



Universidad Zaragoza

Trabajo Fin de Grado

SÍNDROME DE DIGEORGE VARIABILIDAD EN LA EXPRESIÓN

DIGEORGE SYNDROME, VARIABLE EXPRESSIVITY

Autor/es

Néstor Castán Villanueva

Director/es

Dra. Lourdes Santolaria

Facultad de Medicina / Zaragoza
Departamento de Anatomía y Embriología
2015-1016

ÍNDICE:

ABREVIATURAS	3
RESUMEN/ABSTRACT	4-5
PLANTEAMIENTO	6
CASO CLÍNICO	6-8
ARTÍCULO DE REVISIÓN:	
1. Historia y epidemiología	9
2. Fisiopatología:	10-20
2.1. Desarrollo embriológico	10-12
2.2. Genética:	13-16
2.2.1. Anomalías citogenéticas	13-14
2.2.2. Anomalías génicas	14-16
2.3. Mecanismos de variabilidad fenotípica	16-18
2.4. Modelos experimentales para el estudio de SDG	18-20
3. Clínica:	21-26
3.1. Defectos Cardíacos	21
3.2. Alteraciones Inmunitarias:	22
3.2.1. Hipoplasia tímica y deficiencia inmune	
3.2.2. Enfermedades autoinmunes	
3.3. Enfermedades Endocrinas:	23
3.3.1: Hipoparatiroidismo	
3.3.2: Alteraciones tiroideas	
3.3.3: Anomalías de crecimiento	
3.4 Malformaciones craneofaciales	23-24
3.5. Desarrollo psicomotor y aprendizaje	24
3.6. Malformaciones renales y genitales	25
3.7. Patologías ORL y oftálmica	25
3.8. Trastornos psiquiátricos	25
3.9. Trastornos funcionales pediátricos	26
4. Diagnóstico	26-29
5. Consejo Genético	29-30
6. Conclusión	31
7. Bibliografía	32-36

ABREVIATURAS

- CCN: células de la cresta neural
- CGH: hibridación genómica comparativa
- COMT: catecol-O-metiltransferasa
- DGP: diagnóstico preimplantacional
- DPNI: detección fetal no invasiva
- FGF10: Factor de crecimiento de fibroblastos 10
- FGF8: Factor de crecimiento de fibroblastos 8
- FISH: hibridación in situ
- GBX2: gastrulation brain homeobox 2
- HIRA: histone cell cycle regulation defective homolog A
- HUMS: hospital Universitario Miguel Servet
- LCR: low copy repeats
- MLPA: multiplex ligation-dependet probe amplification (amplificación múltiple mediante sondas ligando-dependientes)
- NAHR: recombinación homóloga no alélica
- P95: Percentil 95
- PITX2: paired like homeodomain 2
- PRODH: proline dehydrogenase
- SDG: síndrome de DiGeorge
- TBX1: T-box transcription factor 1
- TN: translucencia nucal
- UFD1L: ubiquitin fusion degradation 1-like

RESUMEN

El síndrome de DiGeorge (SDG), presenta una incidencia global de 1:4000-6000 nacidos vivos, y está causado por una microdelección en heterocigosis, que afecta a la región cromosómica 22q11.2. Dicha anomalía, se produce en la mayoría de los casos como mutación “de novo”, y con menos frecuencia, es heredada con un patrón autosómico dominante.

La haploinsuficiencia de cierto número de genes incluidos en la región crítica, especialmente de TBX1, origina anomalías en la migración de las células de la cresta neural durante el desarrollo embrionario, afectando especialmente al desarrollo y diferenciación del tercer y cuarto arcos faríngeos, y a la formación de sus órganos derivados.

Las manifestaciones fenotípicas características de este síndrome, consisten en un cuadro clínico en que confluyen: una inmunodeficiencia debida a aplasia/hipoplasia tímica, una hipocalcemia por hipoparatiroidismo, y distintas malformaciones cardíacas (tetralogía de Fallot, interrupción del arco aórtico, comunicación interventricular, etc.) Estos trastornos puede encontrarse asociados a malformaciones faciales (insuficiencia velofaringea, labio leporino, etc.), alteraciones del desarrollo psicomotor, retraso de crecimiento, alteraciones renales, pérdida de audición y enfermedades psiquiátricas (trastorno por déficit de atención-hiperactividad, esquizofrenia, autismo, etc.).

Sin embargo, este síndrome presenta una gran variabilidad fenotípica, y diferentes grados de expresividad, inter e intrafamiliar. Tanto es así, que en algunos casos puede ser incompatible con la vida, y en otros, su diagnóstico pasa desapercibido.

Palabras clave: Síndrome de DiGeorge, leve expresividad, inmunodeficiencia, malformaciones conotruncales, cresta neural, TBX1, arcos faríngeos, FISH, MLPA.

ABSTRACT

DiGeorge syndrome (DGS), presents a worldwide incidence which is estimated at 1/4,000-1/6,000 live births, and it's caused by a hemizygous microdeletion at a location designated 22q11.2. This abnormality occurs, mostly as a "de novo" deletion and is less frequently inherited in an autosomal dominant pattern.

The Haploinsufficiency of a certain genes included in the critical region and, specifically TBX1, cause abnormalities in the processes of formation, migration and differentiation of the cells located in the neural crest during the embryonic development, affecting specially the third and fourth pharyngeal arches, as well as the organs resulting therefrom.

The characteristic phenotypical manifestation of this síndrome, consists of a clinical picture in which several elements such as immune deficit is caused by hypoplasia or aplasia of the thymus gland, hypocalcemia arising from parathyroid hipoplasia, and outflow tract defects of the heart (tetralogy of Fallot, interrupted aortic arch, ventricular septal defect, etc.) appear together, and are frequently associated with dysmorphic facial appearance, learning problems, developmental delay, renal anomalies, ans psychiatric disordes.

However, this syndrome presents a considerable phenotypical variety as well as differents expressivity levels, to such extent that in some cases is incompatible with life or its diagnosis can go unnoticed.

Keywords: DiGeorge syndrome, Velocardiofacial syndrome, immunodeficiency, expression varibility, conotruncal cardiac defects, neural crest, TBX1, pharyngeal arches, FISH, MLPA,expresividad variable.

PLANTEAMIENTO

Presentamos un caso clínico, aportado por el Servicio de Bioquímica y Genética Médica del Hospital Universitario Miguel Servet. Su interés radica especialmente en que, a raíz del diagnóstico de afectación fetal por síndrome de DiGeorge (SDG) durante los estudios prenatales, pudo llevarse a cabo un diagnóstico tardío en la gestante, a los 37 años de edad.

A partir de este caso se revisan los aspectos fisiopatológicos, clínicos y diagnósticos del SDG, haciendo especial referencia a la variabilidad en la expresión fenotípica y los problemas que puede plantear.

CASO CLÍNICO

Se trata de una paciente de 37 años, procedente de Europa del Este, sin antecedentes familiares de interés y con antecedentes personales de una intervención quirúrgica por fisura palatina, a los 9 meses de vida. Citada en Consulta de Ginecología y Obstetricia del Hospital Universitario Miguel Servet, en Abril de 2009 , para seguimiento de su embarazo.

En la semana 13+2 de gestación, se le practicó una ecografía de control. En dicha ecografía llamaba la atención, un valor de translucencia nucal (TN) de 3,1mm (superior al P95). Como consecuencia de este hallazgo, se decidió un seguimiento más estrecho y se le derivó al Servicio de Diagnóstico Prenatal del HUMS, realizando una nueva ecografía en la semana 16. En ella se siguió observando una TN>P95 y no se visualizaron las cuatro cámaras cardíacas, por lo que se sospechó una cardiopatía grave y un defecto genético importante.

Dados estos hallazgos, se planteó a la paciente llevar a cabo una amniocentesis, que permitiera la realización de un cariotipo y un análisis de hibridación in situ (FISH) a partir de células fetales.

En la semana 17+2 se realizó dicha prueba bajo control ecográfico, obteniendo muestra de líquido amniótico para estudios citogenéticos y moleculares, y confirmándose los mismos hallazgos en cuanto a la imagen, con una alta sospecha de tetralogía de Fallot.

A partir del líquido amniótico, se realizó la hibridación in situ (FISH) en amniocitos sin cultivar observando, con la aplicación de las sondas correspondientes a la región

22q11.2, la presencia de “una sola señal positiva en el cromosoma 22, lo que indica que existe una microdelección para el locus examinado” con una fiabilidad del 98%.

Posteriormente, en el estudio citogenético en amniocitos tras cultivo, se observó igualmente “una sola señal positiva en el cromosoma 22 (Fig. 1), lo que indica que

existe una microdelección para el locus examinado. Fórmula cromosómica: 46 XY. ish del (22) (q11.2q11.2)(D22S75-), que se corresponde con una cariotipo masculino afecto” compatible con el síndrome de DiGeorge, con una fiabilidad del 99%.

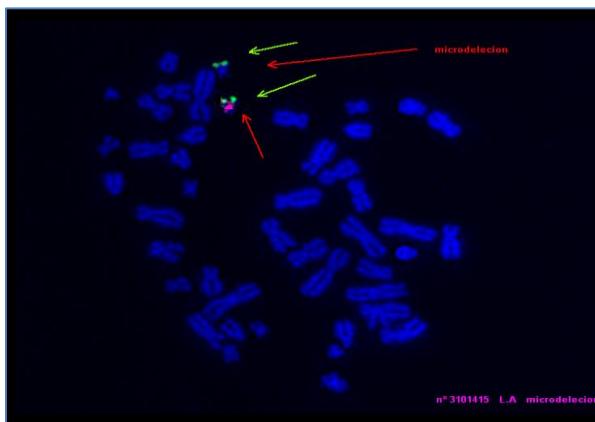


Fig. 1: FISH en células amnióticas en metafase, con sonda para microdelección de DiGeorge.
Fuente: Servicio de Bioquímica y Genética Médica del HUMS.

Se aconsejó por tanto realizar el estudio citogenético a ambos progenitores, con el fin de realizar una correcta valoración del riesgo de recurrencia, y proporcionar un adecuado asesoramiento genético, en vista a posibles futuras gestaciones. Este estudio es aconsejable, ya que, a pesar de tratarse de una mutación de novo en el 90% de los casos, existe otro 10% en los que la patología es heredada con un patrón autosómico dominante, con alto riesgo de recurrencia.

Tras el estudio a partir de muestras de sangre periférica tanto del padre como de la madre, se obtuvieron los siguientes resultados:

- El estudio citogenético paterno en sangre periférica, fue completamente normal. Todas las metafases examinadas, tras cultivo de linfocitos, presentaban 46 cromosomas, no observándose alteración de tipo estructural. Los resultados obtenidos tras la aplicación de técnicas de FISH demostraron la presencia de dos señales positivas de las metafases examinadas, lo que indica que NO existen microdelecciones para el locus examinados (Fórmula cromosómica: 46, XY.ish 22q11.2 (D22S75x2)

- En el estudio citogenético materno en sangre periférica, se observó una sola señal positiva en el cromosoma 22, lo que indica que existe una microdelección para el locus examinado. La paciente es portadora de la delección 22q11.2 compatible con un síndrome de DiGeorge (Fórmula cromosómica 46, XX.ish del (22)(q11.2q11.2)(D22S75-), que se corresponde con un resultado “femenino afecto”). Por lo tanto la mutación que aparecía en el feto, no se trataba de una mutación de novo, sino que fue transmitida por parte materna.

Una vez conocida esta situación, sabemos que el riesgo de transmisión a la descendencia es del 50%, dependiendo de que el gameto contenga o no la alteración. Se informó a la pareja de este riesgo y se le ofreció la opción de realizar un diagnóstico prenatal o preimplantacional en futuros embarazos.

También se propuso y se realizó el estudio en los dos hermanos varones de la paciente, de menor edad y asintomáticos, con resultados negativos para la delección.

Revisando, a posteriori la historia de la paciente, se tomaron en consideración los datos recogidos en la historia clínica, especialmente la existencia de labio leporino intervenido en la infancia. Además, se objetivaron dificultades de aprendizaje y leve retraso en el desarrollo intelectual. Fenotípicamente, solo se objetivaron la presencia de hendiduras palpebrales estrechas. Todos estos datos eran compatibles con alteraciones derivadas de SDG aunque en grado leve, sin embargo no existían otros antecedentes de alteraciones mucho más comunes y típicas, como serían la cardiopatía congénita, la hipoplasia tímica, el hipoparatiroidismo, las alteraciones renales e inmunológicas, y otras alteraciones analíticas.

En conclusión, como determinaron las pruebas citogenéticas y el FISH, y en consonancia con las características fenotípicas de la paciente, concluimos que se trata de un síndrome de DiGeorge de leve expresividad.

ARTÍCULO DE REVISIÓN: SÍNDROME DE DIGEORGE

1. HISTORIA Y EPIDEMIOLOGÍA

La ausencia congénita de timo y glándula paratiroides, fue descrita en 1968, por el Dr. Angelo M. DiGeorge, pediatra y endocrino estadounidense. Más tarde, se añadieron a este fenotipo las anomalías cardíacas, y el síndrome fue llamado “Síndrome de DiGeorge” (SDG).^{5,6}

Presenta una incidencia de 1:4000-6000 nacidos vivos y es una rara alteración, que en el 90% de los casos corresponde a una microdeleción del brazo largo (q) del cromosoma 22 en la porción 11.2, mientras que en el 10% restante puede originarse por otras delecciones o mutaciones puntuales, sugiriendo una heterogeneidad genética y la existencia de otros loci que determinan el mismo fenotipo.

El SDG, puede afectar a muchos órganos y sistemas, dando lugar a alteraciones cardíacas, anomalías palatinas, dismorfias faciales, alteraciones en el desarrollo psicosocial, dificultades en el aprendizaje, etc., siendo las más características la inmunodeficiencia por déficit de células T y la hipocalcemia, aunque presentando una importante heterogeneidad clínica.⁶

Se consideraba, que este amplio espectro fenotípico, constituía diferentes entidades clínicas (síndrome de DiGeorge, síndrome velocardiofacial, síndrome cardiofacial) pero actualmente se sabe, que son etiológicamente idénticas y son denominadas como DS 22q11.2. También se consideran equivalentes las entidades conocidas como síndrome de Takao (en el que predominan las alteraciones cardíacas), síndrome de Shprintzen (con predominio de las malformaciones craneofaciales y palatinas) o CATCH 22 (que agrupa a aquellos síndromes cuya etiología reside en el cromosoma 22, y que presentan: Cardiac Abnormality, Abnormal facies, T cell deficit, Cleft palate, Hypocalcemia, 22q11 deletion).^{6,13}

La variabilidad en la expresión clínica de SDG es tan grande (se han descrito más de 180 defectos distintos) que el diagnóstico de este síndrome puede pasar desapercibido, especialmente si el grado de afectación es leve o faltan las características fenotípicas principales.^{1,4,6,8}

Tanto la heterogeneidad genética como la variabilidad clínica, pueden ser motivo para que la verdadera incidencia del síndrome haya sido infraestimada.

2. FISIOPATOLOGIA

2.1. Desarrollo embrionario

Se sabe, que las estructuras embrionarias relacionadas con el síndrome de DiGeorge, son fundamentalmente el **3er y 4º arcos y bolsas faríngeas**.

Entorno al día 23 de la embriogénesis, se produce la fusión de los pliegues neurales, diferenciándose tres estructuras: ectodermo de superficie, tubo neural y cresta neural (fig. 2). Las células de esta cresta neural (CCN), migran desde las regiones del prosencéfalo, mesencéfalo y romboencéfalo de la CN, hacia los núcleos de los arcos faríngeos, y la región facial (fig.3), siendo fundamentales para la formación de dichas estructuras.^{10,12}

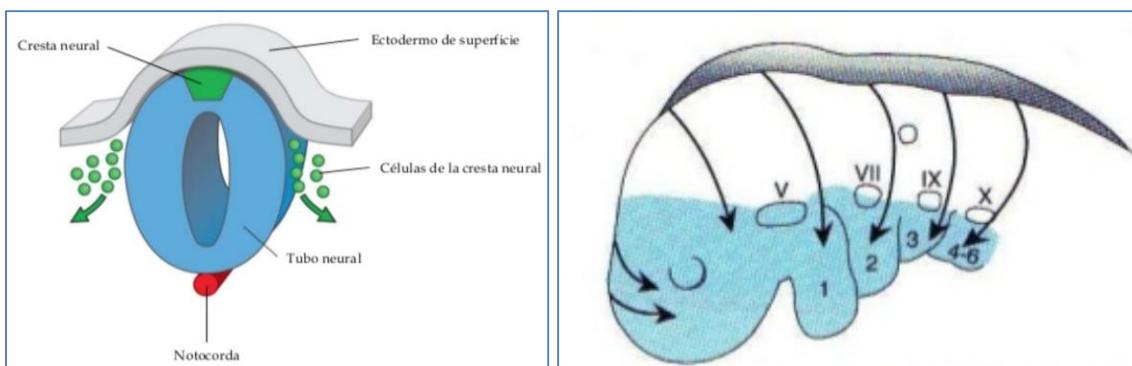


Fig. 2: Formación del tubo neural y migración de las CCN. **Fuente:** Carlson B.M. *Cresta neural. Embriología humana y biología del desarrollo*.

Fig. 3: Rutas migratorias de las CCN desde las regiones del prosencéfalo, mesencéfalo y rombencéfalo, hasta los arcos faríngeos y la cara. **Fuente:** Sadler TLangman J., 2012, *Langman's medical embryology*.

Los **arcos faríngeos** se originan durante la 4^a-5^a semana del desarrollo, y están formados, por un núcleo de tejido mesenquimatoso y CCN, y recubiertos por un

epitelio endodérmico en la parte interna y otro ectodérmico en la externa (fig.4). Estos arcos, se encuentran separados por unas **hendiduras faríngeas** (formadas por evaginaciones del epitelio ectodérmico) y por las **bolsas faríngeas** (originadas de las evaginaciones del epitelio endodérmico), que dan lugar a una serie de órganos importantes.

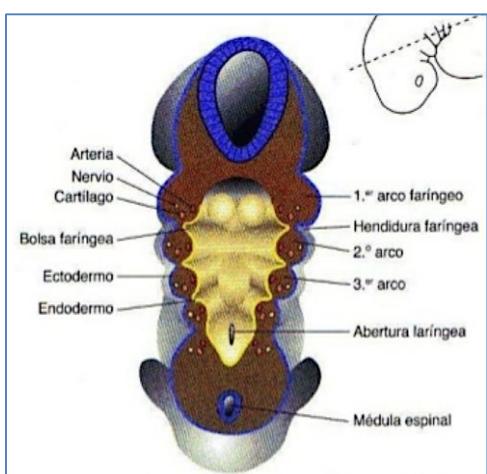


Fig. 4: Sección transversal de los arcos faríngeos. **Fuente:** Sadler TLangman J., 2012, *Langman's medical embryology*.

Para el desarrollo de los órganos derivados de las bolsas faríngeas, son fundamentales las CCN, que intervienen en el aporte de mesénquima, al que migrará el endodermo desde las bolsas faríngeas, y gracias al cual se forma un tejido conectivo, muy importante para la correcta formación de estos órganos derivados de las bolsas.¹²

Las bolsas faríngeas que mas interesa estudiar en el SDG son:

- **3^a bolsa faríngea:** durante la quinta semana de desarrollo, el epitelio de la región dorsal de dicha bolsa, se diferencia en la **glándula paratiroidea inferior**, y la región ventral, forma el **timo** (fig. 5). Ambos primordios glandulares pierden su conexión con el epitelio endodérmico. El timo migra en dirección caudal y medial, arrastrando con él la glándula paratiroidea inferior (fig. 5), hasta su posición final en la parte anterior del tórax donde se fusiona con su homólogo del lado opuesto. Por otra parte, la glándula paratiroidea inferior, se dirige hacia la superficie dorsal de la glándula tiroidea (fig. 5). De esto se deduce, que en el caso de un paciente con SDG, encontraremos un defecto tanto en el desarrollo de las glándulas paratiroides, como del timo, por afectación de la 3^a bolsa, como consecuencia de una alteración en la migración del tejido glandular.^{11,12}
- **4^a bolsa faríngea:** a partir de ella se forma la **glándula paratiroidea superior**. Esta pierde el contacto con el epitelio endodérmico de la pared faríngea, y se une a la superficie dorsal del tiroides, migrando en sentido caudal (fig. 5). La parte ventral de la cuarta bolsa origina el **cuerpo último-branquial**, que se une posteriormente al tiroides (fig. 5). Esta estructura origina las **células parafoliculares** o **células C** de la glándula tiroidea, encargadas de la secreción de calcitonina (hormona que participa en la regulación de calcio sérico). Como en el caso anterior, puede deducirse que en el SDG, se producirán diferentes grados de hipocalcemia, debido al hipoparatiroidismo como consecuencia de un anormal desarrollo de la cuarta bolsa faríngea.^{11,12}

Como se ha dicho, las células de la cresta neural también son imprescindibles para la formación de la mayor parte de la región cráneo-facial, de manera que la alteración en la migración de dichas células, provoca malformaciones craneofaciales graves, como ocurre en el SDG, donde observamos alteraciones en la formación labio-palatina (fisura palatina, incompetencia velofaringea, etc.), además de otras alteraciones faciales (nariz alargada con raíz prominente, orejas de implantación baja con lóbulos hipoplásicos, fisuras palpebrales estrechas, telecantos, retrognatia, etc.).¹⁰

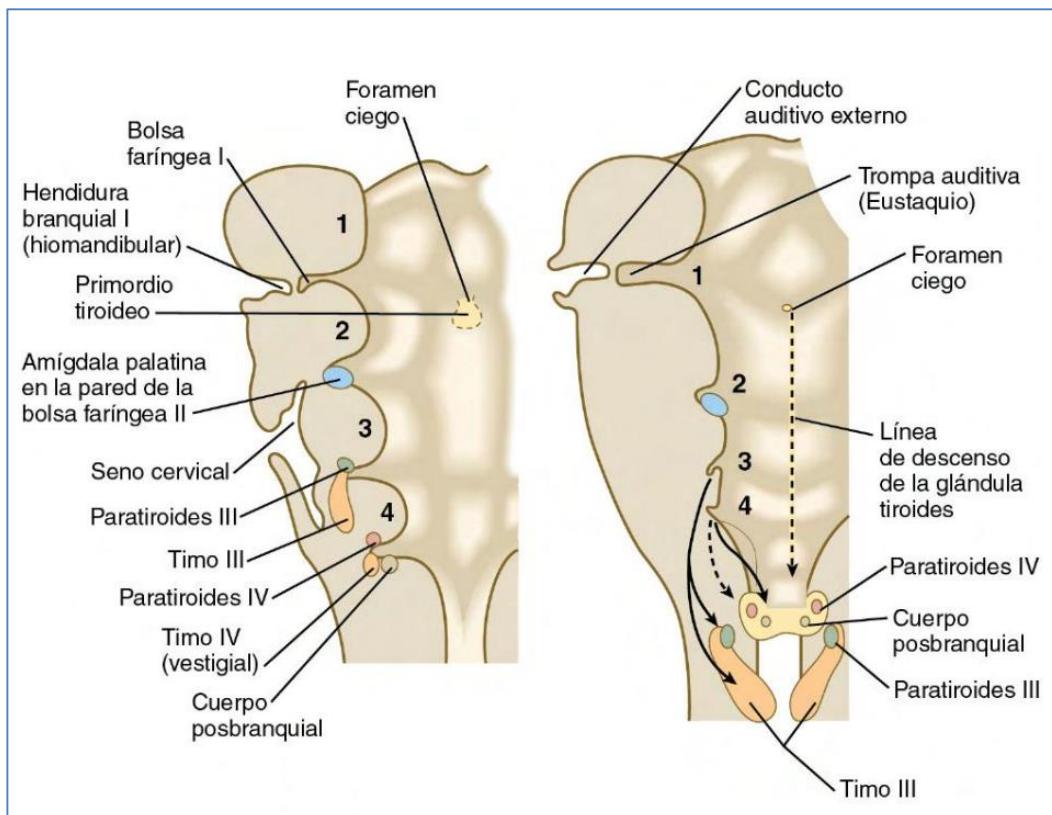


Fig. 5: Origen embrionario y recorrido de los primordios de las glándulas derivadas de las bolsas faríngeas. **Fuente:** Carlson B.M. Cresta neural. *Embiología humana y biología del desarrollo*.

Además, las CCN también contribuyen a la formación de las almohadillas endocárdicas conotruncales, imprescindibles para la separación del infundíbulo del corazón hacia los canales pulmonar y aórtico, y cuyo defecto puede dar lugar a troncos arteriosos persistentes, tetralogía de Fallot o transposición de grandes vasos, defectos que observamos en los pacientes con SDG en un gran número de casos.¹²

Como conclusión, puede determinarse, que los defectos presentes en el síndrome de DiGeorge, se originan por una **alteración en la migración de las células de la cresta neural**, que contribuyen no solo a las alteraciones craneofaciales y cardíacas, sino también a los defectos en la formación tímica y paratiroides.¹⁰⁻¹²

2.2. Genética

2.2.1. Anomalías citogenéticas

El síndrome de DiGeorge está causado por la supresión de una de las copias de la región cromosómica correspondiente a parte de la sub-banda 11.2 del brazo largo (q) del cromosoma 22. En la mayoría de los casos (85-90%), se trata de una delección de 3 Mb en dicha región cromosómica (denominándose delección típica), mientras que los casos restantes (10%) presentan una delección proximal algo menor de 1.5 Mb (delección proximal atípica).¹³ Existen además un pequeño numero de casos, que muestran otras delecciones atípicas fuera de esta región o bien otras alteraciones genéticas como mutaciones puntuales del gen TBX-1.¹⁵

Por tanto, las anomalías genéticas más comunes, son pequeñas delecciones que se presentan en heterocigosis. Reciben el nombre de microdelecciones, ya que su tamaño es demasiado pequeño para que puedan detectarse en un cariotipo convencional (cuya resolución es de aproximadamente 5 Mb), requiriendo otras técnicas para ponerlas de manifiesto.

Son causadas por procesos de recombinación homóloga no alélica (NAHR), mediadas principalmente por la presencia, entorno a esta sub-banda de la región 22q11, de regiones con repeticiones con bajo numero de copias (LCR, low copy repeats). Estas regiones LCR, confieren gran inestabilidad a la región cromosómica 22q11, siendo

diana de una gran numero de reordenamientos genómicos de novo. Dentro de esta región observamos (Fig. 6): 4 LCR proximales (LCR-A, LCR-B, LCR-C Y LCR-D) localizados desde el centrómero al telómero, y son los que con mayor frecuencia, están involucrados en los reordenamientos recurrentes de 22q11.2 que conducen al SDG y 4 LCR distales (LCR-E, LCR-F, LCR-G, LCR-H) que rara vez se han asociado con delecciones.⁵

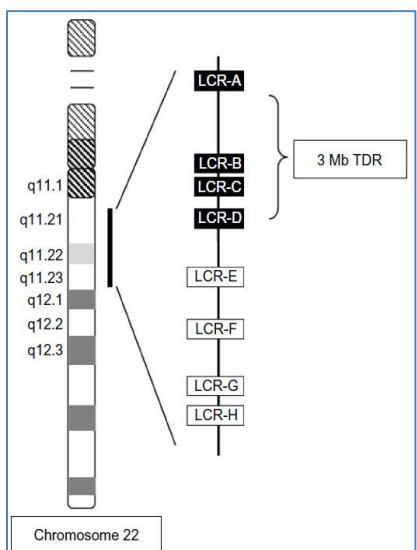
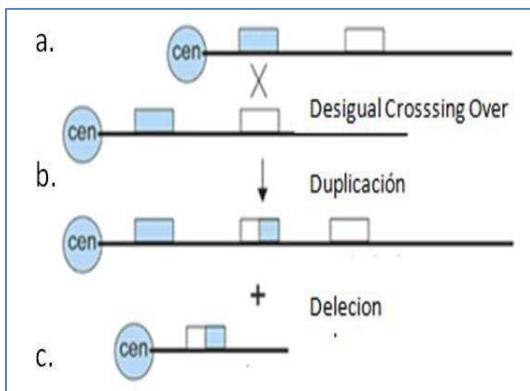


Fig. 6: Vista esquemática del cromosoma 22. Posición de las regiones LCR en 22q11.2. **LCR**, repeticiones de bajo numero de copias; **TDR**, región tipicamente deletada. **Fuente:** Hacihamdioğlu B et al, 2015, 22q11 deletion syndrome: current perspective.

El modelo que explica el origen de la delección, se basa en el alineamiento intercromosómico erróneo durante la Meiosis I de los cromosomas homólogos, siendo las regiones LCR las responsables de dicho error. Como consecuencia del crossing-over



en estas zonas de alineamiento, tiene lugar los eventos de delección y duplicación responsables de las alteraciones (Fig. 7).⁵

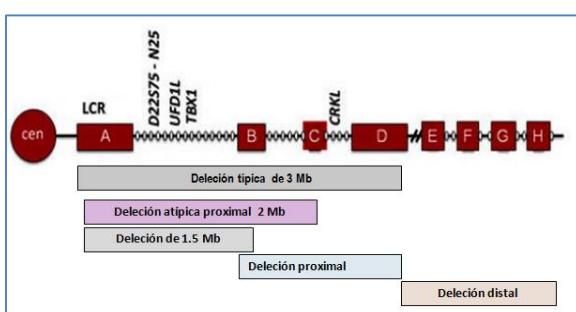
Fig. 7: Representación gráfica de recombinación homóloga no alélica (NAHR). Las regiones LCR (cajas azules y blancas) proporcionan un sustrato para la NAHR, debido a un crossing-over intercromosómico entre las LCR de cromosomas (a) causando duplicación (b) o delección (c). **Fuente:** Carpeta Sánchez S., 2014, Estudio citogenético y molecular de pacientes con fisura labio y/o palatina y sospecha de síndrome de delección 22q11.2.

Este mecanismo, sería el responsable de la aparición de la mutación de novo, dando lugar a la anomalía cromosómica y por tanto al síndrome, aproximadamente en un 85-90% de los casos. Estos pacientes con mutación de novo, han recibido un cromosoma 22 con la microdelección, a través del gameto paterno o materno. Sin embargo como esta alteración se origina durante la meiosis, ni uno ni otro progenitor son portadores de la misma en sus células somáticas, y, evidentemente, no son enfermos. Por otra parte, en el 10-15% restante de los casos, la delección si se hereda de uno de los dos progenitores, que a su vez la presentan en sus células somáticas, independientemente de las manifestaciones fenotípicas que presenten.

En conclusión, se trata de un trastorno, que sigue un modelo de herencia autosómico dominante, pero caracterizado por la alta tasa de mutaciones de novo y la expresividad variable.

2.2.2. Anomalías génicas

Las delecciones de la región 22q11.2 afectan a la carga génica de cerca de 40-60 genes, cuando la pérdida es de 3Mb, y de aproximadamente 30 genes cuando esta es de 1,5m Mb.⁵⁻⁷ La delección más común de 3Mb, descrita en el 85-90% de los individuos, se



extiende desde la LCR-A a LCR-D e incluye **TBX1**, un gen considerado responsable de características típicamente asociadas a anomalías cardíacas conotruncales, aplasia o hipoplasia tímica y paratiroides, y otros defectos propios del SDG (Fig. 8).^{5,7,9}

Fig. 8: Representación esquemática de la región 22q11.2. Ubicación de los LCR y de las delecciones descritas en dicha región. **Fuente:** Carpeta Sánchez S., 2014, Estudio citogenético y molecular de pacientes con fisura labio y/o palatina y sospecha de síndrome de delección 22q11.2.

Así pues, hasta 40-60 genes han sido vinculados con el fenotipo 22q11DS, siendo algunos de ellos:

- a) Gen TBX1: es uno de los genes más importantes, presentándose como candidato principal para este síndrome.

El gen TBX1, codifica un factor de transcripción (el T-box transcription factor TBX1), que pertenece a la familia T-Box. Se trata de una familia de factores de transcripción, distribuidos cada uno de ellos en diferentes loci a lo largo del genoma humano (TBX-1, se encuentra en el cromosoma 22). Todos ellos comparten un dominio de unión de DNA (cuya secuencia es 5'-TCACACCT-3') conocido como dominio T-box. Tienen una función tanto represora como activadora del ADN, teniendo un papel fundamental en la migración y diferenciación celular, y el desarrollo de tejidos específicos. También están relacionados con la interpretación de señales de los genes Hox (algunos de los cuales, Hoxb 2 y 3, intervienen en el desarrollo de la tercera y cuarta bolsa faríngea).^{20,21}

Como se detallará más adelante, las investigaciones hechas en ratones han demostrado que la homocigosis (Tbx1 -/-) para la mutación en TBX1, muestra características similares a las del síndrome de delección 22q11.2. El primer arco faríngeo se forma de manera anormal, el segundo arco es hipoplásico y el **tercero, cuarto** y sexto arcos no son identificables. De esta manera, estos animales presentan defectos conotruncales, características faciales anormales, fisura palatina, hipoplasia del timo y alteraciones de glándula paratiroidea. Estos resultados dan evidencia probable, de que el gen TBX1 es el mayor determinante genético en la etiología del 22q11.2.^{15,17,20}

Este gen, tiene una función esencial en el desarrollo y la organogénesis temprana, incluyendo la formación de mesodermo y endodermo, y la formación de algunos órganos derivados de la cresta neural como la faringe y especialmente el sistema cardiovascular. Su haploinsuficiencia (es decir, la disminución de la dosis génica, que resulta de la delección del gen en heterocigosis) ha demostrado ser responsable de muchas de las características fenotípicas presentes en el síndrome de Di George, por tanto, el gen TBX1 juega un papel crítico.^{15,17,20}

Sin embargo TBX1 no siempre es el responsable directo del síndrome, sino que contribuye a la aparición de dichas anomalías como consecuencia de la regulación e interacción con otros genes cruciales para la embriogénesis,

Incluyendo los genes homeobox (hoxb 2 y hoxb 3) que están muy involucrados en el desarrollo regional de los arcos faringeos y bolsas.^{5,15}

- b) Gen HIRA: este gen es un regulador transcripcional. Estudios en ratones han evidenciado su expresión embrionaria durante el desarrollo del tubo neural.²³ Se han realizado experimentos, con ratones homocigotos para Hira (Hira -/-), dando lugar a una falta de expresión de este regulador, en la cresta neural cardíaca durante la embriogénesis, que han demostrado la persistencia del tronco arterioso. Por tanto, dicho gen puede contribuir al defecto cardíaco que se da en el SDG.^{5,22}
- c) Gen UFD1L: este gen está relacionado con la ubiquitinización. Se ha localizado la expresión de este gen, en los arcos faríngeos y 4to arco faríngeo, sustrato fundamental de las anomalías de el SDG. Ratones con mutaciones de estos genes presentan defectos en el desarrollo del corazón.^{22,24}
- d) Gen CRKL: codifica factores de crecimiento y señalización de adhesión celular. Se expresa en los tejidos derivados de la cresta neural durante el desarrollo embrionario. La homocigosis de CRKL en ratones es letal, y el fenotipo es muy similar al de la delección 22q11.2, incluyendo defectos conotruncales y del arco aórtico.²⁵
- e) Gen COMT y PRODH: el gen COMT (catecol-O-metiltransferasa) es responsable de la degradación de las catecolaminas (dopamina y epinefrina), mientras que el gen PRODH codifica una deshidrogenasa. Estos dos genes están potencialmente involucrados en el fenotipo psiquiátrico (en ocasiones incluso con la esquizofrenia) y las alteraciones del comportamiento de los pacientes con síndrome 22q11.2. Se ha demostrado que las mutaciones en el gen COMT, provocan alteraciones en el comportamiento emocional de ratones.^{5,26}

Otros genes que también tienen una posible implicación en la patología psiquiátrica son: la proteína de unión al nucleótido guanina (proteína G) y beta-1-como polipéptido (GNB1L).

2.3. Mecanismos de variabilidad fenotípica

Estos parecen ser algunos de los genes más importantes para la aparición del SDG, sin embargo, no son los únicos determinantes del fenotipo, ya que existe una elevada variabilidad en la expresión clínica entre unos enfermos y otros, incluso entre aquellos con la misma anomalía cromosómica.

Estas variaciones no parecen ser atribuibles al tamaño de la delección o al origen parental del cromosoma deletado.^{27,28} De hecho, también existen variaciones fenotípicas entre familiares que han heredado una mutación idéntica, o entre padres afectos y los hijos a quienes han transmitido el mismo defecto genético. Esto confirma que, si bien los genes que quedan suprimidos de la región 22q11.2 son los causantes del síndrome, su expresión fenotípica está modulada por otros factores que pueden ser genéticos o no.

Se ha propuesto varios mecanismos que explicarían esta variabilidad:^{5,28}

- La presencia de genes modificadores que se encuentran fuera de la región deletada.
- Variaciones alélicas de los genes, dentro de la región 22q11.2 del cromosoma no deletado.
- Mutaciones somáticas
- Fenómenos epigenéticos.
- Características individuales como la raza y el sexo, factores ambientales, etc.

Uno de los mecanismos de variabilidad que parece tener más peso son los llamados genes modificadores: el factor de crecimiento de fibroblastos 8 (Fgf8), el factor de crecimiento de fibroblastos 10 (Fgf10), el gen GBX2 y el gen Pitx2.^{5,15,18}

- a) Factor de crecimiento de fibroblastos 8 (FGF8): el gen Fgf8 pertenece a la familia del factor de crecimiento de fibroblastos asociado con la proliferación, migración y diferenciación celular.¹⁹ Los embriones de ratones con alteraciones en Fgf8 muestran fenotipos similares a los observados en el SVCF/SDG como alteraciones craneofaciales, tímicas, paratiroides y cardiovasculares.^{33,34}
- b) Factor de crecimiento de fibroblastos 10 (FGF10): el gen Fgf10, es co-expresado con TBX1 en el núcleo del mesodermo y en el campo del corazón anterior.^{5,33}
- c) Gen GBX2: este gen es un factor de transcripción Homeobox. Los embriones de ratones nulisómicos para Gbx2, presentan defectos cardiovasculares asociados con el desarrollo anormal del cuarto arco faríngeo, incluyendo arteria aorta interrumpida y alteración retroesofágica de la arteria subclavia. Estos defectos están relacionados con el síndrome de DiGeorge, por lo que se cree que este gen puede ser un modificador del locus para dicho síndrome.^{28,36}

- d) Gen Pitx2: es un gen homeobox, co-expresado con TBX1 durante el desarrollo faríngeo. Los estudios con ratones heterocigotos Pitx2 +/- TBX1 +/- han mostrado un aumento de la penetrancia de los defectos cardiovaseculares³⁵, planteando así la hipótesis de que estos dos genes pueden interactuar, siendo Pitx2 un modificador genético de los defectos cardiovaseculares hallados en el SDG.²⁸

Probablemente, tanto el número de genes modificadores, como la interacción entre ellos y con TBX1, sea muy extensa y en su mayor parte desconocida, pero es un campo de interés en la investigación actual, no sólo en lo referente al SDG y otros síndromes, sino también en la búsqueda de una mejor comprensión del control genético en el desarrollo embrionario. Otros factores moduladores de la expresión clínica, como causas epigenéticas, o la interacción con determinadas condiciones ambientales, pueden ser todavía más complejas y difíciles de estudiar.

2.4. Modelos experimentales en el estudio de SDG

Evidentemente no hay estudios de la afección de dichos genes en el fenotipo humano durante el desarrollo fetal, pero si hay numerosos estudios de las características fenotípicas de ratones con mutaciones similares o idénticas a las que se producen en el síndrome de DiGeorge, especialmente las relacionadas con el gen TBX1, que como se ha visto anteriormente, es el que tiene una relación más específica con este síndrome.

Para llevar a cabo estas investigaciones, se utilizan un tipo de ratones *knock-out* para TBX1 u otros genes relacionados. Estos están modificados genéticamente, de forma que una o ambas copias del gen estudiado se inactivan, con objeto de investigar los déficits y alteraciones que se producen en el animal y poder deducir de esta manera la función del gen analizado.

Así se ha demostrado en algunos estudios,^{15,20} que los ratones heterocigotos TBX1+/- para la mutación, muestran una alta incidencia de anomalías del tracto de salida cardíaco (Fig. 9b), modelando así una de las principales anomalías del síndrome humano. Por otra parte, los ratones homocigotos TBX1/- muestran una amplia gama de anomalías del desarrollo, que abarcan casi la totalidad de las características del SDG, incluyendo hipoplasia del timo (Fig. 9b) y paratiroides, anomalías del tracto de salida cardíaco, estructuras faciales anormales (Fig. 9a), malformaciones vertebrales y paladar hendido:

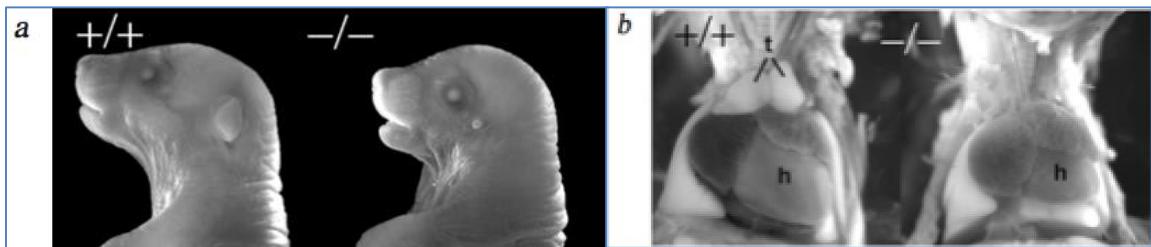


Fig. 9: Comparación del fenotipo de ratones salvajes (TBX1^{+/+}) con ratones mutantes homocigotos (TBX1^{-/-}). **(a)**, Comparación de apariencia externa. **(b)**, Ausencia de timo (t) e hipoplasia ventricular, debido a alteraciones en el tracto de salida del corazón (h). **Fuente:** Jerome, L. A. et al, 2001, *DiGeorge syndrome phenotype in mice mutant for the T-box gene, Tbx1*.

- a) Anormal desarrollo de los arcos y bolsas faríngeas: los embriones de ratones TBX^{-/-}, son normales en el día 7 de la embriogénesis, pero a partir del 8º día, ya presentan anomalías. Los arcos y bolsas faríngeas I, II y III, están presentes entorno al día 9 de la embriogénesis, y sin embargo, los ratones TBX^{-/-} sólo



desarrollan el primer arco y bolsa faríngeas (Fig. 10). Además las vesículas óticas, que forman el oído interno, son más pequeñas y parecen estar algo engrosadas (Fig 9).²⁰⁻²⁹

Fig. 10: Desarrollo de los arcos y bolsas faríngeas I, II, III, en ratones TBX1^{+/+}. En ratones TBX1^{-/-}, solo se desarrolla el primer arco y bolsa faríngea. **Fuente:** Jerome, L. A. et al, 2001, *DiGeorge syndrome phenotype in mice mutant for the T-box gene, Tbx1*.

Entre los días 10 y 12 de gestación, el primordio del timo, fruto de la 3^a bolsa faríngea, y el primordio paratiroides, fruto de la 3^a y 4^a bolsas faríngeas, no se observan en ratones TBX1^{-/-}. En el día 17 de la embriogénesis, la glándula tiroides si que es evidente, pero no se encuentra timo ni paratiroides.²⁰⁻³⁰ Otro hallazgo de los ratones mutantes homocigotos es la presencia de un paladar hendido, con déficit en la fusión palatina (Fig. 11). También se observan anomalías en la columna vertebral, los atlas carecen del arco anterior.²⁰⁻³¹

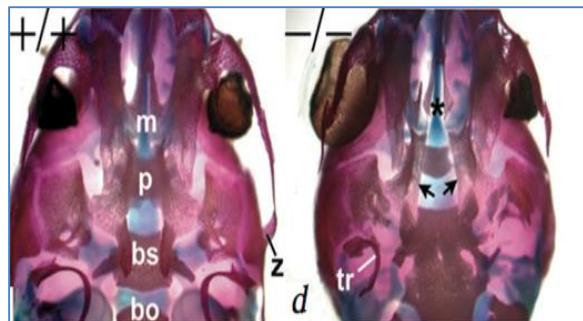


Fig. 11: Desarrollo del paladar secundario. (*) muestra el espacio entre los maxilares superiores, y las flechas indican los espacios entre los elementos óseos del paladar superior en los ratones TBX1^{-/-}. **Fuente:** Jerome, L. A. et al, 2001, *DiGeorge syndrome phenotype in mice mutant for the T-box gene, Tbx1*.

b) Defectos del arco aórtico y del tracto de salida cardíaco: la alteración del desarrollo de los arcos faríngeos, también tiene implicaciones para el desarrollo de estas estructuras. En los embriones homocigotos TBX1 $-/-$, el tracto de salida del corazón (que normalmente se separa en las arterias pulmonares y aorta), no consigue separarse por el tabique aórtico-pulmonar, dando lugar a un tronco arterioso persistente (Fig. 12)²⁰⁻³²

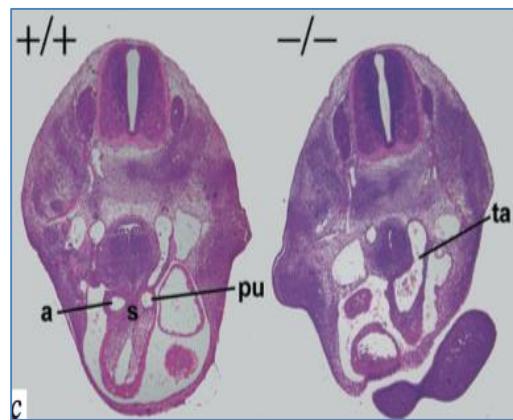


Fig. 12: Tracto de salida del corazón en ratones salvajes y en mutantes homocigotos TBX1 $-/-$. (a) arco aórtico; (pu), tracto pulmonar; (s), septo aórtico-pulmonar; (ta), truncus arteriosus. **Fuente:** Jerome, L. A. et al, 2001, *DiGeorge syndrome phenotype in mice mutant for the T-box gene, Tbx1*.

3. CLÍNICA

El síndrome de DiGeorge, se caracteriza por una hipoplasia o aplasia de la glándula paratiroides, con una consecuente hipocalcemia neonatal (que se presenta en forma de tetania), así como una hipoplasia/aplasia del timo, provocando déficit inmunitario, que se manifiesta en forma de infecciones de repetición en la infancia, debido a un déficit de células T. También son frecuentes una serie de malformaciones cardíacas, que afectan fundamentalmente al tracto de salida del corazón (tetralogía de Fallot, interrupción del arco aórtico, persistencia del tronco arterioso, etc.). Pueden encontrarse rasgos fenotípicos faciales característicos, tales como las orejas de implantación baja, telecantos con fisuras palpebrales cortas, un filtrum corto, boca pequeña, etc.⁶⁻⁹⁻¹⁴ Además, en no pocas ocasiones, el síndrome se relaciona con un retraso en el desarrollo psico-social, manifestado como retraso en el aprendizaje e incluso determinadas enfermedades psiquiátricas como la esquizofrenia.¹⁻⁶

Sin embargo, cada paciente con SDG es único en cuanto a sus manifestaciones clínicas. El número de síntomas y su gravedad varían, incluso teniendo la misma delección genética. También varían con la edad, el sexo, la exposición ambiental, genes modificadores, etc. como se ha comentado anteriormente (apartado 3.2. *Genética*).

Se pueden agrupar las diferentes manifestaciones clínicas en diferentes áreas:

3.1. Defectos cardíacos

Entorno al 70-85% de los individuos afectados presentan malformaciones cardíacas congénitas, y son la causa principal de la mortalidad (> 90% de todas las muertes). Estas cardiopatías congénitas, son principalmente malformaciones conotruncales, apareciendo de forma más frecuente la tetralogía de Fallot (Fig. 14,15,16), la interrupción del arco aórtico y defectos de septo ventricular (CIV) (Fig. 13).¹⁴

Estos defectos cardíacos dan lugar a síntomas muy precozmente, y se objetivan, bien en el periodo prenatal mediante un diagnóstico ecográfico, o bien a los pocos días de vida por auscultación de soplos, polipnea, o ausencia de pulsos femorales.³⁷

Malformation	Fréquence (%)
Tétralogie de Fallot (TF)	20
Interruption de l'arc aortique type B (IAA)	13
Communication interventriculaire (CIV)	14
Truncus arteriosus (TA)	6
Arcs vasculaires anormaux	5,5
Communication inter auriculaire (CIA)	3,5
CIV et CIA	4
Autres	10
Total	76

Fig. 13: Frecuencia de aparición de las diferentes malformaciones cardíacas e el SDG. **Fuente:** Manouvrier-Hanu S et al, 2015, *Protocole National de Diagnostic et de Soins (PNDS) Délétion 22q11*.



Fig. 14: Estenosis pulmonar. Se observa; 1. Arteria Pulmonar; 2. Aorta; 3. Cava. No se observa hipertrofia ventricular derecha, puesto que se desarrolla en vida postnatal. **Fuente:** Servicio de Bioquímica y Genética Médica del HUMS.



Fig. 15: Comunicación interventricular. **Fuente:** Servicio de Bioquímica y Genética Médica del HUMS.



Fig. 16: Acabalgamiento aórtico. **Fuente:** Servicio de Bioquímica y Genética Médica del HUMS.

3.2. Alteraciones inmunitarias

La mayoría de los pacientes con delección 22q11, presenta una inmunodeficiencia que puede ser desde moderada a grave, y tienen mayor riesgo de padecer ciertas enfermedades autoinmunes. El déficit de células T por hipoplasia tímica, es uno de los rasgos característicos de los pacientes con SDG.

3.2.1. Aplasia/Hipoplasia tímica y deficiencia inmune

El defecto inmunitario, es secundario a alteraciones del timo dando lugar a un problema en la producción o en la función de las células T.

En casos excepcionales ($\leq 1\%$), se produce una aplasia tímica, por lo que la deficiencia inmune es importante y se revela poco después del nacimiento. Esta es una inmunodeficiencia combinada grave, que se manifiesta fundamentalmente por el gran numero de infecciones, a menudo mortales, que sufren estos pacientes, y por lo tanto una emergencia diagnóstica y terapéutica absoluta.

Es más común sin embargo, que se de una hipoplasia tímica, o bien que el timo no haya migrado a su lugar apropiado en la cavidad torácica. Esto conduce a una inmunodeficiencia leve-moderada, que se presenta principalmente como una mayor vulnerabilidad a las infecciones, principalmente del tracto respiratorio superior y del oído.³⁸

En la mayoría de los individuos, este aumento de la susceptibilidad a las infecciones se corrige de forma espontánea con la maduración, y es más o menos normal durante el transcurso de los años preescolares y escolares del niño. Sin embargo, la inmunodeficiencia puede durar hasta la edad adulta, con un aumento de la vulnerabilidad a las infecciones y la fatiga, así como un mayor riesgo de enfermedades autoinmunes.³⁹

3.2.2. Enfermedades autoinmunes

Las enfermedades autoinmunes ($\approx 10\%$) se producen con una frecuencia más alta que en la población general. Algunas de ellas son: artritis reumatoide juvenil (frecuencia 20 veces superior al de la población), púrpura trombocitopénica idiopática (3%), hipotiroidismo (6%), hipertiroidismo, vitíligo, anemia hemolítica, neutropenia autoinmune y enfermedad celíaca.¹⁴

3.3. Enfermedades endocrinas

3.3.1. Hipoparatiroidismo:

La prevalencia del hipoparatiroidismo es del 20-60% de los pacientes. Se produce una hipocalcemia secundaria, que puede ser transitoria, permanente o recurrente. Ésta varía con la edad, corrigiéndose en la mayoría de los casos con el desarrollo, durante los primeros meses de vida (por la menor necesidad de hormona paratiroides), aunque puede reaparecer en la infancia y adolescencia, o incluso en la edad adulta.

Los síntomas de la hipocalcemia pueden variar desde ataques de temblor y calambres musculares, hasta desmayos e incluso crisis convulsivas en las formas más graves, que se dan principalmente en el período neonatal. La hipocalcemia puede salir a la luz, durante una cirugía, sobretodo en las cirugías cardíacas, lo que implica una vigilancia particular de estas intervenciones.⁴⁰

3.3.2. Alteraciones tiroideas

Existe un riesgo de disfunción tiroidea (hipotiroidismo e hipertiroidismo) que a menudo aparece después de los 10 años de edad. Esto también se debe, a que el desarrollo de la glándula tiroides está determinada en parte por el gen TBX1.

El hipotiroidismo es más frecuente en estos pacientes, mientras que el hipertiroidismo es secundario a la enfermedad autoinmune.¹⁴

3.3.3. Anomalías de crecimiento

Una talla pequeña (alrededor de - 2 SD) esta presente en la mayoría de los pacientes. Es de origen constitucional, ligada a la delección, pero puede estar asociada con una deficiencia en la hormona del crecimiento.⁴¹

3.4. Malformaciones craneofaciales

Se observan características morfológicas faciales típicas (Fig. 17). Sin embargo, algunas de ellas, son poco evidentes al nacer y se revelan progresivamente con la edad:

Fig. 17: Rasgos faciales dismórficos leves, en una mujer con SDG (Izq:11 años; dcha: 25 años). **Fuente:** Kapadia, Ronak K. et al, 2008, *Recognizing a Common Genetic Syndrome: 22q11.2 Deletion Syndrome*.



- Anomalías del suelo del paladar; son muy frecuentes, entorno a el 40-100% de los pacientes presentan algún defecto. Lo más característico es la presencia de una fisura palatina submucosa (16-38%), una fisura palatina franca (9%) o incluso un labio leporino (2%). También aparecen otros defectos como la úvula bifida (5%), y muchos pacientes tienen una incompetencia velofaríngea funcional aislada (27%).⁴³ Estas anomalías son en gran parte la fuente de los trastornos del habla.
- Cara alargada , con un borramiento del relieve de los pómulos.
- Nariz larga, grande, bulbosa, con una raíz prominente¹⁴
- Fisuras palpebrales estrechas, inclinadas hacia arriba y afuera, con telecanto en algunas ocasiones.¹⁴
- Orejas de implantación baja, pequeñas, redondas, con lóbulos hipoplásicos, adherentes o ausentes.⁴²
- Boca estrecha, hipoplasia de la mandíbula inferior con retrognatismo
- Anomalías dentales.

3.5. Desarrollo psicomotor y aprendizaje

Estos niños tienen discapacidades en el desarrollo intelectual y motor, que se manifiestan por problemas en el aprendizaje, trastornos cognitivos tempranos, retrasos en el lenguaje expresivo y dificultades motoras gruesas, durante los primeros años. Estos déficits se hacen más evidentes en edades escolares avanzadas.

La mayoría de los pacientes con delección 22q11 tienen un nivel intelectual dentro del rango normal (CI entre 70-84). El 55% de ellos tienen un CI > 71, alrededor del 33% tienen discapacidad intelectual leve (CI 55-69) y menos del 10% tienen un retraso moderado a severo.

La mayoría de los niños con SDG pueden llevar a cabo un desarrollo escolar dentro de la normalidad, aunque a un ritmo más lento o con apoyos adicionales.¹⁴

3.6. Malformaciones renales y genitales:

Presentes en aproximadamente el 35% de los pacientes, van desde agenesia, hipoplasia renal, riñones displásicos, uropatía obstructiva o reflujo vesicorenal. En niños, existen un 8% de hipospadias y 5% de criotorquidias.⁴⁴

3.7. Patologías ORL y oftálmica

La pérdida de audición; suele ser secundaria otitis serosas recurrentes, agravadas por el déficit inmunitario, en los primeros años de vida.⁴⁵

En cuanto a alteraciones oftalmológicas, se encuentran a menudo anomalías de refracción, estrabismo, ambliopía y conjuntivitis.¹⁴

3.8. Trastornos psiquiátricos

Existe una alta frecuencia de **trastornos de ansiedad**, en particular durante el período de la infancia y la adolescencia, y de **trastornos de estrés y depresión**, especialmente en los adultos.¹⁴

Son particularmente frecuentes en los niños (40%), los **trastornos por déficit de atención con o sin hiperactividad (TDAH)**. Tienden a disminuir en el periodo adulto, pero son más frecuentes que en la población general (4%).⁴⁷

También puede darse patología psiquiátrica dentro del **espectro autista** (15-50%). Es más común cuando el niño presenta dificultades en las relaciones sociales y el reconocimiento de emociones.⁴⁶

Hay que destacar los **trastornos psicóticos**, ya que el 10% de los adolescentes (de entre 13 y 17 años) y el 23-43% de los adultos con SDG, desarrollan esquizofrenia. La edad media de inicio de los trastornos psicóticos entre los jóvenes con delección 22q11 es de 17.7 años. El espectro fenotípico de la esquizofrenia es extremadamente amplio, con síntomas muy variables de una persona a otra.¹⁴⁻⁴⁸

3.9. Trastornos funcionales pediátricos

- Trastornos de la alimentación y de tránsito: la mayoría son de origen mixto, como el reflujo gastroesofágico o la falta de coordinación e hipotonía de los músculos de la faringe-laringe. El estreñimiento puede estar presente.
- Problemas respiratorios: secundarios a dificultades en la deglución y al reflujo gastroesofágico, responsables de inhalaciones bronquiales, a veces secundarias de laringomalacia.
- Anomalías musculo-esqueléticas: durante los primeros años de vida, la hipotonía suele estar presente. Pueden darse escoliosis tempranas debidas a las malformaciones vertebrales.
- Trastornos del sueño: asociados a patologías faríngeas o a apnea del sueño.
- Anomalías dentales; las caries son frecuentes, así como anomalías del esmalte.
- Trastornos del habla: el desarrollo del lenguaje, presenta un retraso medio de unos dos años (se atenúa entorno a los 3-5 años). El discurso de los pacientes puede ser ininteligible, y estas dificultades están relacionadas con la alta prevalencia de la insuficiencia velofaríngea y pérdida de la audición, a veces exacerbado por las otitis medias recurrentes. La hipernasalidad es una característica de los pacientes con delección 22q11.

4. DIAGNÓSTICO

La prueba diagnóstica para la delección 22q11, más comúnmente utilizada, es la hibridación *in situ* (FISH). Sin embargo, un negativo por FISH no excluye necesariamente un diagnóstico, en pacientes que tienen delecciones más pequeñas o atípicas, requiriendo en estas ocasiones, otras técnicas moleculares más específicas para confirmar el diagnóstico, como la amplificación múltiple mediante sondas ligando-dependientes (MLPA), o la hibridación genómica comparada con microarrays (CGH). ⁸⁻¹³

La hibridación fluorescente *in situ* (FISH) es una técnica, que usa moléculas fluorescentes para localizar genes o fragmentos de DNA (en este caso DNA de la región 11.2 del brazo largo del cromosoma 22), siendo muy útil para mapear genes y localizar anomalías cromosómicas.

La técnica consiste, en preparar cortas secuencias de DNA de una sola hebra, llamadas sondas, que son complementarias a las secuencias de DNA que se quieren marcar y examinar. Estas sondas se "tiñen" con moléculas fluorescentes, se hibridan, es decir, se unen al DNA complementario y permiten localizar las secuencias en las que se encuentran, o detectar aquellas que están ausentes (Fig. 1). A diferencia de otras pruebas utilizadas para estudiar los cromosomas, puede ser llevada a cabo en células no activas.⁴⁹

El kit que se utilizan actualmente en el hospital Miguel Servet para el análisis FISH 22q11.2 es Vysis DiGeorge Region Probe - LSI TUPLE 1 SpectrumOrange/LSI ARSA SpectrumGreen Probe Kit, que contiene las sondas TUPLE1 (22q11.2, región crítica SDG, sonda de 120kb) y ARSA (22q13.3, región control), ubicadas en la parte proximal del inicio de la delección entre el LCR A y B. Sin embargo, existen determinadas ocasiones, en las que bien debido a que se trata de delecciones pequeñas (<100 kb) o bien de delecciones atípicas, esta técnica no es lo suficientemente sensible. Sin embargo en casos de mosaicismos, es la técnica de elección ya que el MLPA no los detecta y el array-CGH solo cuando son superiores al 30%.

En la actualidad, están tomando fuerza otras técnicas como la MLPA o los mycroarrays, ya que son técnicas con un tiempo de respuesta más rápido, mas rentables y con capacidad para la detección de supresiones no detectables mediante FISH.

La **MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification)**, es una técnica biología molecular, que en una misma reacción, puede detectar copias anómalas de hasta 50 secuencias genómicas diferentes de DNA (mientras con el FISH, sólo pueden analizarse una o dos regiones específicas).

Consiste en una primera reacción de unión-ligación de sondas, con la zona homóloga de interés. Sólo las sondas que hayan hibridado podrán ser ligadas, y posteriormente

amplificadas por PCR, obteniendo una cantidad cuantificable de ADN y permitiendo detectar delecciones y amplificaciones (Fig.18).⁵¹

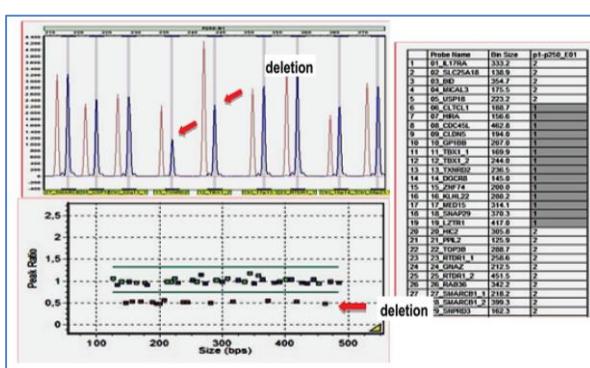


Fig. 18: Demostración de la delección 22q11.2 mediante la técnica de MLPA. **Fuente:** Grassi M et al, 2014, *Congenital Heart Disease as a Warning Sign for the Diagnosis of the 22q11.2 Deletion*

Mediante un análisis de fragmentos y aprovechando la diferencia de tamaño de cada una de las sondas, se podrán identificar aberraciones en el número de copias genómicas.

Se ha demostrado que esta es una técnica costo-efectiva, rápida, y un método altamente sensible y específico para la detección de delecciones y duplicaciones en la región proximal 22q11 y de variantes distales o solapadas, que frecuentemente se pueden presentar dentro de esta región. La identificación de estas variantes es de particular interés, ya que puede dar una idea de qué genes o regiones genómicas son cruciales para manifestaciones fenotípicas.^{50,51}

El Array CGH (Array Comparative Genomic Hybridization) o cariotipo molecular, (Fig. 19) se basa en la hibridación competitiva entre un ADN problema (marcado con un fluorocromo rojo) y un ADN de referencia (marcado en verde) con las sondas (probes) de ADN conocidas, que están fijadas sobre una superficie sólida (microarray).^{52,53}

El perfil de fluorescencia obtenido permite determinar si existen cambios en la cantidad de material genético del paciente. Actualmente las plataformas comerciales más utilizadas, usan aproximadamente 60.000 sondas de tipo oligonucleótido (Oligos 25-70 mer) que estudian variaciones del número de copias de todo el genoma. Es una técnica con mayor resolución que el FISH (x10-100) y que analiza de una sola vez el genoma completo, pudiendo detectar casos de SDG en regiones atípicas. Su inconveniente es que no detecta mosaicos inferiores al 30%.⁵²

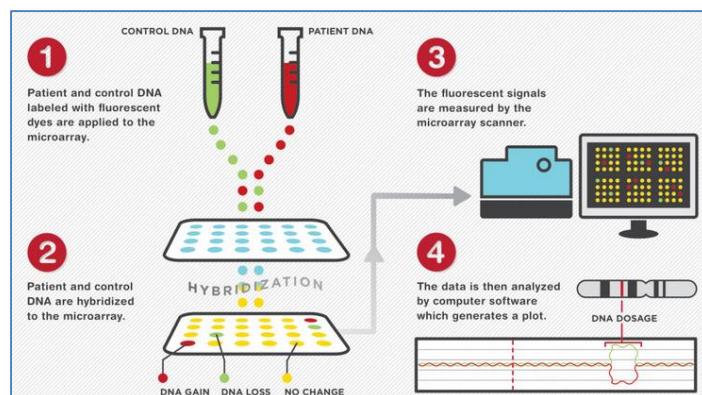


Fig. 19: Proceso de la técnica Array CGH. *Fuente: Theisen, A., 20008, Microarray-based Comparative Genomic Hybridization.*

En resumen se puede decir que:

- El FISH, es una técnica que utiliza una sola sonda en la región 22q11.2 acompañada de otra control. Es la técnica de elección, aunque en algunas ocasiones (delecciones pequeñas o delecciones atípicas) no detecta el problema.
- El MLPA, es una técnica en la que se usan hasta 50 sondas diferentes de la región estudiada, con la posterior amplificación del material genético por PCR.
- El Array-CGH, se basa en la hibridación del ADN del paciente, con miles de sondas que abarcan todo el genoma de una sola vez.

Aunque el fenotipo de la delección 22q11 está bien caracterizado, como se ha dicho su variabilidad extrema, en ocasiones dificulta el diagnóstico. *Montes C. et al.*,⁵⁴ en un estudio retrospectivo observacional, de 268 pacientes con sospecha clínica de síndrome de microdelección 22q11.2, diagnosticaron 32 casos de SDG. En el resto de pacientes, se establecieron distintas anomalías cromosómicas y otros síndromes genéticos, que presentan características fenotípicas similares.

Por tanto, ante la sospecha clínica de este síndrome, se debe establecer un diagnóstico diferencial con algunas entidades como el síndrome de CHARGE, Alagille, Noonan, Cayler, Stickler, o anomalías cromosómicas como la translocación (10q;8q), la duplicación (15)(q13q24), la inversión pericéntrica del cromosoma, etc.

5. CONSEJO GENÉTICO

El asesoramiento genético es esencial. En aproximadamente el 90% de los casos, la supresión 22q11 se produce de novo. Sin embargo, en el 10% restante de los casos, la mutación es transmitida por uno de los progenitores (familiar).¹⁴

Una vez se ha confirmado el diagnóstico de síndrome de DiGeorge en el hijo, debe ofrecerse a los padres la posibilidad de someterse a un estudio genético, ante la posibilidad de que sea una mutación heredada. La detección de la alteración cromosómica en los padres antes de cualquier nuevo embarazo es fundamental para evitar nuevos casos de enfermedad. En caso de que la mujer se encuentre ya embarazada, y tengan un primer hijo afecto, los padres deben ser derivados inmediatamente a la consulta de genética.

Si ninguno de los padres es portador de la delección (90% de los casos), el riesgo de recurrencia es muy baja ($\approx 1\%$). Este riesgo se relaciona con la posibilidad de un mosaicismo germinal en uno de los padres (presencia varios gametos mutados de uno de los padres, mientras que el análisis de ADN sanguíneo es normal). En esta situación, puede realizarse un DPN mediante muestreo de vellosidades coriónicas o amniocentesis.¹⁴

Por el contrario, un progenitor portador de la delección tiene un riesgo del 50% de transmitir la mutación en cada embarazo (Fig. 20). No hay ninguna herramienta para predecir la gravedad del síndrome, y no existe una correlación entre la gravedad de la enfermedad en los parientes afectados. En estas situaciones, los padres tienen varias opciones:¹⁴

1. Aceptar el riesgo y no llevar a cabo el DPN.
2. Cribado ecográfico de malformaciones fetales graves.
3. DPN por muestreo de vellosidades coriónicas o amniocentesis
4. Diagnóstico preimplantacional (DGP).
5. La posibilidad de la detección fetal no invasiva (DPNI) mediante el estudio de ADN fetal, extraído de la sangre materna. Aunque esta posibilidad todavía no ha sido evaluada, podría ser una alternativa interesante cuando la madre no presente a delección.

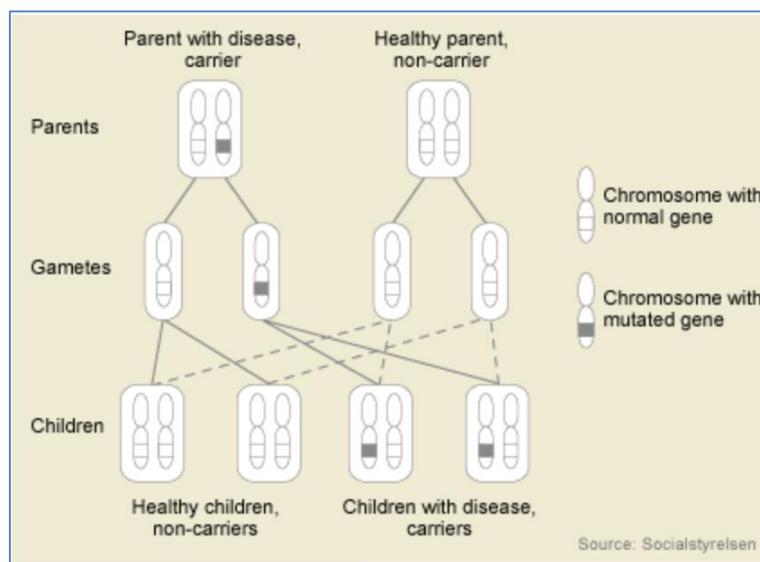


Fig. 20: Herencia autosómica dominante. **Fuente:** Óskarsdóttir S, 2016, 22q11 deletion syndrome., Soocialstyrelsen.

6. CONCLUSIONES

El síndrome de DiGeorge se origina por una alteración en el desarrollo del tercer y cuarto arcos faríngeos, debido probablemente, a una anomalía en la migración de las células de la cresta neural, por la disfunción de algunos genes que regulan este proceso.

La utilización de modelos animales experimentales, han sido fundamentales para estudiar los efectos de la pérdida de dichos genes, y han permitido demostrar el papel primordial del gen TBX1 en las anomalías del SDG.

Las manifestaciones clínicas tienen un amplio rango de variación, en cuanto a los órganos afectados y a su gravedad. Como ilustra el caso clínico que presentamos, pueden existir formas clínicas de SDG de baja expresividad, cuyo diagnóstico pase desapercibido. Como consecuencia de esto podemos deducir, que es posible que la incidencia real del síndrome se esté infraestimando, y que no se esté ofreciendo un asesoramiento genético adecuado en aquellos casos no diagnosticados, o que se han interpretado como una malformación aislada.

Actualmente, el conocimiento de la anomalía genética que origina el síndrome, y la utilización de técnicas de biología molecular, permiten un diagnóstico preciso. La aplicación de estas técnicas en pacientes con expresión incompleta o cuadros clínicos leves, pueden ayudar a identificar aquellas formas de expresividad fenotípica leve.

A pesar de los avances en el campo de la genética, todavía no se conoce con claridad porqué se producen tales diferencias, en cuanto a la expresión clínica, entre dos individuos que han heredado una idéntica mutación. Por tanto, son necesarios estudios que clarifiquen cuáles son los factores moduladores que intervienen en la expresión fenotípica y la forma en que lo hacen.

7. BIBLIOGRAFÍA

- (1) Sierra Santos L, Casaseca García P, García Moreno A, Martín Gutiérrez V. Síndrome de Di George. Rev Clin Med Fam. 2014 Junio; 7(2): 141-143.
- (2) 22q11.2 Deletion - 22q.org [Internet]. 22q.org. 2016 [cited 25 April 2016]. Available from: <http://www.22q.org/about-22q/new-diagnosed/deletion/>
- (3) DiGeorge Syndrome | Immune Deficiency Foundation [Internet]. Primaryimmune.org. 2016 [cited 25 April 2016]. Available from: <http://primaryimmune.org/about-primary-immunodeficiencies/specific-disease-types/digeorge-syndrome/>
- (4) Martínez-Fernández M, McDonald A, Aceña I, Sanchez-Izquierdo M, Mermejo E, Martínez-Frías M. Síndromes de DiGeorge, Velocardiofacial y Microdelección 22q11.2. Proposito. 2010 Mayo; 21: 1,2.
- (5) Carpeta Sánchez S. Estudio citogenético y molecular de pacientes con fisura labio y/o palatina y sospecha de síndrome de delección 22q11.2. Pontificia universidad javeriana facultad de ciencias maestría en ciencias biológicas bogotá DC. 2014 Enero; 5: 1-139.
- (6) McKusick V, Kiffin C, Hamosh A, O'Neill M, Tyler G. OMIM Entry -188400- DIGEORGE SYNDROME; DGS [Internet]. Omim.org. 2014 [cited 26 April 2016]. Available from: <http://www.omim.org/entry/188400>
- (7) McDonald-Mcginn DZackai E. Orphanet: 22q11 2 deletion syndrome [Internet]. Orpha.net. 2012 [cited 26 April 2016].
- (8) Hacıhamdioglu B, Hacihamdioglu D, Delil K. 22q11 deletion syndrome: current perspective. TACG (The Application of Clinical Genetics). 2015; 8: 123-132.
- (9) Allgrove J, Baker K, Habel A, Herriot R, Baxendale H, Bu'LOck F et al. Documento de consenso sobre el síndrome de delección 22q11 (SD22q11). MaxAppeal. 2014; 1: 1-68.
- (10) Carlson B.M. Cresta neural. En: Peña Melián A.L. y Viejo Tirado F. Embriología humana y biología del desarrollo. 4th ed. Barcelona: Elsevier España; 2014. 283-287

- (11) Carlson B.M. Desarrollo de la faringe y sus derivados. En: Peña Melián A.L. y Viejo Tirado F. Embriología humana y biología del desarrollo. 4th ed. Barcelona: Elsevier España; 2014. 347-357.
- (12) Sadler TLangman J. Langman's medical embryology. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins; 2012.
- (13) Óskarsdóttir S. 22q11 deletion syndrome. Soocialstyrelsen. February 2016; 3: 1-9.
- (14) Manouvrier-Hanu S, Olivier-Faivre L, Edery P, Francannet C, Philip N, Verloes A. Protocole National de Diagnostic et de Soins (PNDS) Délétion 22q11. Haute autorité de la santé. 2015; 13(1): 1-108.
- (15) Gao S, Li X, Amendt B. Understanding the Role of Tbx1 as a Candidate Gene for 22q11.2 Deletion Syndrome. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2013; 13(6): 613-621.
- (16) Calmont A, Ivins S, Van Bueren K, Papangeli I, Kyriakopoulou V, Andrews W et al. Tbx1 controls cardiac neural crest cell migration during arch artery development by regulating Gbx2 expression in the pharyngeal ectoderm. *Development*. 2009; 136(18): 3173-3183.
- (17) Arnold, J. S., Werling, U., Braunstein, E. M., Liao, J., Nowotschin, S., Edelmann, W., Hebert, J. M. and Morrow, B. E. (2006). Inactivation of Tbx1 in the pharyngeal endoderm results in 22q11DS malformations. *Development* 133, 977-987.
- (18) Crossley, P. H. and Martin, G. R. (1995). The mouse Fgf8 gene encodes a family of polypeptides and is expressed in regions that direct outgrowth and patterning in the developing embryo. *Development* 121, 439-451.
- (19) Frank, D. U., Fotheringham, L. K., Brewer, J. A., Muglia, L. J., Tristani-Firouzi, M., Capecchi, M. R. and Moon, A. M. (2002). An Fgf8 mouse mutant phenocopies human 22q11 deletion syndrome. *Development* 129, 4591-4603.
- (20) Jerome, L. A. and Papaioannou, V. E. (2001). DiGeorge syndrome phenotype in mice mutant for the T-box gene, Tbx1. *Nat. Genet.* 27, 286-291.
- (21) Wilson V, Conlon FL. The T-box family. *Genome Biology*. 2002;3(6):reviews3008.1-reviews3008.7.

- (22) Scambler, P. J. 2000. The 22q11 deletion syndromes. *Human Molecular Genetics*, 9(16): 2421-2426.
- (23) Magnaghi, P., Roberts, C., Lorain, S., Lipinski, M., Scambler, P. J. 1998. HIRA, a mammalian homologue of *Saccharomyces cerevisiae* transcriptional co-repressors, interacts with Pax3. *Nature genetics*, 20(1): 74-77
- (24) Arnold, J. S., Werling, U., Braunstein, E. M., Liao, J., Nowotschin, S., Edelmann, W., Morrow, B. E. 2006. Inactivation of Tbx1 in the pharyngeal endoderm results in 22q11DS malformations. *Development*, 133(5): 977-987.
- (25) Guris, D. L., Fantes, J., Tara, D., Druker, B. J., Imamoto, A. 2001. Mice lacking the homologue of the human 22q11. 2 gene CRKL phenocopy neurocristopathies of DiGeorge syndrome. *Nature genetics*, 27(3): 293-298.
- (26) Gogos, J. A., Morgan, M., Luine, V., Santha, M., Ogawa, S., Pfaff, D., Karayiorgou, M. 1998. Catechol-O-methyltransferase-deficient mice exhibit sexually dimorphic changes in catecholamine levels and behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(17): 9991-9996.
- (27) Goldmuntz, E., Driscoll, D. A., Emanuel, B. S., McDonald-McGinn, D., Mei, M., Zackai, E., Mitchell, L. E. 2009. Evaluation of potential modifiers of the cardiac phenotype in the 22q11. 2 deletion syndrome. *Birth Defects Research Part A: Clinical and Molecular Teratology*, 85(2): 125-129.
- (28) Aggarwal, V. S., Morrow, B. E. 2008. Genetic modifiers of the physical malformations in velo-cardio-facial syndrome/DiGeorge syndrome. *Developmental disabilities research reviews*, 14(1): 19-25.
- (29) Epstein, J.A. et al. Migration of cardiac neural crest cells in Splotch embryos. *Development* 127, 1869–1878 (2000).
- (30) Chapman, D.L. et al. Expression of the T-box family genes, Tbx1–Tbx5, during early mouse development. *Dev. Dyn.* 206, 379–390 (1996).
- (31) Satokata, I. et al. Msx2 deficiency in mice causes pleiotropic defects in bone growth and ectodermal organ formation. *Nature Genet.* 24, 391–395 (2000).
- (32) Lindsay, E.A. et al. Congenital heart disease in mice deficient for the DiGeorge syndrome region. *Nature* 401, 379–383 (1999).

- (33) Böttcher, R. T., Niehrs, C. 2005. Fibroblast growth factor signaling during early vertebrate development. *Endocrine reviews*: 26(1), 63-77.
- (34) Abu-Issa, R., Smyth, G., Smoak, I., Yamamura, K. I., Meyers, E. N. 2002. Fgf8 is required for pharyngeal arch and cardiovascular development in the mouse. *Development*, 129(19): 4613-4625.
- (35) Nowotschin, S., Liao, J., Gage, P. J., Epstein, J. A., Campione, M., Morrow, B. E. 2006. Tbx1 affects asymmetric cardiac morphogenesis by regulating Pitx2 in the secondary heart field. *Development*, 133(8): 1565-1573.
- (36) Calmont A, Ivins S, Van Bueren K, Papangeli I, Kyriakopoulou V, Andrews W et al. Tbx1 controls cardiac neural crest cell migration during arch artery development by regulating Gbx2 expression in the pharyngeal ectoderm. *Development*. 2009; 136(18): 3173-3183.
- (37) Bellucco FT, Belangero SI, Farah LM, Machado MV, Cruz AP, Lopes LM, Lopes MA, Zugaib M, Cernach MC, Melaragno MI. Investigating 22q11.2 deletion and other chromosomal aberrations in fetuses with heart defects detected by prenatal echocardiography. *Pediatr Cardiol*. 2010 Nov;31(8):1146-50.
- (38) Al-Herz W, McGeady SJ, Gripp KW. 22q11.2 deletion syndrome and selective IgM deficiency: an association of a common chromosomal abnormality with a rare immunodeficiency. *Am J Med Genet A*. 2004 May 15;127A(1):99-100.
- (39) Björk AH, Óskarsdóttir S, Andersson BA, Friman V. Antibody deficiency in adults with 22q11.2 deletion syndrome. *Am J Med Genet A*. 2012 Aug;158A(8):1934-40.
- (40) Al-Jenaidi F, Makitie O, Grunbaum E, Sochett E. Parathyroid gland dysfunction in 22q11.2 deletion syndrome. *Horm Res*. 2007;67(3):117-22.
- (41) Weinzimer SA, McDonald-McGinn DM, Driscoll DA, Emanuel BS, Zackai EH, Moshang T, Jr. Growth hormone deficiency in patients with 22q11.2 deletion: expanding the phenotype. *Pediatrics* 1998; 101: 929-32.
- (42) Kapadia, Ronak K., and Anne S. Bassett. "Recognizing a Common Genetic Syndrome: 22q11.2 Deletion Syndrome." *CMAJ : Canadian Medical Association Journal* 178.4 (2008): 391–393. *PMC*. Web. 13 May 2016.
- (43) Lay-Son G, Palomares M, Guzman ML, Vasquez M, Puga A, Repetto GM. Palate abnormalities in Chilean patients with chromosome 22q11 microdeletion syndrome. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2012 Dec;76(12):1726-8.

- (44) Kujat A, Schulz MD, Strenge S, Froster UG. Renal malformations in deletion 22q11.2 patients. *Am J Med Genet A*. 2006 Jul 15;140(14):1601-2.
- (45) Dyce O, McDonald-McGinn D, Kirschner RE, Zackai E, Young K, Jacobs IN. Otolaryngologic manifestations of the 22q11.2 deletion syndrome. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2002 Dec;128(12):1408-12.
- (46) Antshel KM, Aneja A, Strunge L, Peebles J, Fremont WP, Stallone K, Abdulsabur N, Higgins AM, Shprintzen RJ, Kates WR. Autistic spectrum disorders in velo-cardio facial syndrome (22q11.2 deletion) *J Autism Dev Disord*. 2007;37:1776–1786.
- (47) Antshel KM, Hendricks K, Shprintzen R, Fremont W, Higgins AM, Faraone SV, Kates WR. The longitudinal course of attention deficit/hyperactivity disorder in velo-cardio-facial syndrome. *J Pediatr*. 2013;163:187–193. e1.
- (48) Feinstein C, Eliez S, Blasey CM, Reiss AL. Psychiatric disorders and behavioral problems in children with velocardiofacial syndrome: usefulness as phenotypic indicators of schizophrenia risk. *Biol Psychiatry*. 2002;51:312–318.
- (49) HIBRIDACION IN SITU. FISH [Internet]. Iqb.es. 2016 [cited 16 May 2016]. Available from: <http://www.iqb.es/monografia/fichas/ficha033.htm>
- (50) Rodríguez M. Estudio de regiones de ADN por MLPA para screening de enfermedades hereditarias [Internet]. Tecnolab. 2016 [cited 16 May 2016]. Available from: http://tecnolab.com.ar/literatura.php?noticia_ID=26&osCsid=b6f7bea3c3d49bbeed2b63a49ee44353
- (51) Grassi M, Jacob C, Kulikowski L, Pastorino A, Dutra R, Miura N et al. Congenital Heart Disease as a Warning Sign for the Diagnosis of the 22q11.2 Deletion. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. Nov. 2014; 103(5): 382-390.
- (52) Diagnóstico de enfermedades genéticas. Universidad de Navarra. [Internet]. Unav.es. 2016 [cited 16 May 2016]. Available from: <http://www.unav.es/ocw/genetica/tema10-2.html>
- (53) Theisen, A. Microarray-based Comparative Genomic Hybridization (aCGH). *Nature Education*, 2008, 1(1): 45.
- (54) Montes C, Sturich A, Chaves A, Juaneda E, Orellana J, De Rossi R, et al. Clinical findings in 32 patients with 22q11.2 microdeletion attended in the city of Córdoba, Argentina. *Arch Argent Pediatr*. 2013; 111(5): 423-427.

