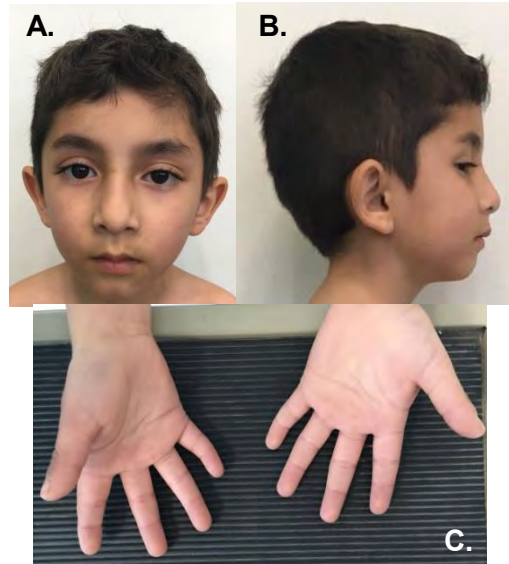
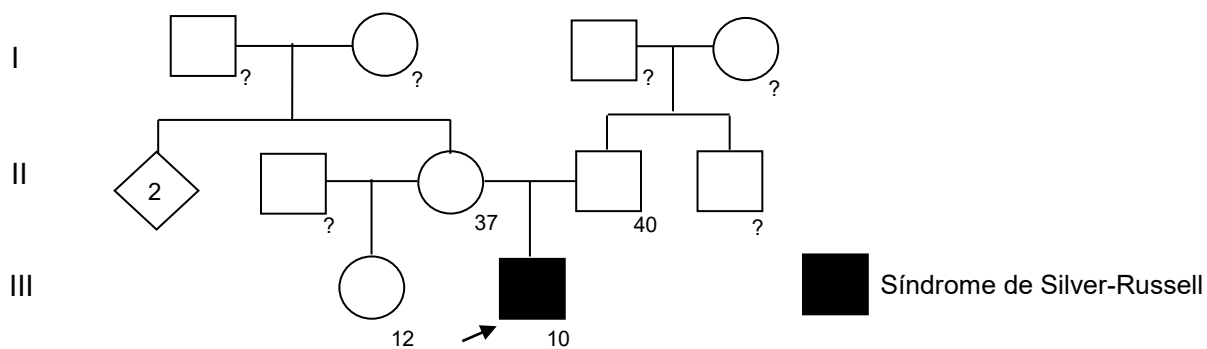


Figura 25. Fotografías clínicas de paciente 6 con SSR. A) Frontal abombado, cara triangular y asimétrica. B) Cráneo con tendencia a la dolicocefalia. C) Clinodactilia del 5º. dedo bilateral.

CASO 7.

Masculino de 10 años de edad. Hijo de padres jóvenes, no consanguíneos. Producto de la segunda gesta. Durante el embarazo madre presentó infecciones de vías urinarias y cervicovaginitis de repetición, amenaza de aborto en el 3° mes tratada con reposo y amenaza de parto pre término en 5° mes que requirió hospitalización durante 3 días. Obtenido vía vaginal a las 32 semanas de gestación por ruptura prematura de membranas con peso de 1000 gramos ($p < 5$) y talla de 31 cm ($p < 5$). Presentó asfixia neonatal, sepsis neonatal, enterocolitis necrotizante y hemorragia intraventricular. A pesar de antecedentes se reporta adecuado desarrollo psicomotor. Recibió terapia con hormona del crecimiento durante 2 años (de los 5-7 años). A la E.F. a los 10 años de edad con peso de 25 kg ($p 5$), talla de 129 cm ($p 10$) y PC de 52.8 cm ($p 50$). Cráneo con macrocefalia relativa, cara triangular y frontal abombado. Cardiopulmonar y abdomen sin compromiso. Extremidades con clinodactilia del 5° dedo bilateral. Se realizó revisión clínica y estudio molecular.

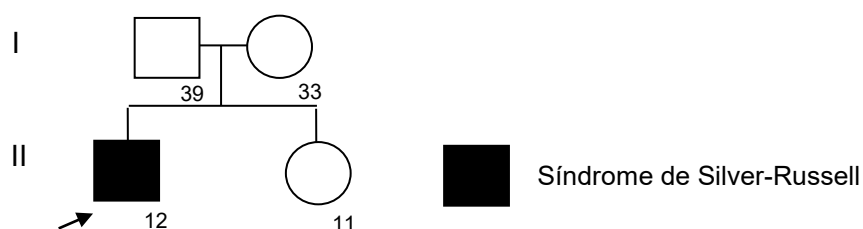
ÁRBOL GENEALÓGICO



CASO 8.

Masculino de 12 años de edad. Hijo de padres jóvenes, no consanguíneos. Producto de primera gesta, con control prenatal desde el primer mes, amenaza de aborto en 1° mes tratada con reposo. Se realizó 3 USG reportados normales y último con reporte de restricción del crecimiento intrauterino. Obtenido vía vaginal a término (se desconocen semana de gestación) con peso de 2100 gramos ($p < 5$), se desconoce talla. Cursó periodo neonatal sin complicaciones. Antecedente de retraso en el desarrollo psicomotor, acidosis tubular renal, rinitis alérgica, asma, enfermedad por reflujo gastroesofágico e hipospadias, actualmente con tratamiento de hormona del crecimiento. A la E.F. a los 12 años con peso 35.8 kg (p_{25}), talla de 139 cm (p_{10}) y PC 53.5 cm (p_{50}). Cráneo con tendencia a la dolicocefalia, frontal prominente, cara triangular, telecanto, puente elevado, pabellones auriculares de adecuada implantación. Genitales con testículos en saco escrotal. Extremidades con clinodactilia del 5° dedo bilateral (Fig. 26). Se realizó revisión clínica, toma de fotografías y estudio molecular.

ÁRBOL GENEALÓGICO



FOTOGRAFÍAS CLÍNICAS

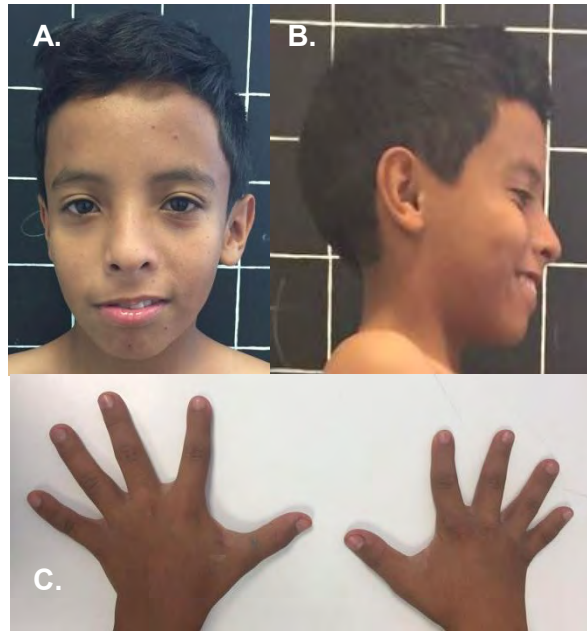


Figura 26. Fotografías clínicas de paciente 8 con SSR. A) Frontal abombado, cara triangular. B) Cráneo con tendencia a la dolicocefalia. C) Clinodactilia del 5°. dedo bilateral.

Tabla 11. Pacientes que cumplieron criterios para el diagnóstico de Síndrome de Silver-Russell.

Paciente	1	2	3	4	5	6	7	8	Total/%	%Literatura (Azzi, et al., 2015)
Genero	M	F	F	M	F	M	M	M	3F/5M	Sin predilección
Edad	2 a	3 a	4 a	4 a	4 a	7 a	10 a	12 a	2a-12a	
Peso y talla baja al nacimiento ≤2 DE	+	+	-	+	+	+	+	+	7/8 87.5%	91.6%
Talla ≤2 DE a partir de los 2 años de edad	+	+	+	+	+	+	+	+	8/8 100%	94.8%
Macrocefalia relativa	+	+	+	+	+	+	+	+	8/8 100%	82.1%
Asimetría facial, corporal y/o extremidades	-	-	-	+	-	+	-	-	2/8 25%	94.8%
Fenotipo facial clásico: frontal prominente, cara triangular, comisuras labiales descendentes, micrognatia o protrusión de la frente	+	+	+	+	+	+	+	+	8/8 100%	73.3%
Dificultad para alimentarse	-	-	+	-	-	-	-	+	2/8 25%	98.3%

Se realizó el estudio molecular a 8 pacientes con diagnóstico clínico de Síndrome de Silver-Russell, en el cual se reportó un resultado positivo para alteraciones en la impronta en 4 de los casos, y correspondieron todos ellos a pérdida de metilación del ICR1 (Tabla 12).

Paciente	Resultado MLPA CNV	Metilación ICR1	Metilación ICR2
1	Normal	Hipometilación	Normal
2	Normal	Hipometilación	Normal
3	Normal	Hipometilación	Normal
4	Normal	Hipometilación	Normal
5	Normal	Normal	Normal
6	Normal	Normal	Normal
7	Normal	Normal	Normal
8	Normal	Normal	Normal

En la Figura 27 se muestran los resultados moleculares encontrados en el paciente 2 en donde se observa hipometilación del ICR1. La reducción de la señal del ICR1 es mayor a la esperada para un patrón de metilación normal confirmando el Síndrome de Silver-Russell.

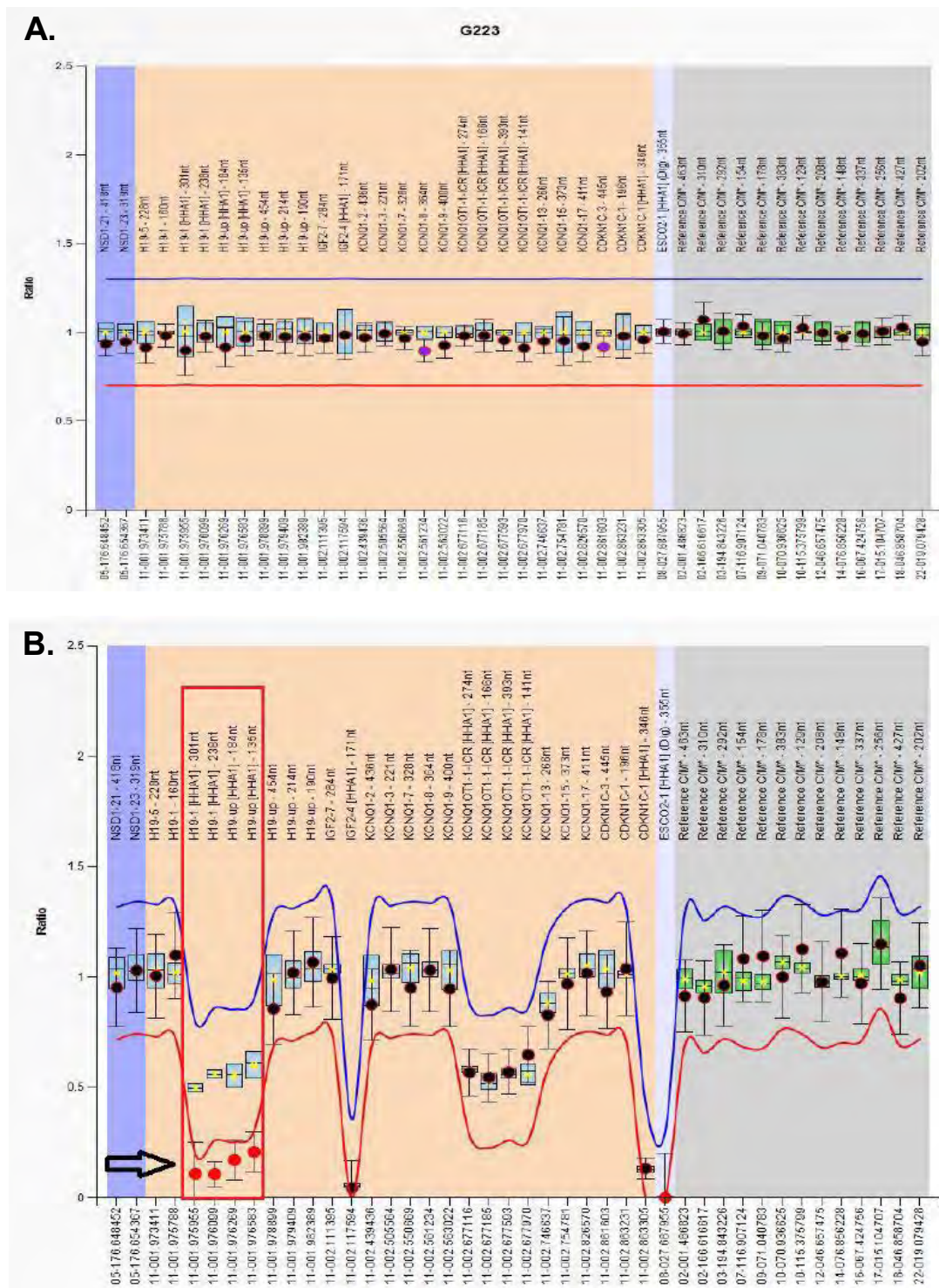


Figura 27. Estudio de MS-MLPA del paciente 2. A. Resultado del estudio de MLPA sin pérdidas o ganancia en la región 11p15. **B.** Resultado del análisis del estado de metilación en la región 11p15. La reducción de la señal del ICR1 (flecha y recuadro en Figura B), es mayor a la esperada para un patrón de metilación normal. Esto indica que existe una hipometilación del ICR1 en el paciente, lo que confirma el Síndrome de Silver Russell.

Resultados clínicos y moleculares de los pacientes con Hemihiperplasia Aislada.

Se identificaron 9 pacientes con diagnóstico clínico de Hemihiperplasia aislada. El género de los pacientes fueron 5 masculinos y 6 femeninos, con un rango de edad entre los 6 meses y los 15 años (Tabla 13).

Tabla 13. Distribución de pacientes con Hemihiperplasia Aislada por edad y sexo.

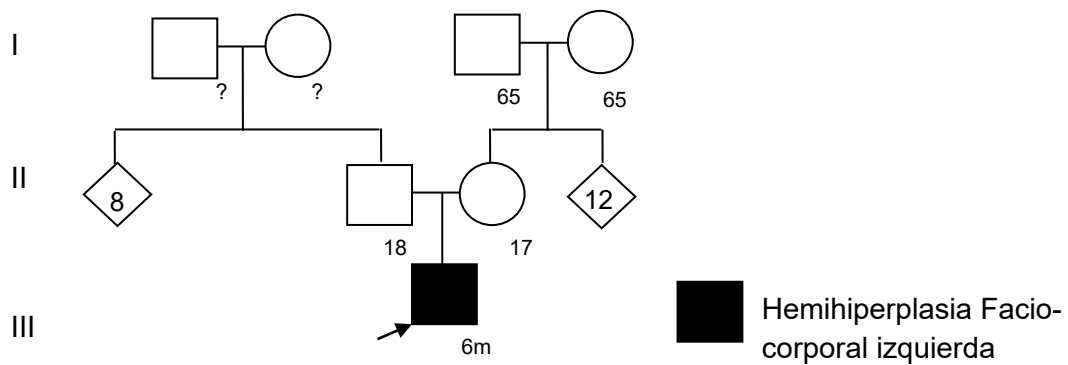
Edades	Frecuencia	Masculinos	Femeninos
<1 año	1 (11.1%)	1	0
1-3 años	2 (22.2%)	1	1
4-6 años	3 (33.3%)	0	3
7-9 años	0	0	0
10-12 años	2 (22.2%)	1	1
13-15 años	1 (11.1%)	0	1
Total	9 (100%)	3 (33%)	6 (66%)

A continuación se describen los casos con hemihiperplasia aislada.

CASO 1.

Masculino de 6 meses de edad. Hijo de padres jóvenes, no consanguíneos. Percepción del embarazo durante el primer mes, confirmado por prueba inmunológica del embarazo. Acudió a o consultas de control prenatal y se realizó 2 USG obstétricos reportados normales. Refiere un embarazo normoevolutivo con adecuado control tensional y glucémico. Obtenido vía vaginal a las 37 semanas de gestación con peso de 3023 gramos (p50) y talla de 52 cm (p90). A la E.F. a los 6 meses de edad con peso de 8.350 kg (p50), talla de 67 cm (p50) y PC de 42 cm (p10-25). Cráneo con tendencia a la braquicefalia, asimetría facial, fisuras palpbrales oblicuas ascendentes, pabellones auriculares de adecuada implantación, con tendencia a protruir la lengua. Extremidades con hemihiperplasia izquierda (Fig. 28). USG abdominal y radiografía de columna sin alteraciones. Se realizó revisión clínica, toma de fotografías y estudio molecular.

ÁRBOL GENEALÓGICO



FOTOGRAFÍAS CLÍNICAS

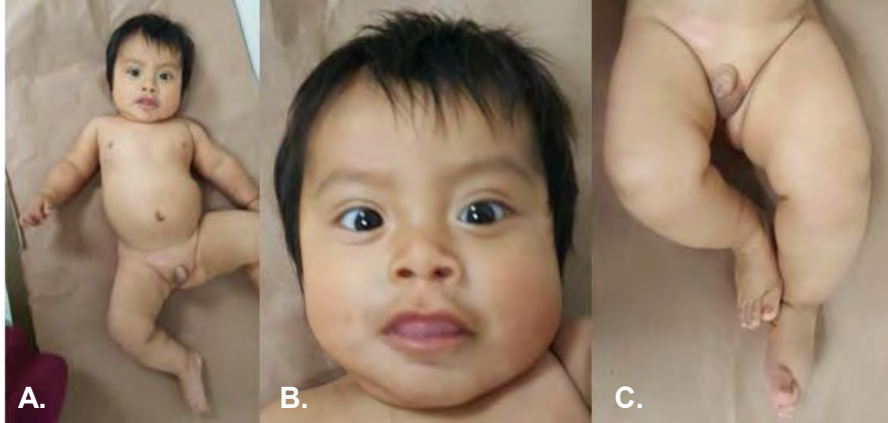
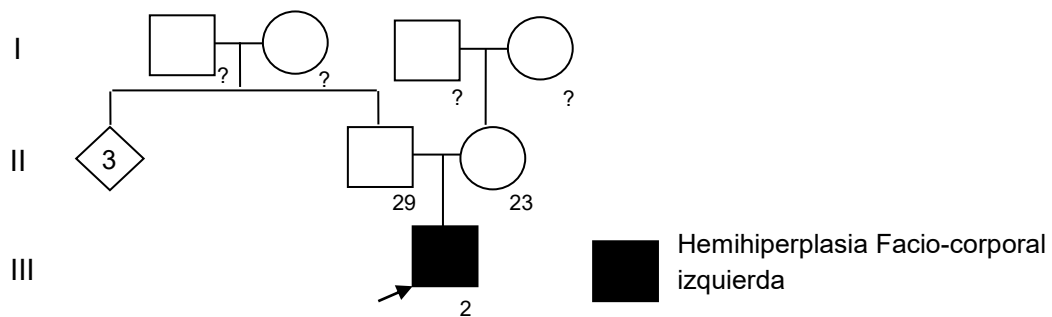


Figura 28. Fotografías clínicas de paciente 1 con HA. A) Habitus del paciente. B) Fisuras palpebrales oblicuas ascendentes, asimetría facial. C) Hemihiperplasia miembro pélvico izquierdo.

CASO 2.

Masculino de 2 años de edad. Hijo de padres jóvenes, no consanguíneos. Embarazo normoevolutivo con adecuado control prenatal y USG obstétricos reportados normales (desconoce cuantos se realizaron). Obtenido vía abdominal por falta de progresión del trabajo de parto a las 39 semanas de gestación con peso de 3560 gramos (p50-95) y talla de 53 cm (p50-95). Antecedente de enfermedad por reflujo gastroesofágico tratado con Ranitidina. A la E.F. a los 2 años de edad con peso de 12.900 kg (p70-75), talla de 93 cm (p95) y PC de 50.1 cm (p90). Cráneo con tendencia a la dolicocefalia, asimetría facial, frente amplia, fisuras palpebrales horizontalizadas, puente elevado, labios gruesos, pabellones auriculares de adecuada implantación, asimetría corporal a expensas de lado izquierdo. USG abdomen sin alteraciones. Se realizó revisión clínica y estudio molecular.

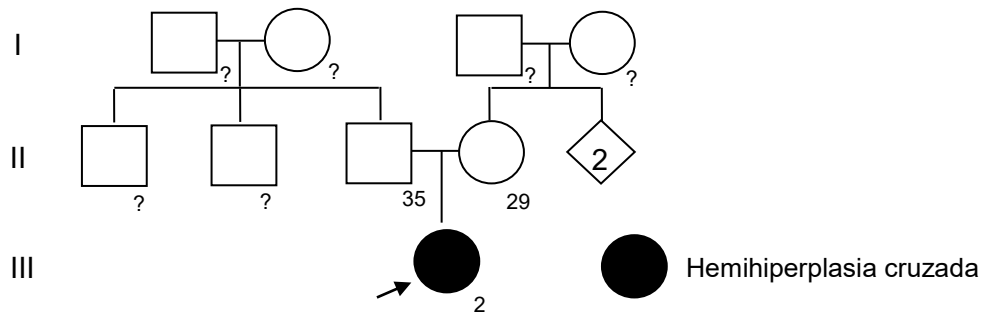
ÁRBOL GENEALÓGICO



CASO 3.

Femenino de 2 años. Hija de padres jóvenes, no consanguíneos. Adecuado control prenatal. Embarazo normoevolutivo hasta reporte de USG obstétrico con oligohidramnios (madre desconoce edad gestacional del diagnóstico). Obtenida vía abdominal por oligohidramnios a las 38 semanas de gestación con peso de 2980 gramos (p50), talla de 51 cm (p50-95). Antecedente de displasia del desarrollo de cadera bilateral a los 5 meses de edad. A la E.F. a los 2 años de edad con peso de 12.700 kg (p50-75), talla de 86.3 cm (p25-50) y PC de 47 cm (p25). Cráneo con tendencia a la dolicocefalia, leve asimetría facial, frente amplia, cejas y fisuras palpebrales horizontalizadas, puente elevado, pabellones auriculares de adecuada implantación. Extremidades con hemihiperplasia cruzada (hemihiperplasia izquierda de miembros superiores y hemihiperplasia derecha de miembros inferiores) (Fig. 29). USG abdominal sin alteraciones. Se realizó revisión clínica, toma de fotografías y estudio molecular.

ÁRBOL GENEALÓGICO



FOTOGRAFÍAS CLÍNICAS

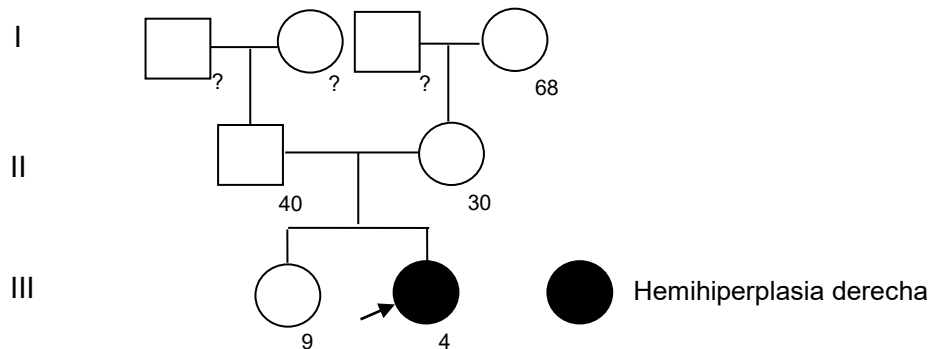


Figura 29. Fotografías clínicas de paciente 3 con HA. A) Habitus del paciente, hemihiperplasia cruzada. **B)** Leve asimetría facial, frente amplia, fisuras palpebrales horizontalizadas.

CASO 4.

Femenino de 4 años. Hija de padres jóvenes, no consanguíneos. Adecuado control prenatal con 8 consultas y 3 USG reportados normales. Embarazo normoevolutivo. Obtenida vía abdominal (iterativa) a las 38 semanas de gestación con peso de 3500 g (p50-95), talla 50 cm (p59-95). A la E.F. a los 4 años de edad con peso de 21 kg (p>95), talla de 106.5 cm (p90-95) y PC de 50.5 cm (p50-95). Cráneo con tendencia a al dolicocefalia, fisuras palpebrales horizontalizadas, puente elevado, labios gruesos, pabellones auriculares de adecuada implantación con pits retroauriculares bilaterales. Extremidades con hemihiperplasia a expensas de miembro pélvico derecho. Se realizó revisión clínica y estudio molecular.

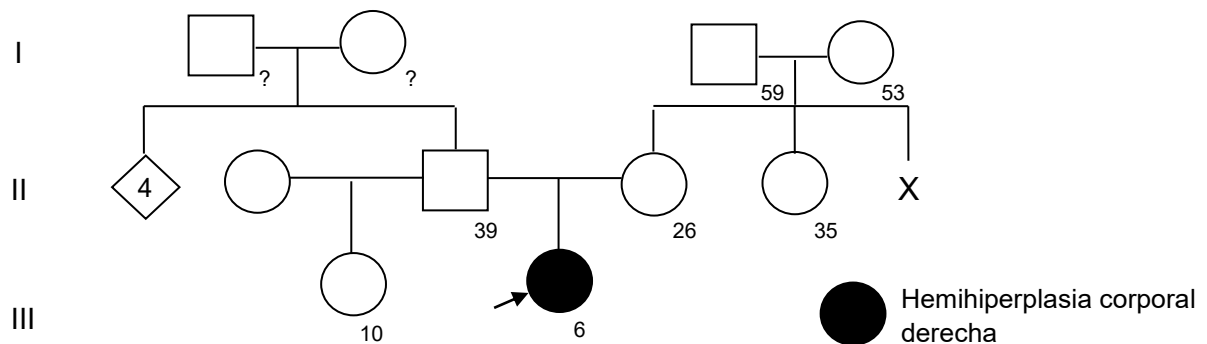
ÁRBOL GENEALÓGICO



CASO 5.

Femenino de 6 años. Hija de padres jóvenes, no consanguíneos. Embarazo con IVU no complicada en el 5to. mes de embarazo. Resto normoevolutivo. Obtenida vía vaginal a las 40 semanas de gestación con peso de 3200 gramos (p25-50), se desconoce talla. Antecedente de pie equinovaro izquierdo PO de tenotomía izquierda. A la E.F. a los 6 años de edad con peso de 18.700 kg (p25), talla de 111 cm (p25-50) y PC de 48.2 (p25). Cráneo con tendencia a la dolicocefalia, asimetría facial. Tórax asimétrico y abdomen sin compromiso. Extremidades con hemihiperplasia corporal derecha (Fig. 30). Resonancia magnética de encéfalo con asimetría de ventrículos laterales y USG abdominal sin alteraciones. Se realizó revisión clínica, toma de fotografías y estudio molecular.

ÁRBOL GENEALÓGICO



FOTOGRAFÍAS CLÍNICAS

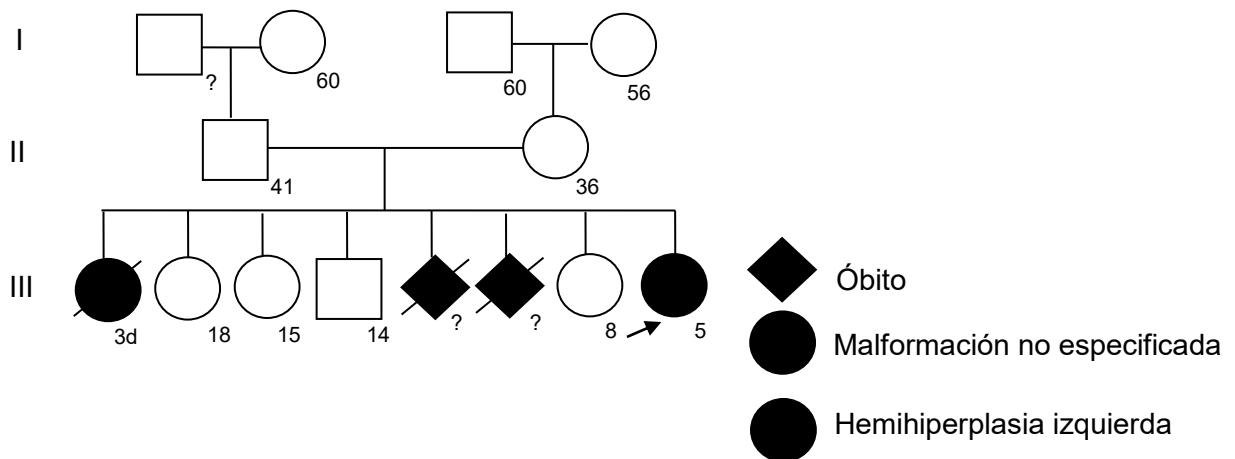


Figura 30. Fotografías clínicas de paciente 5 con HA. A) Hemihiperplasia corporal derecha. B) Asimetría facial. C) Hemihiperplasia derecha de miembros pélvicos.

CASO 6.

Femenino de 6 años de edad. Hija de padres jóvenes, no consanguíneos. Producto de la gesta 8. Madre refiere consumo de tabaco en primeros 2 meses de gestación. No tuvo control prenatal. Obtenida vía abdominal por producto pélvico (se desconoce edad gestacional) con peso de 2500 gramos, se desconoce talla. Antecedente de hospitalización a los 2 meses de edad por síndrome coqueluchoide. Tumor de Wilms bilateral a los 5 años PO de nefrectomía parcial bilateral. A la E.F. a los 6 años de edad con peso de 19.500 kg (p50), talla de 107 cm (p10) y PC de 48 cm (p50). Cráneo con tendencia a la dolicocefalia, fisuras palpebrales horizontalizadas, puente nasal deprimido, paladar íntegro. Cardiopulmonar sin compromiso, abdomen con cicatriz por nefrectomía sin visceromegalias. Extremidades con hemihiperplasia de miembros pélvicos a expensas de lado izquierdo. Se realizó revisión clínica y estudio molecular.

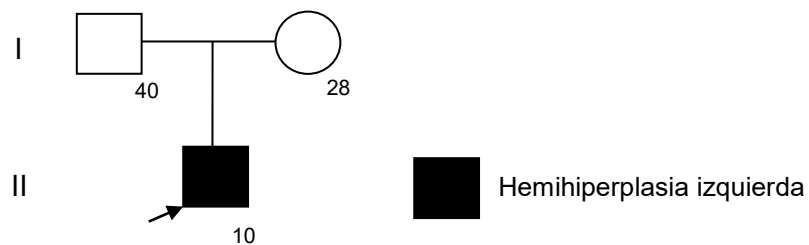
ÁRBOL GENEALÓGICO



CASO 7.

Masculino de 10 años de edad. Hijo de padres jóvenes, no consanguíneos. Embarazo normoevolutivo con adecuado control prenatal, no recuerda cuanto USG se realizó, sin embargo madre refiere que fueron con reporte normal. Obtenido a las 40 semanas de gestación con peso de 4600 gramos (p90) y talla de 52 cm (p50). Antecedente de fractura distal de radio a los 10 años, PO de desperiostización amplia de tibia izquierda. A la E.F. a los 10 años con peso de 44 kg (p90-95), talla de 150 cm (p95) y PC de 53 cm (p50). Cráneo con tendencia a la dolicocefalia, puente elevado, pabellones auriculares de adecuada implantación. Cardiopulmonar y abdomen sin compromiso. Extremidades con hemihiperplasia izquierda. USG abdominal con riñón izquierdo aumentado de tamaño. Se realizó revisión clínica, se difieren toma de fotografías por presencia de yesos, se toma muestra para estudio molecular.

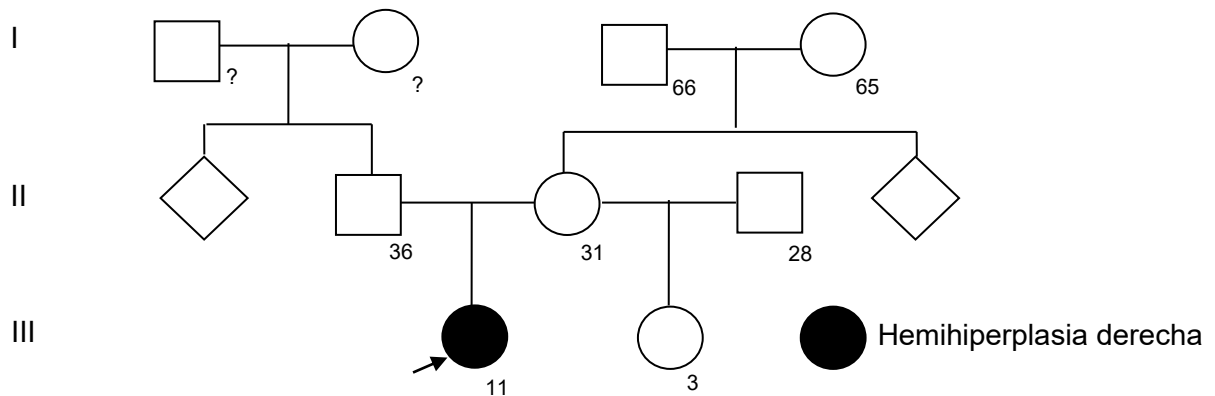
ÁRBOL GENEALÓGICO



CASO 8.

Femenino de 11 años. Hija de padres jóvenes, no consanguíneos. Embarazo normoevolutivo con adecuado control prenatal. Refiere 3 USG obstétricos normales. Obtenida vía abdominal a las 39 semanas de gestación por doble circular de cordón con peso de 3150 gramos (p50), se desconoce talla. A la E.F. a los 11 años de edad con peso de 33.7 kg (p25), talla de 148 cm (p75) y PC 52.3 (p50). Cráneo con tendencia a la dolicocefalia, frente amplia, fisuras palpebrales horizontalizadas, puente elevado, dorso recto, paladar íntegro, pabellones auriculares de adecuada implantación. Cardiopulmonar sin compromiso y abdomen sin visceromegalias. Extremidades asimétricas con hemihiperplasia derecha de miembros superiores e inferiores. Resonancia de encéfalo y USG andominal sin alteraciones. Se realizó revisión clínica y estudio molecular.

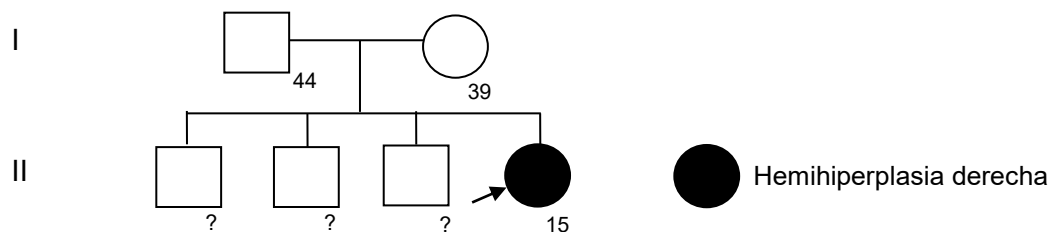
ÁRBOL GENEALÓGICO



CASO 9.

Femenino de 15 años de edad. Hija de padres jóvenes, no consanguíneos. Percepción del embarazo en el 2º. mes con mal control prenatal. Refiere 3 USG obstetricos normales. Obtenida a término con peso de 3,175 gramos (p50) y talla de 49 cm (p50). Antecedente de PO desperiotización de tibia izquierda y corrección de pie cavo. A la E.F. a los 15 años de edad con peso de 54 kg (p50), talla de 163 (p50) Y PC de 54.7 (p50). Cráneo con tendencia a la dolicocefalia, asimetría facial leve, pabellones auriculares de adecuada implantación, cardiopulmonar y abdomen sin compromiso. Extremidades con hemihiperplasia derecha de miembros pélvicos. USG renal con pelvis bífida izquierda y USG abdominal sin alteraciones. Se realizó revisión clínica y estudio molecular.

ÁRBOL GENEALÓGICO



Las características clínicas de los pacientes con hemihiperplasia aislada se concentran en la Tabla 14.

Tabla 14. Manifestaciones clínicas encontradas en los pacientes con hemihiperplasia aislada.										
Paciente	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total/ %
Genero	M	M	F	F	F	F	M	F	F	6F/3M
Edad	6 m	2 a	2 a	4 a	6 a	6 a	10 a	11 a	15 a	2a-15a
Hemihiperplasia derecha	-	+	+	+	+	-	-	+	+	6 66.7%
>1 cm	-	+	+	+	+	-	-	+	+	
Hemihiperplasia izquierda	+	-	-	-	-	+	+	-	-	3 33.3%
>1 cm	+	-	-	-	-	+	+	-	-	
Tumores embrionarios	-	-	-	-	-	+	-	-	-	1 11.1%
						Tumor Wilms				

Se realizó el estudio molecular a 9 pacientes con diagnóstico Hemihiperplasia aislada, en ellos se reportaron sólo dos resultados positivo para alteraciones en la impronta en 11p15.5 (Tabla 15).

Tabla 15. Resultados del estudio de MS-MLPA en pacientes con hemihiperplasia aislada.

Paciente	Resultado MLPA CNV	Metilación ICR1	Metilación ICR2
1	Normal	Hipermetilación	Hipometilación
2	Normal	Normal	Normal
3	Normal	Normal	Normal
4	Normal	Normal	Normal
5	Normal	Normal	Normal
6	Normal	Normal	Normal
7	Normal	Hipermetilación	Hipometilación
8	Normal	Normal	Normal
9	Normal	Normal	Normal

Se ejemplifica un caso negativo con un patrón de metilación normal del ICR1 e ICR2 (Fig 31).

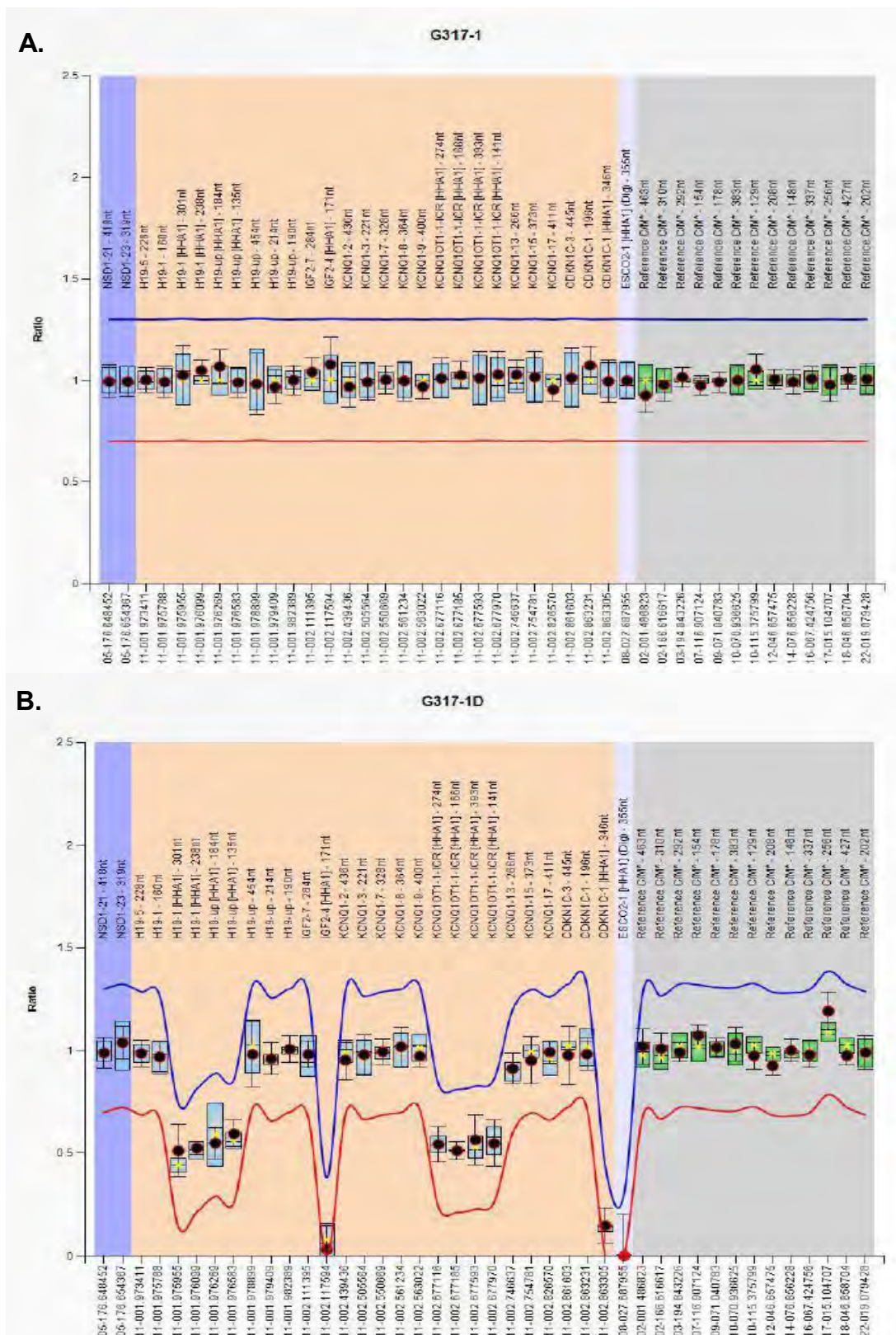


Figura 31. Estudio de MS-MLPA del paciente 3. A. Resultado del estudio de MLPA sin pérdidas o ganancia en la región 11p15. **B.** Resultado del análisis del estado de metilación en la región 11p15. La reducción de la señal observada en algunas sondas corresponde a lo esperado para un patrón normal de metilación en ICR1 y ICR2.

9. DISCUSIÓN

Las alteraciones de la impronta genómica en la región 11p15.5 se asocian a diferentes enfermedades, entre ellas los síndromes de Beckwith-Wiedemann, de Silver-Russell y la hemihiperplasia aislada. Los mecanismos epigenéticos que controlan la expresión de los genes en esta región son complejos y se asocian por ejemplo a eventos de hipo o hipermetilación de alguna de las dos regiones de control de la impronta, ICR1 e ICR2. Las patologías mencionadas se atienden de manera frecuente en la consulta de Genética; sin embargo, en México se desconoce su frecuencia. El HIMFG es un centro de referencia especializado en el diagnóstico y manejo de los pacientes con enfermedades poco frecuentes, por lo que es importante conocer el perfil clínico y epigenético en nuestra población de pacientes con SBW, SSR y hemihiperplasia aislada.

En este trabajo se analizó a una cohorte de pacientes mexicanos que acudieron a consulta al HIMFG con, SBW, SSR y hemihiperplasia aislada, se revisaron sus características clínicas, y en los casos en que fue posible se realizó el estudio de MS-MLPA para establecer la relación fenotipo-genotipo.

El SBW, el SSR y la hemihiperplasia aislada son entidades que ocasionan sobrecrecimiento producto de diferentes mecanismos moleculares (Weksberg, 2010; Martin, et al., 2005). La importancia de sospechar el diagnóstico de estos síndromes y confirmar el diagnóstico molecular y el mecanismo por el cual se presentan es debido en particular a su asociación con otras complicaciones como el desarrollo de tumores embrionarios (Weksberg, 2010). El diagnóstico oportuno, el inicio del manejo temprano de las complicaciones y el seguimiento a lo largo de la vida del paciente, son una prioridad para lograr una mayor sobrevivencia, mejor calidad de vida y brindar asesoramiento genético a la familia y al paciente.

En el presente estudio se consideró que para los criterios de inclusión los pacientes debían contar con análisis cromosómico con bandas GTG, con un resultado normal en el 100% de la muestra analizada de los tres grupos de enfermedades. Esta situación era la esperada, ya que la mayoría de los casos está asociada a alteraciones epigenéticas que afectan el patrón de impronta de

la región 11p15.5 y cuando hay mutaciones puntuales o microdeleciones/microduplicaciones la técnica de cariotipo con bandas GTG no permitiría identificar este tipo de alteraciones debido a limitaciones en el poder de resolución de la técnica. Sin embargo, el cariotipo se consideró como parte del abordaje integral de los pacientes y se realizó para descartar alguna alteración estructural de los cromosomas, lo que se ha reportado en muy pocos casos en la literatura. Por cariotipo podrían detectarse deleciones o duplicaciones grandes del brazo corto del cromosoma 15 o translocaciones/inversiones o anillo del cromosoma 15 y deleción 15qter que alteran la expresión de los genes (Begemann et al, 2012; Nakashima, et al., 2015).

Estas entidades no presentan predominio por sexo o grupo étnico (Weksberg, 2010; Galaz-Montoya, et al., 2014). En esta tesis de los pacientes con SBW el 64% fueron de sexo masculino y 36% de femenino. Los pacientes con SSR fueron 62.5% de masculinos y en el caso de la hemihiperplasia aislada el 33% fueron femeninos. Llama la atención que en el SBW y en el SSR hubo una relación de 2:1 de pacientes masculino vs femeninos, mientras que esta relación fue inversa en los casos de hemihiperplasia aislada. Esta alteración en relación al género *versus* lo reportado en la literatura podría deberse a la gravedad del fenotipo entre los pacientes, a que el tamaño de muestra es pequeño y a que los pacientes fueron captados en la consulta externa en un lapso corto de tiempo que probablemente sesgó la población entre femeninos y masculinos.

En esta tesis se identificaron 11 pacientes con Síndrome de Beckwith-Wiedemann utilizando los criterios de Ibrahim y colaboradores. Se consideró positivos a los pacientes que cumplieron 3 criterios mayores o 2 criterios mayores y 1 a 3 menores. En cuanto a las manifestaciones clínicas del grupo con diagnóstico de síndrome de Beckwith-Wiedemann (Tabla 3) se encontraron en los siguientes porcentajes y fueron similares a lo reportado (Ibrahim, et al, 2014): los defectos de pared en un 72.7% vs. 59.9-72.4%, macroglosia en 100% vs. 90-97%, hipoglucemia en 54.5% vs. 30-50%, *naevus flammeus* en 63.6% vs. 73.1% y hemihiperplasia en un 45.5% vs 38.2%. La incidencia de

tumores embrionarios en este síndrome es de alrededor del 4-21% (Ounap, 2016), por lo que el único caso en nuestra muestra equivale a un 9% y concuerda con lo previamente descrito. Otras manifestaciones como el polihidramnios y la criptorquidia también se encontraron en nuestros pacientes, sin embargo los porcentajes descritos en series previas son muy variables (Brioude, et al., 2018).

En cuanto a los mecanismos moleculares en los 9 pacientes con diagnóstico clínico de SBW analizados, 6 (67%) presentaron alteración en la impronta comparado con aproximadamente 80% reportado en la literatura (Choufani, 2010). Los otros pacientes que tuvieron un resultado negativo en el MS-MLPA cumplen los criterios clínicos y se sostiene el diagnóstico, el que hayan sido negativos puede estar asociado a otros mecanismos como por ejemplo la disomía uniparental paterna del cromosoma 11, microdeleciones o microduplicaciones o mutaciones puntuales en el gen *CDKN1C* (Ounap, 2016), que requerirían otros estudios moleculares para su confirmación. Se ha descrito que hasta el 50% de los pacientes con SBW presenta una pérdida de metilación del ICR2 y en el 5-10% ganancia de metilación del ICR1 (Eggermann, 2013), siendo similar a lo encontrado en esta tesis, 55.5% de hipometilación del ICR2 y 11% de hipermetilación del ICR1.

La correlación genotipo-fenotipo de los pacientes con SBW concuerda con lo descrito en la literatura (Ounap, 2016). Los pacientes con hipermetilación del ICR1 presentan un mayor riesgo de tumores embrionarios, por lo que en el 11% de los pacientes en los cuales se encontró este mecanismo, se debe dar un seguimiento más estrecho con ultrasonido abdominal y determinación de los niveles de alfafetoproteína cada 3 meses, sobre todo en las etapas de mayor riesgo (8-10 años de vida) (Ounap, 2016). En el caso de los pacientes con hipometilación del ICR2 se debe llevar vigilancia en peso y talla al estar principalmente relacionado con el sobrecrecimiento postnatal.

De los 11 casos de SBW, el caso 1 es un caso familiar, ya que tiene una hermana mayor y una prima hermana por rama materna con el diagnóstico clínico de SBW (Fig. 10). Hubiera sido de gran importancia realizar el estudio

molecular de esta paciente para detectar alteraciones en la impronta de la región 11p15.5 o considerar la presencia de mutaciones puntuales en *CDKN1C*; las cuales se encuentran hasta en 50-68% de los casos familiares, en forma principal cuando hay transmisión materna como en esta familia. (Ounap, 2016).

En el caso del paciente 10 (Fig.16) también podría corresponder a un caso familiar, debido a que la hermana y la madre del propósito presentan hendiduras en lóbulos y pits retroauriculares. En este paciente el análisis por MS-MLPA fue negativo por lo que el propósito sería candidato a secuenciación de *CDKN1C* y de ser positivo considerar extender el estudio a otros miembros de la familia.

En el paciente 11 (Fig. 17) que corresponde al 11% del total de pacientes con SBW y estudio molecular se identificó una duplicación de la región 11p15 con patrón de metilación paterna por lo que afectó a ambos ICR, causando hipermetilación del ICR1 e hipometilación del ICR2 (Vals, et al., 2015). En este paciente debería realizarse revisión clínica detallada al hermano con antecedente de labio/paladar hendido y al padre con labio hendido bilateral (que también se ha descrito en pacientes con SBW), y considerar el estudio molecular.

En relación a los pacientes con síndrome de Silver-Russell se identificaron 8 pacientes con un rango de edad entre los 2 y los 12 años. Los criterios diagnósticos para seleccionarlos fueron los descritos por Azzi y colaboradores y se tomaron como positivos a los individuos que cumplieron 4 de las 6 características (Tabla 11).

Las manifestaciones clínicas de nuestra muestra comparada con las de la literatura son peso y talla baja al nacimiento en el 87.5% vs. 91.6%, talla baja después de los 2 años de edad en el 100% vs. 94.8%. Aquellas que se presentaron en mayor proporción en los pacientes de HIMFG fueron la macrocefalia relativa en el 100% vs. 82.1%, asimetría facial, corporal y/o extremidades en el 25% vs. el 94.8% y dificultad para alimentarse en el 25% comparado con el 98.3% de la literatura. Nuestra selección presentó el fenotipo

facial clásico en el 100% de los pacientes, sin embargo en la literatura se ha descrito que sólo alrededor del 73% presentan las manifestaciones craneofaciales clásicas (Azzi, et al., 2015).

De los ocho individuos a los que se realizó MS-MLPA se identificó una alteración en la impronta en el 50% (4/8 casos). En la literatura se ha descrito que es probable identificar una causa molecular en hasta 60% de los pacientes con diagnóstico clínico de SSR y que esto se debe a la heterogeneidad genética y a alteraciones en la impronta en múltiples *locus* (Netchine, et. al., 2007).

La hipometilación del ICR1 es el mecanismo molecular más frecuente, encontrado en aproximadamente el 30-60% de los casos de SSR (Netchine, et. al., 2007). En esta tesis en cuatro individuos con resultado positivo el 100% presentó pérdida de la metilación en ICR1. En los cuatro casos en los que el resultado fue negativo podríamos considerar mecanismos como la disomía uniparental materna del cromosoma 7, microduplicaciones maternas de la región 11p15, microdeleciones en 12q24 o mutaciones puntuales en *HMG2*, *IGF2* o en la región promotora de *H19/IGF2* (Ounap, 2016).

En ninguno de los casos de pacientes con SSR hubo antecedentes heredofamiliares, la mayoría de casos reportados en la literatura son de presentación esporádica con pocos casos familiares (Wakeling, et al., 2016).

Los 9 pacientes con hemihiperplasia aislada de nuestra muestra tuvieron las siguientes manifestaciones clínicas (Tabla 14): 66.7% presentaron hemihiperplasia derecha y el 33.3% izquierda. Existe poca información en la literatura acerca de la correlación fenotipo-genotipo de la hemihiperplasia aislada e incluso se reporta que es raro encontrar la hemihiperplasia como una entidad única (Bliek, et al., 2008). En el año 2018 fue publicado el Consenso Internacional de diagnóstico clínico, diagnóstico molecular y manejo del síndrome de Beckwith-Wiedemann donde se incluye a la hemihiperplasia aislada como criterio mínimo para sospechar del SBW y realizar estudio molecular. En el consenso se propone cambiar el término “hemihiperplasia” por “sobrecrecimiento lateralizado” y “espectro Beckwith-Wiedemann” para los

pacientes sin las características clásicas pero con confirmación molecular (Brioude, et al., 2018).

En el estudio molecular se identificaron dos pacientes (casos 1 y 7) con alteración en la impronta de la región 11p15, ambos con hipometilación del ICR2 correspondientes al patrón responsable del síndrome de Beckwith-Wiedemann. Entre los pacientes con hemihiperplasia aislada se encontró sólo un paciente con antecedente de tumor embrionario (caso 6), lo que representa el 11.1% de la muestra comparado con el 5.9% reportado en la literatura (Blied, et al., 2008). Sin embargo, se debe tener en cuenta que nuestra muestra es pequeña y que al ser pacientes pediátricos podrían presentar la neoplasia en etapas posteriores (8-10 años de vida) (Ounap, 2016). Llama la atención que el paciente seis no fue positivo para el estudio de metilación; sin embargo, es más frecuente encontrar el tumor de Wilms asociado a disomía uniparental de 11p15.5 o hipermetilación del ICR1 (Ounap, 2016). En este paciente habría que descartar mediante estudio de microsatélites la disomía uniparental paterna del cromosoma 11 que se encuentra asociada a la hemihiperplasia y a la mayor incidencia de neoplasias de origen embrionario (Cooper et al., 2005). En el caso de encontrar hemihiperplasia aislada es importante buscar datos clínicos mínimos de síndrome de Beckwith-Wiedemann y de otros síndromes que cursan con sobrecrecimiento. Ya que de acuerdo al Consenso 2018, podrían corresponder a variantes en la expresión o a afectación tisular selectiva debida a factores estocásticos.

Los hallazgos clínicos y moleculares así como el análisis de tipo y frecuencia de las alteraciones y la relación fenotipo-genotipo encontrado en esta tesis corresponde a las descritas previamente en la literatura en el síndrome de Beckwith-Wiedemann y en el síndrome de Silver-Russell (Ibrahim, et al., 2014; Azzi, et al., 2015). Las manifestaciones clínicas y los resultados del estudio molecular fueron similares a las series descritas previamente, incluyendo los porcentajes de casos que son negativos al análisis de metilación y quienes deberían ser sometidos a otros estudios para confirmar el mecanismo molecular que los ocasionó (Brioude, et al. 2018; Wakeling, et al., 2016). En cuanto a los casos positivos, se podrá llevar un mejor seguimiento y manejo

ahora que se conocen cuáles pacientes podrían tener un mayor riesgo para presentar neoplasias de origen embrionario.

En relación a la hemihiperplasia aislada existe poca información disponible comparada con la encontrada en el SBW y el SSR. Es importante mencionar que cuando el presente protocolo de investigación fue aprobado, los pacientes invitados cumplían los criterios clínicos de SBW propuestos por el grupo de Ibrahim para participar en el estudio molecular (Ibrahim et al., 2014). Sin embargo aún no se habían propuesto los nuevos criterios del Consenso Internacional publicados en el año 2018 en donde se propuso el término “espectro de Beckwith-Wiedemann” y que establece que la hemihiperplasia puede ser un grado mínimo de este espectro; lo que podría considerarse un sesgo de selección en relación a los pacientes con SBW y hemihiperplasia aislada. Los resultados de esta tesis apoyan que el diagnóstico clínico es la base para identificar de manera oportuna una enfermedad genética, para dar un tratamiento adecuado en caso de que esté disponible y/o brindar abordaje, manejo y seguimiento adecuado en búsqueda de probables complicaciones a lo largo de la vida.

En cuanto al asesoramiento genético en el SBW y el SSR, cuando el mecanismo molecular es debido a alteración epigenética en la impronta, se consideran casos esporádicos hasta en el 85% y sólo un 15% puede deberse a transmisión familiar. Los subgrupos moleculares pueden asociarse a riesgos de recurrencia diferentes (Weksberg, 2011) que deben ser individualizados al encontrar el mecanismo molecular que ocasionó la enfermedad.

Por lo tanto la sospecha diagnóstica del síndrome de Beckwith-Wiedemann, el síndrome de Silver-Russell y la hemihiperplasia aislada del médico general y/o pediatra es clave para la identificación de estos pacientes, ya que ellos son el personal de salud de primer contacto y quienes los referirán al médico genetista. Como genetista es necesario conocer las manifestaciones clínicas, los diferentes mecanismos moleculares y las posibles complicaciones de estas entidades. Se debe realizar el cariotipo y el análisis de metilación como parte del abordaje de primera línea ya que las alteraciones epigenéticas son las responsables de la enfermedad en la mayoría de los casos, si este se realiza

por MS-MLPA es posible detectar microdeleciones o microduplicaciones, lo que hace que no sea necesario el uso de microarreglos. Posteriormente se debe hacer un análisis de microsatélites para descartar disomía uniparental o la secuenciación de genes específicos como *CDKN1C* o de nueva generación.

10. CONCLUSIONES

En este trabajo se realizó el análisis de una cohorte de pacientes mexicanos que acudieron a consulta al HIMFG con síndrome de Beckwith-Wiedemann (11 pacientes), síndrome de Silver-Russell (8 pacientes) y hemihiperplasia aislada (9 pacientes). Se les realizó una revisión clínica detallada y en 26 casos estudio molecular por MS-MLPA para analizar el patrón de metilación de la región 11p15.5 para establecer la relación fenotipo-genotipo.

El SBW se caracteriza por defectos en la pared abdominal, macrosomía, macroglosia, hipoglucemias en la etapa neonatal, *naevus flammeus* y mayor incidencia de tumores de origen embrionario principalmente en lactantes y en etapa escolar.

De los 11 pacientes con SBW identificados clínicamente, sólo en 9 se realizó MS-MLPA, seis tuvieron un resultado positivo para alteración en el patrón de impronta, 5 con hipometilación de ICR2, uno con hipermetilación de ICR1 y sólo un caso presentó una duplicación de la región 11p15 que provocó un cambio en el patrón de metilación.

Se identificaron 8 pacientes con diagnóstico clínico de síndrome de Silver-Russell. El 100% de los casos presentó peso y talla bajo al nacimiento, talla baja a partir de los 2 años de edad, macrocefalia relativa, el fenotipo facial clásico, dos casos tuvieron dificultad para la alimentación y sólo un caso cursó con asimetría corporal. El mecanismo molecular fue identificado en 4 de los 8 pacientes (50%) que reportaron hipometilación del ICR1.

Se encontraron 9 pacientes con hemihiperplasia aislada, 33% masculinos y 66% femeninos. El 66.7% presentaba hemihiperplasia derecha y el 33.3% izquierda. En esta muestra el 11.1% presentó tumor de Wilms. El estudio molecular identificó 2 pacientes con alteración en la impronta, compatible con el mecanismo encontrado en el espectro de Beckwith-Wiedemann.

En los pacientes con síndrome de Beckwith-Wiedemann, síndrome de Silver-Russell o hemihiperplasia aislada es importante establecer el mecanismo molecular por el cual se originaron, debido a que tienen riesgos diferentes de desarrollar complicaciones como los tumores embrionarios dependiendo de la alteración presente. Esto también es importante para otorgar un asesoramiento genético particular para cada paciente y sus familiares.

11. LIMITACIONES DE ESTUDIO

La técnica de MS-MLPA permite identificar a la mayoría de casos de pacientes con SBW, SSR o de hemihiperplasia aislada al identificar las alteraciones de la impronta de la región 11p15.5, así como microduplicaciones y microdeleciones. En los pacientes con resultado negativo para el estudio, no se descarta el diagnóstico ya que se conoce que hay heterogeneidad en su etiología y que esta puede estar relacionada a diferentes alteraciones genética o epigenéticas.

12. BIBLIOGRAFÍA

1. Ahmad, K. & Henikoff, S. (2002). The histone variant H3.3 marks active chromatin by replication-independent nucleosome assembly. *Molecular Cell*. 9:1191–1200.
2. Ambrosi, C., Manzo, M., Baubec, T. (2017). Dynamics and context-dependent roles of DNA methylation. *Journal of Molecular Biology*. 429: 1459-1475.
3. Andrews, A. J. & Luger, K. (2009). Histone modifications: chemistry and structural consequences. *Wiley Encyclopedia of Chemical Biology* Vol. 1 (ed. Begley, T. P.) 275–284.
4. Azzi S., Salem J., Thibaud N., Chantot-Bastaraud S., Lieber E. (2015). A prospective study validating a clinical scoring system and demonstrating phenotypical-genotypical correlations in Silver- Russell syndrome. *Journal of Medical Genetics* 52: 446–453.
5. Barlow, D. P. (2011). Genomic imprinting: a mammalian epigenetic discovery model. *Annual Review of Genetics*. 45: 379–403.
6. Baskin, B., Choufani, S., Chen, Y., Parkinson, N., Lemyre, E., et al. (2014). High frequency of copy number variations (CNVs) in the chromosome 11p15 region in patients with Beckwith-Wiedemann syndrome. *Human Genetics*. 133: 321–330.
7. Bartolomei, M. S., Zemel, S. & Tilghman, S. M. (1991). Parental imprinting of the mouse *H19* gene. *Nature* 351: 153–155.
8. Begemann, M., Spengler, S., Gogiel, M., Grasshoff, U., Bonin, M., et al. (2012). Clinical significance of copy number variations in the 11p15.5 imprinting control regions: new cases and review of the literature. *Journal of Medical Genetics*. 49: 547-553.
9. Blik, J., Maas, S., Alders, M., Merks, J., Mannens, M. (2008). Epigenotype, phenotype, and tumors in patients with isolated hemihyperplasia. *Journal of Pediatrics*. 153: 95-100.
10. Brioude, F., Kalish, JM., Mussa, A., Foster, AC., Blik, J., et al. (2018). Clinical and molecular diagnosis screening and management of Beckwith-

- Wiedemann syndrome: an international consensus statement. *Nature Endocrinology*. Advance on line publication. 1-21.
11. Brioude, F., Lacoste, A, Netchine, I., Vazquez, M.P, Auber, F, et al. (2014). Beckwith-wiedemann syndrome: growth pattern and tumor risk according to molecular mechanism, and guidelines for tumor surveillance. *Hormone Research in Paediatrics*. 80: 457–465.
 12. Brioude F., Oliver P., Blaise A., Praz F., Rossignol S. (2013). CDKN1C mutation affecting the PCNA-binding domain as a cause of familial Russell-Silver syndrome. *Journal of Medical Genetics*. 50:823–830.
 13. Brioude, F., Netchine, I., Praz, F., Le Jule, M., Calmel, C., et al. (2015). Mutations of the imprinted *CDKN1C* gene as a cause of the overgrowth Beckwith- Wiedemann syndrome: clinical spectrum and functional characterization. *Human Mutation*. 36: 894–902
 14. Bullman H., Lever, M., Robinson, D., Mackay, D., Holder, S., Wakeling, E. (2008). Mosaic maternal uniparental disomy of chromosome 11 in a patient with Silver-Russell syndrome. *Journal of Medical Genetics*. 45: 396–399.
 15. Carrera, I., de Zaldivar, M., Martin, R., Begemann, M., Soellner, L., Eggermann T. (2016). Microdeletions of the 7q32.2 imprinted region are associated with Silver-Russell syndrome features. *American Journal of Medical Genetics*. 170: 743–749.
 16. Cattanach, B. M. & Kirk, M. (1985). Differential activity of maternally and paternally derived chromosome regions in mice. *Nature*. 315: 496–498.
 17. Choufani, S., Shuman, C. & Weksberg, R. (2010). Beckwith- Wiedemann syndrome. *American Journal of Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetics*. 154C: 343–354.
 18. Christine Schwiendbacher, A. A. (2000). Abnormal RNA Expression of 11p15 Imprinted Genes and Kidney Developmental Genes in Wilms´Tumor. *Cancer Research*. 1521-1525.
 19. Cooper, W.N., Luharia, A., Evans, G.A., Raza, H., Haire, A.C., et al. (2005). Molecular subtypes and phenotypic expression of Beckwith-Wiedemann syndrome. *European Journal of Human Genetics*. 13: 1025–1032.

20. Clericuzio, C. (2009). Diagnostic criteria and tumor screening for individuals with isolated hemihyperplasia. *Genetics in Medicine*. 11:220-222.
21. Cytrynbaum, C., Chong, K., Hanning, V., Choufani, S., Shuman, C., et al. (2016). Genomic Imbalance in the Centromeric 11p15 Imprinting Center in Three Families: Further Evidence of a Role for IC2 as a Cause of Russell-Silver Syndrome. *American Journal of Medical Genetics. Part A* 170 A: 2731-2739.
22. DeChiara, T. M., Robertson, E. J. & Efstratiadis, A. (1991). Parental imprinting of the mouse insulin-like growth factor II gene. *Cell* 64: 849–859.
23. Deichmann, Ute. (2016). Epigenetics: The origins and evolutions of a fashionable topic. *Developmental Biology*, 416: 249-254.
24. Eggermann, T., Algar, E., Lapunzina, P., Mackay, D., Maher, E. R., et al. (2013). Clinical utility gene card for: Beckwith–Wiedemann Syndrome. *Journal of Human Genetics*. 22: 7–10.
25. Eggermann, T., Binder, G., Brioude, F., Maher, E.R., Lapunzina, P., et al. (2014a). *CDKN1C* mutations: two sides of the same coin. *Trends in Molecular Medicine*. 20: 614–622
26. Elhamamsy, A. R. (2017). Role of DNA methylation in imprinting disorders: an updated review. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 1-14.
27. Emirjeta Bajrami, M. S. (2016). Genomic Imprinting. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 181-184.
28. Engel, J.R., Smallwood, A., Harper, A., Higgins, M.J., Oshimura, M., et al. (2000). Epigenotype-phenotype correlations in Beckwith-Wiedemann syndrome. *Journal of Medical Genetics*. 37: 921–926.
29. Felsenfeld, G. (2014). A Brief History of Epigenetics. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 6: 1-10.
30. Fessele, K., Wright, F. (2017). Primer in Genetics and Genomics, Article 6: Basics of Epigenetic Control. *Biological Research for Nursing*. 1-8.
31. Galaz C., García C., Cervantes A., García L., Morán V. (2014). Perfil clínico de una cohorte de pacientes con síndrome de Silver-Russell

- atendidos en el Hospital Infantil de México Federico Gómez de 1998 a 2012. *Boletín Médico Hospital Infantil de México*. 71(4):218-226.
32. Gicquel, C., Rossignol, S., Cabrol, S., Houang, M., Steunou, V., et al. (2005). Epimutation of the telomeric imprinting center region on chromosome 11p15 in Silver–Russell syndrome. *Nature Genetics*. 37: 1003–1007.
 33. Guanciali-Franchi, P., Di Luzio, L., Lezzi, I., Celentano, C., Matarelli, B., et al. (2012). Elevated maternal serum α -fetoprotein level in a fetus with Beckwith- Wiedemann syndrome in the second trimester of pregnancy. *Journal of Perinatal Medicine*. 6: 7–9.
 34. Halliday, J., Oke, K., Breheny, S., Algar, E. Amor, D. (2004). Beckwith- Wiedemann syndrome and IVF; a case-control study. *American Journal of Medical Genetics*. 75: 526-528.
 35. Hark, A. T., Schoenherr, J., Katz, D.J., Ingram, R.S., Levorse, J.M., Tilghman, S.M. (2000). CTCF mediates methylation-sensitive enhancer-blocking activity at the *H19/Igf2* locus. *Nature* 405: 486–489.
 36. Hoyme, H.E., Seaver, L.H., Jones, K.L., Procopio, F., Crooks, W., Feingold, M. (1998). Isolated hemihyperplasia (hemihypertrophy): report of a prospective multicenter study of the incidence of neoplasia and review. *American Journal of Medical Genetics*, 79:274-8.
 37. Ibrahim, A., Kirby, G., Hardy, C., Dias, R., Tee, L., et al. (2014). Methylations analysis and diagnostics of Beckwith-Wiedemann síndrome in 1,000 subjects. *Clinical Epigenetics*. 6: 1-11.
 38. Jin, Z., Liu, Y. (2018). DNA Methylation in Human Diseases. *Genes and Diseases*. 5: 1-8.
 39. Kadouch, D.J.M., Maas, S.M., Dubois, L. van der Horst, C.M.A.M. (2012). Surgical treatment of macroglossia in patients with Beckwith–Wiedemann syndrome: a 20-year experience and review of the literature. *International Journal of Oral Maxillofacial Surgery*. 41:300–308.
 40. Kaneda, M., Okano, M., Hata, K., Sado, T., Tsujimoto, N., Li, E., Sasaki, H. (2004). Essential role for de novo DNA methyltransferase Dnmt3a in paternal and maternal imprinting. *Nature*. 429: 900-903.
 41. Katja Eggermann, J. B. (2016). EMQN best practice guidelines for the molecular genetic testing and reporting of chromosome 11p15 imprinting

- disorders: Silver-Russell and Beckwith-Wiedemann syndrome. *European Journal of Human Genetics*, 1377-1387.
42. Keren, B., Chantot-Bastarud, S., Brioude, F., Mach, C., Fonteneau, E. et al. (2013). SNP arrays in Beckwith-Wiedemann syndrome: an improved diagnostic strategy. *European Journal of Medical Genetics*. 56: 546–550.
43. Keverne, E. B. & Curley, J. P. (2008) Epigenetics, brain evolution and behaviour. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 29: 398–412
44. Kong, L., Lv, R., Shi, Z., Xiong, L., Wu, F., et al. (2015). A primary role of TET proteins in establishment and maintenance of De Novo bivalency at CpG islands. *Nucleic Acids Research*. Vol 44. No. 18: 8682-8692.
45. Lapunzina P. (2005). Risk of tumorigenesis in overgrowth syndromes: a comprehensive review. *American Journal of Medical Genetics*. 137C: 53-71.
46. Lawrence, M., Daujat, S., Scheneider, R. (2016). Lateral Thinking: How Histone Modifications Regulate Gene Expression. *Trends in Genetics*. Vol. 32, No.1: 42-56
47. Lim, D., Bowdin, S.C., Tee, L., Kirby, G.A., Blair, E. et al. (2009). Clinical and molecular genetic features of Beckwith-Wiedemann syndrome associated with assisted reproductive technologies. *Human Reproduction*. 24: 741–747.
48. Louse E Docherty, F. I. (2014). Genome-wide DNA methylation analysis of patients with imprinting disorders identifies differentially methylated regions associated with novel candidate imprinted genes. *Journal of Medical Genetics*. 229-238.
49. Luger, K., Mader, A.W., Richmond, R.K., Sargent, D.F., Richmond, T.J. (1997). Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. *Nature*. 389: 251–260.
50. Luger, K., Dechassa, ML., Tremethick, D. (2012). New insights into nucleosome and chromatin structure: an ordered state or a disordered affair?. *Nature*. Vol 13: 436-447.
51. Lukas Soellner, M. B. (2017). Recent Advances in Imprinting Disorders. *Clinical Genetics*. 3-13.

52. Maas, S.M., Vansenne, F., Kadouch, D.J., Ibrahim, A., Bliet, J. et al. (2016). Phenotype, cancer risk, and surveillance in Beckwith-Wiedemann syndrome depending on molecular genetic subgroups. *American Journal of Medical Genetics A* 170: 2248–2260.
53. Maeshima, K., Imai, R., Tamura, S., Nozaki, T. (2014). Chromatin as dynamic 10-nm fibers. *Chromosoma*. 123: 225-237.
54. Martin, R.A., Grange, D.K., Zehnbauser, B., DeBaun, M.R. (2005). LIT1 and H19 methylation defects in isolated hemihyperplasia. *American Journal of Medical Genetics A*. 134:129-31.
55. McGrath, J. & Solter, D. (1984). Completion of mouse embryogenesis requires both the maternal and paternal genomes. *Cell* 37: 179–183.
56. Moore, T. & Haig, D. (1991). Genomic imprinting in mammalian development: a parental tug-of-war. *Trends in Genetics*. 7: 45–49.
57. Moreno R., García C., Cervantes A., García L., Martínez L., Peñaloza R., Morán V. (2013). Perfil clínico de una cohorte de pacientes con síndrome de Beckwith-Wiedemann atendidos en el Hospital Infantil de México Federico Gómez de 2007 a 2012. *Boletín Médico Hospital Infantil México*. 70(2):166-173.
58. MRC-Holland. Last update 30 NOV 2016. Obtenido de MRC-Holland: www.mlpa.com
59. Mussa, A., Molinatto, C., Cerrato, F., Palumbo, O., Carella, M. et al. (2017). Assisted reproductive techniques and risk of Beckwith-Wiedemann syndrome. *Pediatrics*. 140, e20164311.
60. Mussa, A., Molinatto, C., Baldassarre, G., Riberi, E., Russo, S. et al. (2016). Cancer risk in Beckwith-Wiedemann syndrome: a systematic review and meta-analysis outlining a novel (epi)genotype specific histotype targeted screening protocol. *Journal of Pediatrics*. 176: 142–149.
61. Mussa, A., Russo, S., De Crescenzo, A., Freschi, A., Calzari, L., et al. (2016b). (Epi)genotype-phenotype correlations in Beckwith-Wiedemann syndrome. *European Journal of Human Genetics*. 24: 183–190.
62. Mussa, A., Di Candi, S., Russo, S., Catania, S., De Pellegrin, M. et al. (2015). Recommendations of the Scientific Committee of the Italian Beckwith–Wiedemann Syndrome Association on the diagnosis,

- management and follow-up of the syndrome. *European Journal of Medical Genetics*. 59: 52–64.
63. Mussa, A., Russo, S., De Crescenzo, A., Chiesa, N., Molinatto, C., et al. (2013). Prevalence of beckwith-wiedemann syndrome in North West of Italy. *American Journal of Medical Genetics*. Part A 161: 2481–2486.
64. Nakashima, S., Kato, F., Kosho, T., Nagasaki, K., Kikuchi, T. et al. (2015). Silver–Russell syndrome without body asymmetry in three patients with duplications of maternally derived chromosome 11p15 involving *CDKN1C*. *Journal of Human Genetics*. 60: 91–95.
65. Nayeri, U. A., West, A. B., Grossetta Nardini, H. K., Copel, J. A. & Sfakianaki, A. K. (2013). Systematic review of sonographic findings of placental mesenchymal dysplasia and subsequent pregnancy outcome. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 41: 366–374.
66. Nanney, D.L. (1958). Epigenetic control systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 44: 712–717.
67. Netchine, I., Rossignol, S., Dufourg, M-N., Azzi, S., Rousseau, A. et al. (2007). 11p15 imprinting center region 1 loss of methylation is a common and specific cause of typical Russell–Silver syndrome: clinical scoring system and epigenetic-phenotypic correlations. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 92: 3148–3154.
68. Niemitz, E.L., Feinberg, A.P., Brandenburg, S.A., Grundy, P.E., DeBaun, M.R. (2005). Children with idiopathic hemihypertrophy and beckwith-wiedemann syndrome have different constitutional epigenotypes associated with wilms tumor. *American Journal of Human Genetics*. 77: 887– 891.
69. Oudet, P., Gross-Bellard, M., Chambon, P. (1975) Electron microscopic and biochemical evidence that chromatin structure is a repeating unit. *Cell*. 4: 281–300.
70. Öunap, K. (2016). Silver-Russell syndrome and Beckwith-Wiedemann syndrome: Opposite Phenotypes with Heterogeneous Molecular Etiology. *Molecular Syndromology*. 7:110-121.
71. Olins, D.E., Olins, A.L. (2003) Chromatin history: our view from the bridge. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 4: 809-814.

72. Panduro, A. (2012). *Biología molecular en la clínica. Mc Graw Hill. 2ª. Edición. 70-71.*
73. Peters J. (2014). The role of genomic imprinting in biology and disease: an expanding view. *Nature Reviews Genetics. 15: 517-530.*
74. Priyamvada, P. S., Parameswaran, S., Sandeep, M., Shankar, V., Swaminathan, R.P. (2014). Medullary sponge kidney and isolated hemihyperplasia. *Indian Journal of Nephrology. Vol. 24: 243-246.*
75. Talbert, P., Henikoff, S. (2010). Histone variants-ancient wrap artist of the epigenome. *Nature Reviews Molecular Cell Biology. Vol 11: 264-275.*
76. Roženková, K., Güemes, M., Shah, P. & Hussain, K. (2015). The diagnosis and management of hyperinsulinaemic hypoglycaemia. *Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology. 7: 86–97.*
77. Russell A. (1954). Syndrome of intra-uterine dwarfism recognizable at birth with cranio-facial dysostosis, disproportionately short arms, and other anomalies (5 examples). *Proceedings of the Royal Society of Medicine. 47:1040–1044.*
78. Russo, S., Calzari, L., Mussa, A., Mainini, E., Cassina, M., et al. (2016). A multi-method approach to the molecular diagnosis of overt and borderline 11p15.5 defects underlying Silver-Russell and Beckwith- Wiedemann syndromes. *Clinical Epigenetics. 8: 23.*
79. Sha, Ka. (2008). Mechanistic view of genomic imprinting. *Annual Review of Genomics and Human Genetics. 9:197-216.*
80. Shuman, C., Smith, A.C., Steele, L., Ray, P.N., Clericuzio, C. et al. (2006). Constitutional UPD for chromosome 11p15 in individuals with isolated hemihyperplasia is associated with high tumor risk and occurs following assisted reproductive technologies. *American Journal of Medical Genetics. A 140:1497–1503.*
81. Silver, H.K., Kiyasu, W., George, J., Deamcr, W.C. (1953). Syndrome of congenital hemihypertrophy, shortness of stature and elevated urinary gonadotrophins. *Pediatrics. 12:368–376.*
82. Silvia Russo, L. C. (2016). A multi-method approach to the molecular diagnosis of overt and borderline 11p15.5 defects underlying Silver-Russell and Beckwith-Wiedemann syndromes. *Clinical Epigenetics, 8-23.*

83. Sleutels, F., Zwart, R. & Barlow, D. P. (2002). The non-coding *Air* RNA is required for silencing autosomal imprinted genes. *Nature* 415: 810–813.
84. Scott, R.H., Douglas, J., Baskcomb, L., Huxter, N., Barker, K., et al. (2008). Constitutional 11p15 abnormalities, including heritable imprinting center mutations, cause nonsyndromic Wilms tumor. *Nature Genetics*. 40: 1329–1334.
85. Schweizer, R., Martin, D. D., Schonau, E. & Ranke, M. B. (2008). Muscle function improves during growth hormone therapy in short children born small for gestational age: results of a peripheral quantitative computed tomography study on body composition. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 93: 2978–2983.
86. Spector, L. G. & Birch, J. (2012). The epidemiology of hepatoblastoma. *Pediatric Blood and Cancer*. 59: 776–779.
87. Venkatesh, S., Workman, J. (2015). Histone exchange, chromatin structure and the regulation of transcription. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. Vol 16: 178-189.
88. Waddington, C.H. (1942). The epigenotype. *Endeavor*. 1:18–20.
89. Wakeling, E., Amero, S., Alders, M., Bliet, J., Forsythe, E., et al. (2010). Epigenotype-phenotype correlations in Silver-Russell syndrome. *Journal of Medical Genetics*. 47: 760–768.
90. Wakeling, E.L., Brioude, F., Lokulo-Sodipe, O., O'Connell, S., Salem, J., et al. (2016). Diagnosis and management of Silver-Russell syndrome: first international consensus statement. *Nature Reviews Endocrinology*. Advance online publication: 1-24.
91. Wakeling, E. L., Amero, A., Alders, M., Bliet, J., Forsythe, E., et al. (2010). Epigenotype–phenotype correlations in Silver–Russell syndrome. *Journal of Medical Genetics*. 47: 760–768.
92. Weber, C., Henikoff, S. (2014). Histone variants: dynamic punctuation in transcription. *Genes and development*. 28:672-682.
93. Weksberg, R., Shuman, C., Beckwith, J.B. (2010). Beckwith–Wiedemann syndrome. *European Journal of Human Genetics*. 18(1):8–14.
94. Wiedemann, H.R. (1983). Tumours and hemihypertrophy associated with Wiedemann- Beckwith syndrome. 141 ed., p. 129.

95. Wu H, Zhang Y. (2014) Reversing DNA methylation: mechanisms, genomics, and biological functions. *Cell*.156:45-68.

ANEXO I. HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Fecha: _____

Ficha de Identificación

Nombre: _____ Registro: _____

Edad: _____ Género: _____

Fecha de Nacimiento: _____ Lugar de Nacimiento: _____

Lugar de Residencia: _____

Fecha de Primera Consulta: _____

Diagnóstico: _____

Antecedentes Heredofamiliares

Madre: _____ Edad: _____

Ocupación: _____ Tabaquismo: _____

Alcoholismo: _____ Toxicomanías: _____

Manifestaciones Clínicas de la Enfermedad: _____

Padre: _____ Edad: _____

Ocupación: _____ Tabaquismo: _____

Alcoholismo: _____ Toxicomanías: _____

Manifestaciones Clínicas de la Enfermedad: _____

Hermanos: _____ Edad: _____

Manifestaciones Clínicas de la Enfermedad: _____

Ocupación: _____

Antecedentes Personales No Patológicos

Perinatales: _____

Alimentación: _____

Desarrollo Psicomotor: _____

Inmunizaciones: _____

Antecedentes Personales Patológicos

Otros:

Padecimiento actual:

Exploración Física

Peso: _____

Talla: _____

Otros:


Árbol Genealógico:


Análisis de Metilación Realizado


Fecha: _____

Resultado: _____

ANEXO II. HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA TOMA DE MUESTRA SANGUÍNEA

 **SALUD**
SECRETARÍA DE SALUD

 Hospital Infantil de México Federico Gómez
Instituto Nacional de Salud
Departamento De Genética

 "2017, Año del Centenario de la Promulgación de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos"

Carta de consentimiento informado

Proyecto de investigación:
"Determinación de las variantes en el patrón de impronta genómica en la región 11p15.5 en patologías pediátricas tipo síndrome de Silver Russell o de Beckwith Wiedemann, Tumor de Wilms y hemihiperplasia". HIM 2017-033.

Estimado madre y/o padre:

Por medio de esta carta, lo invitamos a participar en el estudio mencionado arriba, Usted debe saber que participar en esta investigación es totalmente voluntario, de manera que usted puede decidir no participar en el estudio y en este caso no perdería ninguna prestación a la que tiene derecho.

Debido a que la información que se recabe es absolutamente confidencial y con fines de investigación, usted debe saber que no daremos a conocer ninguna información acerca de su hija(o), sin su consentimiento.

JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La presente investigación pretende conocer y entender mejor porque se presenta la enfermedad que tiene su hija(o). Esta investigación estudia las características y los cambios que pudieran existir en su ADN, que es el material de la herencia que contiene la información para el desarrollo adecuado de un individuo. Por ello esta investigación puede proporcionarnos conocimientos que ayuden a otros individuos en un futuro.

OBJETIVO DEL ESTUDIO


Su hija(o) tiene una enfermedad que podría estar relacionada a alteraciones en la región cromosómica 11p15 o de 5q35.3, la cual tiene diversas causas y el propósito del estudio es buscar los posibles cambios en el material genético en la muestra sanguínea, y así poderle brindar un asesoramiento genético más amplio.

PROCEDIMIENTO DEL ESTUDIO

Para este estudio requerimos una muestra de sangre de 1-2ml mediante el siguiente procedimiento:

Toma de muestra sanguínea

1. Se explica detalladamente el procedimiento al paciente y/o familiar.
2. Bajo condiciones higiénicas óptimas, se coloca el brazo extendido y se selecciona la vena por palpación preferentemente en el antebrazo.
3. Mediante tubo S-Monovette® y dispositivo Multify®-Set para toma de muestra sanguínea se tomarán 1ml de sangre aproximadamente.
4. La muestra sanguínea será almacenada a 4 °C hasta el estudio del material genético.

 INSTITUTO NACIONAL DE SALUD AFILIADO A LA UNAM

Dr. Márquez 162, Col. Doctores, Del. Cuauhtémoc, C.P. 06720 México D.F.
Conmutador: 5228-9917 ext. 9157,2037, 2153
www.himfg.edu.mx

En caso de que se trate de un diagnóstico de Tumor de Wilms, la muestra de DNA se extraerá de la muestra del tumor en parafina.

RIESGOS Y MOLESTIAS

Los posibles riesgos de la toma de muestra sanguínea son molestia leve en el sitio donde se le tomo la muestra, formación de moretones, hemorragia o infección.

BENEFICIOS

Se les proporcionará asesoramiento genético con toda la información que llegue a integrarse. Su colaboración permitirá obtener conocimiento que tal vez ayudará a otras familias que presenten problemas similares en un futuro.

COSTOS

Las pruebas realizadas en la muestra sanguínea así como cualquier consulta que usted tenga con el médico en relación al estudio de investigación, no tendrán ningún costo. Usted tiene la garantía de recibir respuesta a sus preguntas y aclaración a cualquier duda acerca de los procedimientos, riesgos, beneficios y otros asuntos relacionados con la investigación y el tratamiento del sujeto. Si este fuera el caso, deberá comunicarse con los médicos responsables de la investigación Dra. Verónica Fabiola Morán Barroso al departamento de Genética, teléfono 52 28 99 17 ext. 2037 y/o a la dirección de Investigación del HIMFG.

Le sugerimos que conserve una copia de este documento para consultarla si es necesario.

He leído las explicaciones acerca de este estudio y se me ha dado la oportunidad de discutirlos y de hacer preguntas.

Por este medio otorgo mi consentimiento para participar en el estudio.

México, D.F. a _____ de _____ de _____

Nombre del paciente _____

Nombre y firma de la Madre _____

Nombre y firma del Padre _____

Nombre y firma de testigo 1
Parentesco con el paciente _____

Nombre y firma de testigo 2
Parentesco con el paciente _____

EL PRESENTE DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO SE UTILIZARÁ ENTRE LOS AÑOS DE 2017-2018.



INSTITUTO NACIONAL DE SALUD AFILIADO A LA UNAM

Dr. Márquez 162, Col. Doctores, Del. Cuauhtémoc, C.P. 06720 México D.F.
Conmutador: 5228-9917 ext. 9157,2037, 2153
www.himfg.edu.mx

ANEXO III. HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA TOMA DE FOTOGRAFÍAS



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



México, D.F. a ____ de ____ de 20__

A QUIEN CORRESPONDA:

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

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

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

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

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

Nombre y firma

Paciente/tutor
Parentesco con el paciente

Testigo 1

Testigo 2

ANEXO IV. TÉCNICA DE AMPLIFICACIÓN MÚLTIPLE DE SONDAS LIGADAS SENSIBLE A METILACIÓN (MS-MLPA)

El DNA fue extraído de sangre periférica utilizando el cartucho AS1010 y el equipo Maxwell 16 de Promega. El ADN fue desnaturalizado para llevar a cabo la hibridación con el cóctel de sondas ME030-C3 que contiene 26 sondas de aproximadamente 50 – 80 nt de longitud para la región 11p15.5 y dos sondas adicionales para el Síndrome de Sotos. Trece sondas de control, para genes fuera de la región de interés. Cada sonda de MLPA consiste en dos oligonucleótidos que son ligados únicamente si están adyacentes en la secuencia blanco. Una vez ligados son amplificados mediante PCR utilizando iniciadores que reconocen y amplifican todas las sondas ligadas. La reacción fue dividida en dos partes, una de las cuales se empleó para determinar el grado de metilación digiriendo con la enzima *HhaI*. Los fragmentos obtenidos fueron separados por electroforesis capilar en el secuenciador ABI3500 empleando polímero POP7. Para el análisis de los resultados se empleó el programa Coffalyser proporcionado por el fabricante.