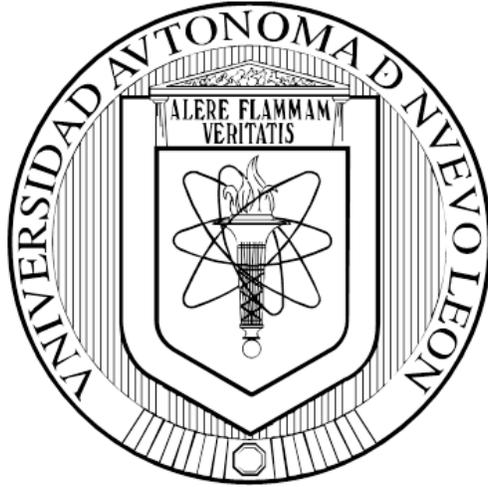


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA**



**ANÁLISIS DE EXOMA EN DOS FAMILIAS NUCLEARES CON
GASTROSQUISIS RECURRENTE: ESTUDIO PILOTO PARA
LA IDENTIFICACIÓN DE GENES CANDIDATOS**

POR

VÍCTOR MICHAEL SALINAS TORRES

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO
DE DOCTOR EN MEDICINA**

JULIO, 2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA



**ANÁLISIS DE EXOMA EN DOS FAMILIAS NUCLEARES CON
GASTROSQUISIS RECURRENTE: ESTUDIO PILOTO PARA
LA IDENTIFICACIÓN DE GENES CANDIDATOS**

POR

VÍCTOR MICHAEL SALINAS TORRES

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO
DE DOCTOR EN MEDICINA**

JULIO, 2019

**ANÁLISIS DE EXOMA EN DOS FAMILIAS NUCLEARES CON
GASTROSQUISIS RECURRENTE: ESTUDIO PILOTO PARA
LA IDENTIFICACIÓN DE GENES CANDIDATOS**

Aprobación de la tesis:

**Dr. med. Laura Elia Martínez de Villarreal
Directora de la tesis**

**Dr. med. Luis Daniel Campos Acevedo
Miembro**

**Dr. med. María Esthela Morales Pérez
Miembro**

**Dr. med. Erika del Carmen Ochoa Correa
Miembro**

**Dr. C. Hugo Leonid Gallardo Blanco
Miembro**

**Dr. med. Felipe Arturo Morales Martínez
Subdirector de Estudios de Posgrado**

FINANCIAMIENTO

El presente proyecto de investigación fue financiado con recursos económicos propios del Departamento de Genética.

Responsable: Dr. med. Laura Elia Martínez de Villarreal.

APROBACIÓN DEL COMITÉ DE ÉTICA Y COMITÉ DOCTORAL

El presente proyecto de investigación fue aprobado por el Comité de Ética y el Comité Doctoral de la Facultad de Medicina y Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

No. GN17-00002 (21 de septiembre de 2017).

No. FMSEPG-3322/1017 (25 de octubre de 2017).

AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirme tener y disfrutar a mi Familia, gracias a todos y cada uno de Ustedes por apoyarme en cada decisión y proyecto, por permitirme cumplir con excelencia en el desarrollo de esta tesis. Gracias por creer en mí y gracias a Dios por permitirme vivir y disfrutar de cada día. No ha sido sencillo el camino hasta ahora, pero gracias a sus aportes, a su amor, a su inmensa bondad y apoyo, lo complicado de lograr esta meta se ha notado menos. Les agradezco, y hago presente mi gran afecto hacia ustedes, mi hermosa Familia. En particular, a la más completa, mejor e idónea compañía que Dios me regaló: mis Padres. Rafael Salinas y Rosa María Torres (y así generacionalmente sus padres y los padres de ellos) han sabido sembrar naturalmente en mi persona diversas virtudes como el amor, la paciencia, la sabiduría, la honorabilidad, la responsabilidad, la gratitud, el positivismo y una gran actitud hacia la vida para caminar por ella con la frente en alto y con el orgullo de poseer (posiblemente) la mejor expresión diferencial de alelos heredados por ellos.

A la Dra. Laura Martínez, quien por su entrega como Directora de Tesis me compartió conocimientos con excelencia y disposición. Gracias por haber tomado la decisión de instruirme, hago patente mi admiración por su dedicación y que junto con el Comité de Tesis (Dr. Daniel Campos, Dra. María Esthela Morales, Dra. Erika del Carmen Ochoa y Dr. Hugo Gallardo) me compartieron valiosos conocimientos, gracias por creer en la educación y el desarrollo de la sociedad a través de sus enseñanzas. Dr. Hugo Gallardo, gracias en lo particular por instruirme con diversidad, disposición, calidad de conocimientos, actitudes y respuestas hacia la vida.

A mis pacientes, una gran parte significativa de esta tesis, gracias por su disposición y cooperación, puedo afirmar que disfruté mucho este tipo de investigación y fue porque en los procesos que se realizaron siempre estuvieron disponibles para la realización de esta tesis, gracias.

A la Subdirección de Estudios de Posgrado, a los Comités de Ética e Investigación, a los Profesores del Doctorado en Medicina y a la Universidad Autónoma de Nuevo León gracias por creer en mi potencial como alumno para cumplir con excelencia en el desarrollo de esta tesis. Gracias por haberme permitido formarme en ella, gracias a todas las personas que fueron partícipes de este proceso, ya sea de manera directa o indirecta, gracias por ser responsables de realizar su pequeño aporte, que el día de hoy se vería reflejado en la culminación de esta tesis.

A todos los compañeros y personal del Departamento de Genética por su colaboración y ayuda para la realización de la presente investigación.

CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS	IX
ÍNDICE DE FIGURAS	XI
ABREVIATURAS	XII
CAPÍTULO I: RESUMEN	1
CAPÍTULO II: Introducción	2
2.1 Gastrosquisis (definición)	2
2.1.1 Embriología de la pared abdominal	2
2.1.2 Epidemiología y factores de riesgo	6
2.1.3 Etiología y patogénesis	8
2.1.4 Diagnóstico pre y posnatal	27
2.1.5 Presentación clínica	28
2.2 Estrategias para la identificación de genes candidatos	30
2.2.1 Secuenciación de exoma	38
2.3 Originalidad y contribución del proyecto de investigación	39
CAPÍTULO III: Hipótesis	41
CAPÍTULO IV: Objetivos	42
4.1 Objetivo general	42
4.2 Objetivos particulares	42
CAPÍTULO V: Material y métodos	43
5.1 Diseño metodológico del estudio	43
5.2 Tipo de estudio	43

5.3 Población de estudio	43
5.3.1 Número de sujetos incluidos y calculo del tamaño de la muestra	44
5.3.2 Características de la población	44
5.3.3 Criterios de inclusión	44
5.3.4 Criterios de exclusión	44
5.3.5 Criterios de eliminación	44
5.3.6 Lugar de referencia y método de reclutamiento	45
5.4 Estrategia del diseño metodológico	46
5.5 Naturaleza de la muestra y secuenciación de exoma	47
5.6 Análisis bioinformático integral de los datos	48
CAPÍTULO VI: Resultados	51
6.1 Descripción clínica de la familia nuclear con gastrosquisis recurrente ...	51
6.2 Árbol genealógico	53
6.3 Naturaleza de la muestra y secuenciación de exoma	53
6.4 Análisis bioinformático integral de los datos	55
6.5 Clasificación de genes y variantes genéticas de acuerdo a su impacto/ efecto deletéreo	55
6.6 Clasificación de genes y variantes genéticas de acuerdo a los modelos de herencia	72
6.7 Plausibilidad biológica e identificación de vías patogenéticas	73
CAPÍTULO VII: Discusión	80
7.1 Modelo multigénico/multifactorial en gastrosquisis	81
7.2 Nuevos genes candidatos y vías patogenéticas para gastrosquisis	83

7.3 Teorías sobre el defecto del cierre de la pared abdominal en humanos y su implicación para la gastrosquisis	104
7.4 Susceptibilidad clínica en gastrosquisis	108
CAPÍTULO VIII: Conclusión	112
CAPÍTULO IX: Anexos	114
9.1 Formato de consentimiento informado	114
9.2 Formato de consentimiento informado dirigido hacia los padres	119
9.3 Cuestionario suministrado a los sujetos de investigación	124
9.4 Priorización funcional e identificación de genes de acuerdo al fenotipo investigado	126
9.5 Clasificación de genes y variantes genéticas de acuerdo al modelo de herencia	128
9.6 Producción científica y distinciones	131
CAPÍTULO X: Bibliografía	133
CAPÍTULO XI: RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO	164

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1 RIESGO DE RECURRENCIA Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE GASTROSQUISIS POR PROBANDO (UN PROBANDO POR FAMILIA) OBTENIDO DE 11 ESTUDIOS POBLACIONALES	9
TABLA 2 DISTRIBUCIÓN DE ABERRACIONES CROMOSÓMICAS Y PATRONES DE ANOMALÍAS MÚLTIPLES ASOCIADOS A GASTROSQUISIS	11
TABLA 3 GENES Y VARIANTES GENÉTICAS INVESTIGADAS EN GASTROSQUISIS	13
TABLA 4 DISTRIBUCIÓN DE GENOTIPOS Y ASOCIACIONES SIGNIFICATIVAS ENTRE VARIANTES GENÉTICAS Y RIESGOS CRUDOS PARA GASTROSQUISIS.....	18
TABLA 5 DISTRIBUCIÓN DE GENOTIPOS Y ASOCIACIONES SIGNIFICATIVAS ENTRE LAS VARIANTES GENÉTICAS Y EL RIESGO DE GASTROSQUISIS ESTRATIFICADO POR ETNIA, EDAD MATERNA, EXPOSICIÓN AL TABACO Y USO DE VITAMINAS	20
TABLA 6 REGIONES CRÍTICAS Y GENES CANDIDATOS PARA GASTROSQUISIS A PARTIR DE SÍNDROMES CROMOSÓMICOS	24
TABLA 7 ALGUNAS CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS Y CLÍNICAS DE LOS CASOS DE GASTROSQUISIS ESTRATIFICADOS POR ANOMALÍAS AISLADAS Y ASOCIADAS	29
TABLA 8 RESUMEN DE DIVERSOS SOFTWARES DE APLICACIÓN Y HERRAMIENTAS EN LÍNEA RELACIONADAS CON EL ENFOQUE DEL GEN CANDIDATO DIGITAL	34
TABLA 9 RESUMEN DE LOS CONTROLES DE CALIDAD VALIDADOS DEL WES.....	54
TABLA 10 VARIANTES GENÉTICAS DE ALTO IMPACTO IDENTIFICADAS EN LA FAMILIA CON GASTROSQUISIS RECURRENTE	56
TABLA 11 VARIANTES GENÉTICAS CON CAMBIO DE SENTIDO DE MODERADO IMPACTO IDENTIFICADAS EN LA FAMILIA CON GASTROSQUISIS RECURRENTE.....	58

TABLA 12 VARIANTES GENÉTICAS DE IMPACTO MODIFICADOR IDENTIFICADAS EN LA FAMILIA CON GASTROSQUISIS RECURRENTE	64
TABLA 13 REPRESENTACIÓN DE LOS TÉRMINOS GO ENRIQUECIDOS DENTRO DE GENES CO-SEGREGANTES EN LA FAMILIA CON GASTROSQUISIS RECURRENTE ...	74
TABLA 14 VÍAS PATOGENÉTICAS A PARTIR DE CATEGORÍAS FUNCIONALES GO ENTRE GENES SELECCIONADOS CO-SEGREGANTES EN LA FAMILIA CON GASTROSQUISIS RECURRENTE	78

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1 ILUSTRACIONES DEL PROCESO DE PLEGAMIENTO EMBRIONARIO HUMANO...5	5
FIGURA 2 TENDENCIAS EN LA PREVALENCIA DE GASTROSQUISIS SEGÚN EL GRUPO DE EDAD MATERNA EN MÉXICO	7
FIGURA 3 TIPOS DE PRUEBAS DE SECUENCIACIÓN CLÍNICA DE PRÓXIMA GENERACIÓN	39
FIGURA 4 ÁRBOL GENEALÓGICO DE LA FAMILIA CON GASTROSQUISIS RECURRENTE.53	53
FIGURA 5 REGIONES DEL MODELO HETEROCIGOTO COMPUESTO DE LAS VARIANTES GENÉTICAS IDENTIFICADOS ENTRE AMBOS CASOS AFECTADOS CON GASTROSQUISIS Y LA MADRE.....	73
FIGURA 6 MODELADO DE REDES A PARTIR DE INTERACCIONES PROTEÍNA-PROTEÍNA.....	76
FIGURA 7 MODELADO DE REDES A PARTIR DE INTERACCIONES PROTEÍNA-PROTEÍNA.....	77

LISTA DE ABREVIATURAS

<i>ADCY9</i>	Adenylate cyclase 9
<i>AFP</i>	Alpha-fetoprotein
<i>ALPP</i>	Alkaline phosphatase placental
<i>AMPc</i>	Adenosín monofosfato cíclico
<i>AOX1</i>	Aldehyde oxidase 1
<i>ATBF1</i>	AT motif binding factor 1
<i>BCAS3</i>	Microtubule associated cell migration factor
<i>CASP8</i>	Caspase 8
<i>CDYL</i>	Chromodomain Y like
<i>CEACAM5</i>	Carcinoembryonic antigen related cell adhesion molecule
<i>CFAP65</i>	Cilia and flagella associated protein 65
ChIP-seq	Secuenciación de inmunoprecipitación de cromatina
CIE	Clasificación internacional de enfermedades
<i>COL6A3</i>	Collagen type VI alpha 3 chain
<i>CROCC</i>	Ciliary rootlet coiled-coil rootletin
CTCF/CCCTC-binding factor	Represor transcripcional CTCF o factor de transcripción CCCTC
<i>CYP2B6</i>	Cytochrome P450 family 2 subfamily B member 6
<i>CYP2C8</i>	Cytochrome P450 family 2 subfamily C member 8
<i>CYP2C9</i>	Cytochrome P450 family 2 subfamily C member 9
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DPA	Defecto de pared abdominal
<i>DPYD</i>	Dihydropyrimidine dehydrogenase
ERK	Señalización regulada por quinasas extracelulares
<i>EVPL</i>	Envoplakin
<i>F5</i>	Coagulation factor V
FDR	Tasa de descubrimiento falso
<i>FGFR4</i>	Fibroblast growth factor receptor 4
<i>FGFRL1</i>	Fibroblast growth factor receptor like 1
<i>Fit1</i>	Fms related tyrosine kinase 1
gnomAD exomes 8	Base de datos de agregación del genoma versión 8
gnomAD exomes 9	Base de datos de agregación del genoma versión 9
GO	Ontología génica
GPCR	Receptor acoplado a la proteína G

GPI	Glicosilfosfatidilinositol
GWAS	Estudio de asociación de genoma completo
HGF	Factor de crecimiento de hepatocitos
HGVS	Sociedad de variación genómica humana
<i>HHIP</i>	Hedgehog interacting protein
<i>HIST1H2BB</i>	Histone cluster 1 H2B family member B
ICBDSR	International clearing house for birth defects surveillance and research
<i>IFT140</i>	Intraflagellar transport 140
INDEL	Inserción o delección
IPP	Interacción proteína-proteína
ITAM	Inmunoactivación de tirosina
<i>ITGA2</i>	Integrin subunit alpha 2
<i>ITIH3</i>	Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain 3
JNK	Quinasa c-Jun N-terminal
<i>KDM5A</i>	Lysine demethylase 5A
KEGG	Kyoto encyclopedia of genes and genomes
<i>KLK14</i>	Kallikrein related peptidase 14
lincRNA	RNA largo no-codificante
<i>LOXL4</i>	Lysyl oxidase like 4
MAF	Frecuencia alélica menor
<i>MAP2K3</i>	Mitogen-activated protein kinase kinase 3
<i>MDM2</i>	MDM2 proto-oncogene
MEC	Matriz extracelular
<i>MET</i>	Tyrosine-protein kinase Met
miRNA	Micro ácido ribonucleico
miscRNA	Ácido ribonucleico miscelaneo
MSP-RON	Proteína estimulante de macrófagos-receptor de origen Nantes
mTOR	Diana de rapamicina en células de mamífero
<i>MYBPC2</i>	Myosin binding protein C fast type
NAD	Nicotinamida adenina dinucleótido
NF-kappaB	Factor de transcripción nuclear kappa de las células B
NGS	Secuenciación de nueva generación
NK	Células asesinas
NMDTV	Variante de transcripción degenerativo sin sentido
<i>NOTCH1</i>	Notch 1
NSD	Transcrito degenerativo con ausencia del codón de paro

<i>OBSCN</i>	Obscurin
OCR	Región de cromatina abierta
<i>OR2C1</i>	Olfactory receptor family 2 subfamily C member 1
<i>OR4C3</i>	Olfactory receptor family 4 subfamily C member 3
<i>OR10G4</i>	Olfactory receptor family 10 subfamily G member 4
<i>OR13F1</i>	Olfactory receptor family 13 subfamily F member 1
<i>PDE4DIP</i>	Phosphodiesterase 4D interacting protein
<i>PER2</i>	Period circadian regulator 2
PFR	Región flanqueadora del promotor
PI3K-Akt	Fosfatidilinositol-3-quinasa-proteína quinasa B
<i>PITX2</i>	Paired like homeodomain 2
<i>PKD1</i>	Polycystin 1
<i>PKD2</i>	Polycystin 2
<i>PLEKHG4B</i>	Pleckstrin homology and RhoGEF domain containing G4B
<i>PLOD1</i>	Procollagen-lysine, 2-oxoglutarate 5-dioxygenase 1
<i>PRDM9</i>	PR/SET domain 9
<i>PTPRD</i>	Protein tyrosine phosphatase receptor type D
QTL	Loci de rasgos cualitativos
<i>RAPGEF1</i>	Rap guanine nucleotide exchange factor 1
<i>RASGRP1</i>	RAS guanyl releasing protein 1
Ras/GTPasas	Proteína G monomérica unida al guanósín trifosfato
<i>RET</i>	Rearranged during transfection
RNA	Ácido ribonucleico
<i>RPS3</i>	Ribosomal protein S3
SDG	Semana de gestación
<i>SGCD</i>	Sarcoglycan delta
<i>Shh</i>	Sonic hedgehog
<i>SLC9A3</i>	Solute carrier family 9 member A3
<i>Smad</i>	Small mothers against decapentaplegic
snoRNA	RNA nucleolar pequeño
SNV	Variante de nucleótido único
<i>SPATA17</i>	Spermatogenesis associated 17
SRV	Variante de región de empalme
<i>Tfap2a</i>	Transcription factor AP-2-alpha
TGF-β	Factor de crecimiento transformante beta
<i>THBS1</i>	Thrombospondin 1

<i>TLR8</i>	Toll like receptor 8
<i>TP53</i>	Tumor protein P53
<i>UBE2NL</i>	Ubiquitin conjugating enzyme E2 N like gene/pseudogene
<i>UGT1A3</i>	UDP Glucuronosyltransferase family 1 member A3
<i>UGT1A4</i>	UDP Glucuronosyltransferase family 1 member A4
<i>UGT1A5</i>	UDP Glucuronosyltransferase family 1 member A5
<i>UGT1A6</i>	UDP Glucuronosyltransferase family 1 member A6
<i>UGT1A7</i>	UDP Glucuronosyltransferase family 1 member A7
<i>UGT1A8</i>	UDP Glucuronosyltransferase family 1 member A8
<i>UGT1A9</i>	UDP Glucuronosyltransferase family 1 member A9
<i>UGT1A10</i>	UDP Glucuronosyltransferase family 1 member A10
US	Ultrasonografía
VEGF	Factor de crecimiento endotelial vascular
WES	Secuenciación de exoma completo
WGS	Secuenciación de genoma completo
Wnt	Proteína sin alas/integrado
<i>ZFH3</i>	Zinc finger homeobox 3
<i>ZNF717</i>	Zinc finger protein 717

CAPÍTULO I: Resumen

Análisis de exoma en dos familias nucleares con gastrosquisis recurrente: estudio piloto para la identificación de genes candidatos

Nombre: Dr. Víctor Michael Salinas Torres.

Institución: Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Medicina.

Localización: Monterrey, Nuevo León, México.

Fecha de titulación: Julio 2019.

Número de paginas: 163.

Introducción: La gastrosquisis es un defecto congénito que involucra el desarrollo de la pared anterior del abdomen y el anillo umbilical cuya etiología es desconocida. La investigación basada en familias mediante el análisis de exoma podría contribuir al origen y prevención de gastrosquisis. Actualmente, no existen estudios genéticos en gastrosquisis recurrente. **Objetivo:** Identificar genes candidatos de riesgo para gastrosquisis mediante el análisis de exoma en una familia nuclear. **Material y métodos:** Se realizó análisis de exoma en dos medias hermanas afectadas, madre y padre del caso índice. Para el análisis se utilizó el GRCh37/hg19 y las plataformas ClinVar, SVS-PhoRank y Ensembl-VEP. SVS-PhoRank clasificó el modelo de herencia. Se realizó un enriquecimiento de genes y análisis de interactoma mediante Gene Ontology, Panther y String. Se clasificaron vías patogenéticas (curación manual) a través ToppGene Suite. **Resultados:** *SPATA17, PDE4DIP, CFAP65, ALPP, ZNF717, OR4C3, MAP2K3, TLR8, UBE2NL* fueron identificados como genes de impacto alto segregados en la familia. *COL6A3, FGFR1, HHIP, SGCD, RAPGEF1, PKD1, ZFH3, BCAS3, EVPL, CEACAM5, KLK14, PLOD1* fueron identificados como genes segregados en ambos casos y la madre. Un modelo dominante fue identificado en *OR10G4, PLEKHG4B, ITIH3, SLC9A3, ITGA2, AOX1, ALPP*. Modelo recesivo en *UGT1A7, UGT1A6, PER2, PTPRD, UGT1A3* y modelo heterocigoto compuesto en *PDE4DIP, CDYL, KDM5A, F5, RASGRP1, MYBPC2, OBSCN, UGT1A*. Se identificaron interacciones proteína-proteína directas en los genes *UGT1A3-UGT1A10, AOX1, NOTCH1, HIST1H2BB, RPS3, THBS1, ADCY9, FGFR4*. Estos genes están implicados en vías patogenéticas de xenobióticos, regulación de procesos metabólicos, regulación de adhesión celular, regulación de expresión génica, respuesta inflamatoria, regulación del desarrollo vascular, queratinización, simetría izquierda/derecha, epigenética, ubiquitinación y regulación de síntesis de proteínas. **Conclusión:** Estos genes candidatos pueden contribuir al futuro descubrimiento de nuevos biomarcadores de diagnóstico, pronóstico y prevención de la gastrosquisis.

Directora de Tesis: _____
Dr. med. Laura Elia Martínez de Villarreal

CAPÍTULO II: Introducción

2.1 Gastrosquisis (definición)

La gastrosquisis es un defecto congénito que involucra el desarrollo de la pared anterior del abdomen y el anillo umbilical, que resulta en herniación de órganos abdominales asociado con un riesgo mayor de morbi-mortalidad infantil (1-3). La Clasificación Internacional de Enfermedades (CIE) versión 10 considera onfalocele y gastrosquisis bajo los códigos Q79.2 y Q79.3 respectivamente (4). Según la International Clearing House for Birth Defects Surveillance and Research (ICBDSR), gastrosquisis se define como: “una malformación congénita caracterizada por herniación visceral a través de un defecto de pared abdominal de lado derecho con un cordón umbilical intacto y no cubierto por una membrana”. La definición excluye hipoplasia de músculos abdominales, hernia umbilical cubierta por piel y onfalocele (herniación del contenido abdominal a través de una inserción umbilical cubierto por una membrana la cual puede o no estar intacta) (5).

2.1.1 Embriología de la pared abdominal

En el desarrollo humano normal, el embrión comienza como un disco plano compuesto por dos capas de células epiteliales, el epiblasto y el hipoblasto (semana 2). Durante la tercera semana, el epiblasto da lugar al ectodermo, mesodermo y endodermo. La pared del cuerpo ventral comienza a desarrollarse

por primera vez con la diferenciación y proliferación del mesodermo, ubicado entre el ectodermo y el endodermo, durante el proceso de gastrulación a través de la línea primitiva (semana 3). Cabe señalar que el mesodermo de la pared del cuerpo también se origina en la placoda de la pared del cuerpo durante la deposición celular (6-8). En esta etapa temprana de desarrollo, la circunferencia del embrión plano representa lo que eventualmente se convertirá en el anillo umbilical (9).

El plegamiento del embrión se inicia en la cuarta semana de desarrollo. Este proceso se caracteriza por un rápido aumento en la proliferación del neuroectodermo, así como del mesodermo subyacente, lo que hace que el embrión crezca en tamaño. Al mismo tiempo, la detención del crecimiento, causada por la muerte celular, ocurre en el anillo umbilical. Estos dos eventos hacen que el disco embrionario "plano" emerja por encima del nivel del anillo umbilical. Un aumento del crecimiento en el tubo neural hace que el embrión se curve hacia la superficie ventral desde las regiones de la cabeza (polo craneal) y la cola (polo caudal). Este movimiento morfogenético permite que las paredes torácicas y abdominales inferiores adquieran su posición ventral. El plegamiento del embrión también implica la migración del mesodermo. El mesodermo intraembrionario forma cuatro pliegues: el pliegue cefálico (cabeza), dos pliegues laterales (lados) y el pliegue caudal (cola). Los cuatro pliegues del cuerpo, que representarían los pliegues fundamentales del disco germinal trilaminar necesarios para la formación de una estructura tridimensional, se cierran sobre la superficie ventral y dan lugar colectivamente a las paredes

corporales torácicas y abdominales, así como al esternón, parte del diafragma y membrana cloacal (9).

Asimismo, las dos paredes laterales del cuerpo se pliegan hacia la línea media ventral, lo que contribuye a la forma cilíndrica del embrión. El vértice de los cuatro pliegues del cuerpo forma el anillo umbilical. El anillo umbilical está ubicado en el centro del abdomen en la superficie ventral y actúa como una zona de transición entre la pared del cuerpo y el amnios. Finalmente, al final de la décima semana, los tejidos epiteliales de ambos lados del embrión se encuentran y se fusionan en la línea media, dejando solo los vasos umbilicales en la región del anillo umbilical (7,9-12). El anillo umbilical permanece aproximadamente del mismo diámetro a lo largo del desarrollo; así, en relación con el crecimiento relativo del embrión, el anillo umbilical disminuye de tamaño. La muerte celular y el depósito celular participan en la prevención del crecimiento del anillo umbilical (7,9).

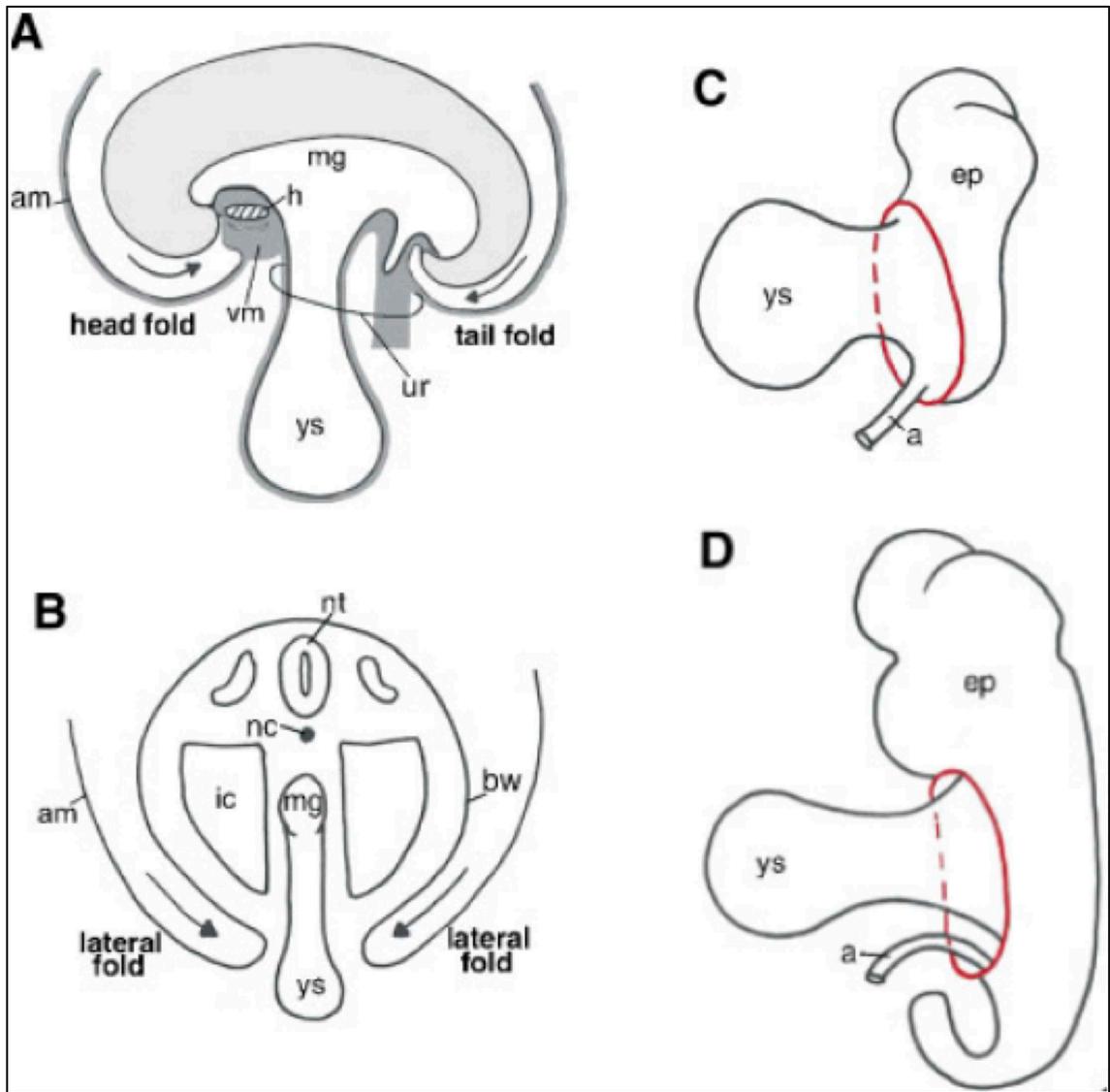


Figura 1. Ilustraciones del proceso de plegamiento embrionario humano (Modificado de Brewer y Williams, 2004) (9). **A, B:** El proceso de plegamiento a los 25 días representado en una sección sagital (A) y una sección transversal (B). **A:** El embrión se indica en gris claro. El crecimiento en el tubo neural hace que el embrión se doble hacia la superficie ventral desde la cabeza (pliegue de la cabeza) y la cola (pliegue de la cola). **B:** Dos pliegues laterales se doblan hacia la línea media ventral contribuyendo a la forma cilíndrica del embrión y a la formación de las paredes abdominales laterales y ventrales. **C, D:** Embriones

humanos aproximadamente a los 20 días (C) y a los 25 días (D) de desarrollo. El anillo rojo representa el anillo umbilical ubicado en el centro de la superficie ventral del embrión propiamente dicho. El anillo umbilical permanece aproximadamente del mismo diámetro a lo largo del desarrollo, pero en relación con el crecimiento relativo del embrión, el anillo umbilical parece disminuir de tamaño (compare el Panel C y D). Abreviaturas: a, alantoides; am, amnios; bw, *body wall* (pared del cuerpo); d, días; ep, embrión propiamente dicho; h, *heart* (corazón); ic, *intraembryonic coelom* (celoma intraembrionario); mg, *midgut* (intestino medio); nc, notocorda; nt, *neural tube* (tubo neural); ur, *umbilical ring* (anillo umbilical); vm, *visceral mesoderm* (mesodermo visceral); ys, *yolk sac* (saco vitelino).

2.1.2 Epidemiología y factores de riesgo

La prevalencia de gastrosquisis alrededor del mundo varía de 0.5 a 9 casos por cada 10,000 nacimientos vivos (5). Su presentación es similar en fetos del sexo masculino y femenino, sin embargo, elevada en embarazos únicos y de origen Hispano, a comparación de embarazos múltiples así como de origen no-Hispano (13-16). Por otra parte, diferentes estudios han reportado consistentemente que las mujeres jóvenes (menores de 20 años de edad), tienen una tasa elevada de descendientes con afectados con gastrosquisis en comparación de la población obstétrica general (13-22). En México se estima una prevalencia de 4.01 por 10,000 nacimientos vivos; sin embargo, al estratificarse por edad materna, la prevalencia cambia a 1:300 en madres <20 años, 1:750 en madres entre 20-24 años y 1:1,500 en madres ≥25 años (16).

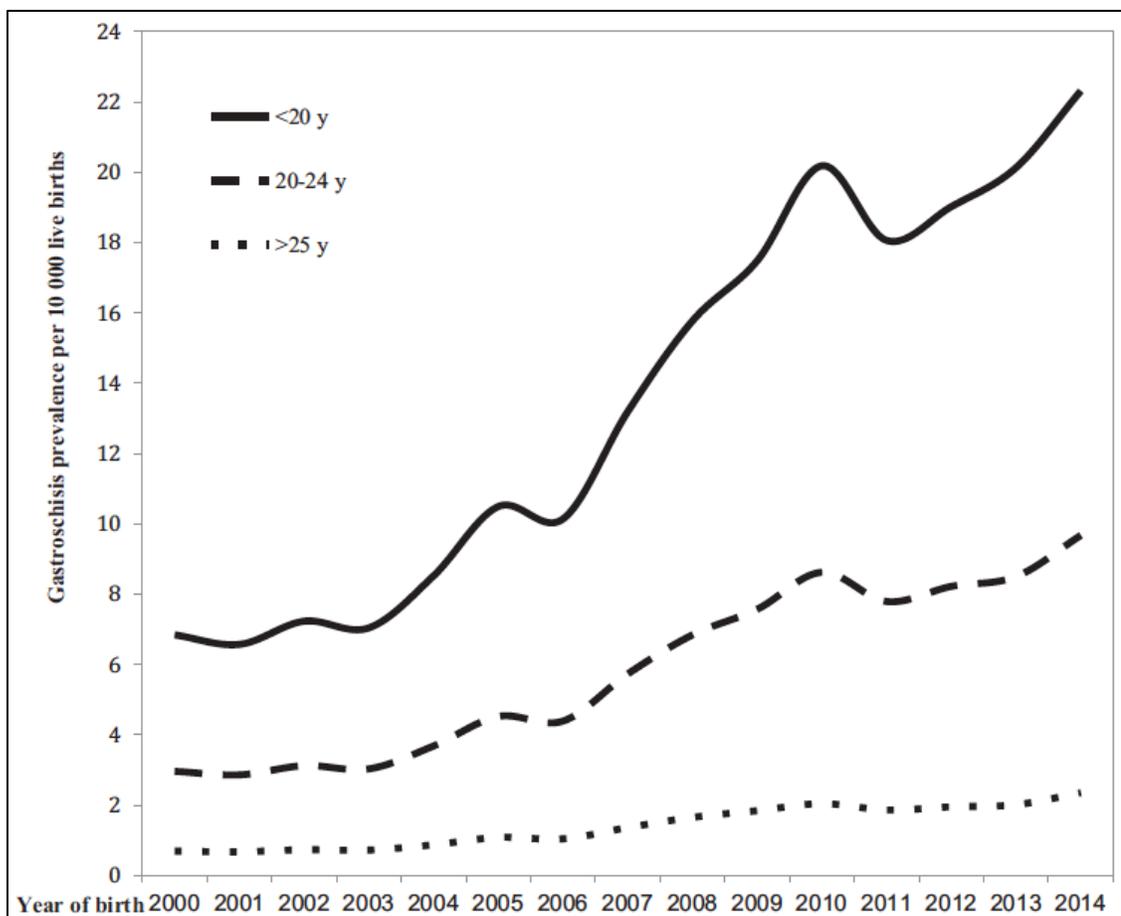


Figura 2. Tendencias en la prevalencia de gastroscchisis según el grupo de edad materna en México (Modificado de Salinas-Torres y cols., 2018) (16).
Abreviaturas: y; *years* (años).

Aunque el origen respecto a la creciente prevalencia de gastroscchisis en madres jóvenes es desconocido, podría estar relacionado a un número considerable de factores de riesgo no-genéticos y su concordancia con un patrón de distribución en conglomerados (distribución binomial negativa) (16,23). Asimismo, esto está probablemente vinculado con factores de estilo de vida que pudiera caracterizar a esta población como son: tabaquismo, uso de drogas recreativas (cocaína, marihuana, anfetamina, metanfetamina) y

consumo de alcohol (24-26), exposición a medicamentos descongestionantes (epinefrina, pseudoefedrina, oximetazolina, fenilpropanolamina) y anti-inflamatorios no esteroideos (ibuprofeno, ácido acetilsalicílico, acetaminofén) (27), anticonceptivos hormonales (21,23), exposición ocupacional a productos químicos (atrazina e hidrocarburos aromáticos policíclicos) (28-30), nivel socioeconómico bajo y eventos maternos estresantes (cambio de domicilio, violencia intra-familiar, problemas financieros o legales, enfermedad o muerte de una amistad/familiar cercano) (31,32), bajo índice de masa corporal y nutrición materna no-equilibrada (33-36), cambio en la paternidad o tiempo de convivencia corto (menor de 12 meses) (37-39), aumento en la frecuencia de infecciones genitourinarias y enfermedades de transmisión sexual (40-42).

2.1.3 Etiología y patogénesis

Las causas de gastrosquisis son desconocidas, pero el defecto es considerado de etiología multifactorial (causado por una combinación de factores genéticos y no-genéticos) (43). Aunque la mayoría de los casos de gastrosquisis se consideran esporádicos, existe una contribución genética subyacente para gastrosquisis reforzada por la concordancia entre gemelos monocigóticos, hermanos y otros parientes con un riesgo de recurrencia estimado del 5.7%, 4.3% para hermanos y 3% para probandos (44).

TABLA 1

Riesgo de recurrencia y distribución geográfica de gastrosquisis por probando (un probando por familia) obtenido de 11 estudios poblacionales (Modificado de Salinas-Torres y cols., 2018) (44)

País (autor y año)	Media (año)*	Número de afectados			Miem- bros familia (n)	% de afectados	
		Probandos		Crudo [†]		Ajustado para probando [‡]	
		Estudi- ados (N)	Sin recurr- encia				Recurr- encia (m)
Alemania (Angerpointner 1981)	1972	25	24	1	2	8	4.16
España (Martínez-Frías 1984)	1978	12	12	0	0	1	0
Estados Unidos (Yang 1992)	1983	44	44	0	0	1	0
Italia (Calzolari 1993)	1986	44	44	0	0	1	0
Estados Unidos (Torfs 1993)	1989	127	121	6	13	10.23	5.78
Estados Unidos (Hwang 2004)	1990	121	118	3	6	4.95	2.54
Estados Unidos (Chabra 2008)	1994	36	36	0	0	1	0
Alemania (Kohl 2010)	1999	27	26	1	2	7.40	3.84

Continúa...

Estados Unidos (Feldkamp 2011)	2002	284	277	7	14	4.92	2.52
Polonia (Materna- Kiryluk 2016)	2003	55	55	0	0	1	0
México (Salinas-Torres 2018)	2013	87	81	6	12	13.79	7.40
Total	1994	862	838	24	49	5.68	2.98

N, total de individuos estudiados; n, total de afectados estudiados; m, total de probandos estudiados. *Media de año para cada período de estudio. † Crudo = n / N . Cuando $n = 0$, entonces fue dividido por los probandos sin recurrencia para gastrosquisis. ‡ Ajustado = $(n - m) / (N - m)$.

Si bien no existe un patrón herencia completamente definido por la agregación familiar, es difícil descartar un efecto genético (45-61). Por otra parte, existen reportes de gastrosquisis en asociación con trastornos específicos de etiología vascular como la secuencia de bandas amnióticas y secuencia disruptiva amioplasia congénita/artrogriposis. Asimismo, la gastrosquisis también se ha asociado con aberraciones cromosómicas numéricas y estructurales (principalmente con las trisomías 18, 13 y 21 y triploidías) (62).

TABLA 2

Distribución de aberraciones cromosómicas y patrones de anomalías múltiples asociados a gastrosquisis (Modificado de Salinas-Torres y cols., 2018) (62)

Defectos cromosómicos	n	Defectos múltiples	n
Trisomía 18	35	Secuencia bandas amnióticas	39
Trisomía 13	30	Complejo pared corporal-extremidad	37
Trisomía 21	10	Prune belly	4
Triploidía	5	Complejo OEIS	4
45,X0	2	Pentalogía of Cantrell	4
47,XXY	1	Síndrome Moebius	4
Mosaicismo monosomía 22	1	Síndrome Poland	4
Trisomía 16	1	Situs inversus	3
inv(5)(q33.3-q35.3)	1	Hipoplasia oromandibular	2
inv(9)	1		

OIES, *omphalocele-exstrophy-imperforate anus-spinal defects* (onfalocele-extrofia-ano imperforado-defectos espinales); Prune belly (vientre de ciruela).

Otros factores de riesgo han sido identificados por Adjei y colaboradores (2008) quienes analizaron hígados fetales humanos y demostraron que la variación genética *SULT1A 3/4* (sulfotransferasas) fue un factor de riesgo en el desarrollo de gastrosquisis en los hijos de madres que habían tomado

acetaminofén (63). Singh (2003) en un estudio experimental en ratones híbridos con la cepa CD-1 complejo antígeno demostró que una dieta materna deficiente en proteínas-zinc y la exposición a monóxido de carbono puede precipitar la ocurrencia de gastrosquisis (64). Asimismo, 94 variantes de nucleótido único (SNV por sus siglas en inglés *Single Nucleotide Variant*) en 31 genes candidatos para gastrosquisis han sido estudiados. Diez están relacionados con la respuesta inflamatoria, ocho con la regulación de la presión sanguínea e integridad vascular, seis con la interacción célula-célula e integridad dérmica, cinco con la coagulación, uno con el metabolismo de la homocisteína y uno más con la estabilización fibrilar de colágeno (65).

TABLA 3

Genes y variantes genéticas investigadas en gastrosquiasis (Modificado de Salinas-Torres y cols., 2018) (65)

Gen	Locus	Nombre	SNV	Vía biológica
<i>BMP1</i>	8p21.3	Bone morphogenetic protein 1	-	Estabilización fibrilar de colágeno
<i>F2</i>	11p11.2	Coagulation factor II, thrombin	rs1799963	Coagulación
<i>F5</i>	1q24.2	Coagulation factor V	rs6025	Coagulación
<i>F7</i>	13q34	Coagulation factor VII	rs5742910; rs6046	Coagulación
<i>MTHFR</i>	1p36.22	Methylenetetrahydrofolate reductase	rs1801133	Metabolismo de homocisteína
<i>NOS3</i>	7q36.1	Nitric oxide synthase 3	rs1799983; rs1800779; rs3918226; rs1036145; rs2373962; rs6951150; rs10277237; rs1800783; rs12703107; rs4496877; rs1799983; rs3918227; rs3918188; rs743507	Regulación de la presión sanguínea y angiogénesis
<i>AGT</i>	1q42.2	Angiotensinogen	rs699	Regulación de la presión sanguínea e integridad vascular

Continúa...

<i>NPPA</i>	1p36.22	Natriuretic peptide A	rs5065; rs198358; rs198361; rs5067; rs198372; rs198373 rs632793; rs5063	Regulación de la presión sanguínea e integridad vascular
<i>ADD1</i>	4p16.3	Adducin 1	rs4961; rs4690002 rs12503220; rs1877723 rs3775068; rs10026792 rs16843523; rs1263359 rs3775067; rs7678161 rs2285084; rs762847	Regulación de la presión sanguínea, diferenciación epidérmica y cicatrización
<i>SCNN1A</i>	12p13.31	Sodium channel epithelial 1 alpha subunit	rs5742912; rs2228576	Regulación de la presión sanguínea e integridad vascular
<i>SERPIN- E1</i>	7q22.1	Serpin family E member 1	rs1799768; rs7242; rs2227684; rs1799889	Coagulación
<i>SELE</i>	1q24.2	Selectin E	rs5355; rs5361	Interacción célula- célula e integridad dérmica
<i>ICAM1</i>	19p13.2	Intercellular adhesion molecule 1	rs1799969; rs1059840 rs111115; rs1059849 rs281428; rs281432 rs3093030; rs5030390 rs3093032	Interacción célula- célula e integridad dérmica

Continúa...

<i>ICAM4</i>	19p13.2	Intercellular adhesion molecule 4	rs281438	Interacción célula-célula e integridad dérmica
<i>ICAM5</i>	19p13.2	Intercellular adhesion molecule 5	rs2075741; rs2569702 rs2291473; rs281419 rs281417; rs281439 rs281440; rs2228615 rs892188	Interacción célula-célula e integridad dérmica
<i>AGTR1</i>	3q24	Angiotensin II receptor type 1	rs5186	Regulación de la presión sanguínea e integridad vascular
<i>GNB3</i>	12p13.31	G protein subunit beta 3	rs5443	Regulación de la presión sanguínea e integridad vascular
<i>ADBR2</i>	5q32	Adrenoceptor beta 2	rs1042713; rs1042714	Regulación de la presión sanguínea e integridad vascular
<i>MMP3</i>	11q22.2	Matrix metalloproteinase 3	rs3025058; rs35068180	Respuesta inflamatoria
<i>FGB</i>	4q31.3	Fibrinogen beta chain	rs1800790; rs1799768	Coagulación
<i>ITGA2</i>	5q11.2	Integrin subunit alpha 2	rs1062535	Interacción célula-célula e integridad dérmica

Continúa...

<i>ITGB3</i>	17q21.32	Integrin subunit beta 3	rs5918	Interacción célula- célula e integridad dérmica
<i>TNF</i>	6p21.33	Tumor necrosis factor	rs1800750; rs1800629; rs673; rs361525	Respuesta inflamatoria
<i>LTA</i>	6p21.33	Lymphotoxin alpha	rs1041981	Respuesta inflamatoria
<i>AEBP1</i>	7p13	AE binding protein 1	rs2537188; rs13928; rs13898; rs144799697	Respuesta inflamatoria
<i>CYP1A1</i>	15q24.1	Cytochrome P450 family 1 subfamily A member 1	rs4646903	Respuesta inflamatoria
<i>CYP1A2</i>	15q24.1	Cytochrome P450 family 1 subfamily A member 2	rs2069514; rs762551	Respuesta inflamatoria
<i>NAT1</i>	8p22	N-acetyltransferase 1	rs1057126	Respuesta inflamatoria
<i>NAT2</i>	8p22	N-acetyltransferase 2	rs1801280; rs1799930	Respuesta inflamatoria
<i>GSTT1</i>	22q11.23	Glutathione S- transferase theta 1	rs1234	Respuesta inflamatoria
<i>GSTM1</i>	1p13.3	Glutathione S- transferase mu 1	rs5678	Respuesta inflamatoria

Los estudios de asociación genética en gastrosquisis han identificado una relación significativa con genes involucrados en vías biológicas como la angiogénesis, presión sanguínea e integridad vascular, interacción célula-célula e integridad dérmica, metabolismo de homocisteína y respuesta inflamatoria (66-69). En contraste, otros estudios de asociación genética no identificaron una asociación significativa con las vías biológicas como coagulación, estabilización fibrilar de colágeno y respuesta inflamatoria (70-72).

TABLA 4

Distribución de genotipos y asociaciones significativas entre variantes genéticas y riesgos crudos para gastrosquisis (Modificado de Salinas-Torres y cols., 2018) (65)

Gen	SNV	Alelo	Genotipos		HWE (valor <i>P</i>)	
			refe-	Heterocigoto		Homocigoto
			rencia	OR (95% CI)		OR (95% CI)
<i>MTHFR</i>	rs1801133	C		2.1 (1.13-3.86)	5.3 (1.0-28.5) ^a	0.27
<i>NOS3</i>	rs1036145	G		0.4 (0.2-0.7)	2.0 (0.7-5.7)	0.089
	rs10277237	G		1.3 (0.6-2.7)	2.7 (1.3-6.0)	0.113
<i>NPPA</i>	rs5065	T		1.7 (0.9-3.1)	6.6 (1.5-2.87)	<.15
<i>ADD1</i>	rs4961	G		1.5 (0.9-2.8)	4.5 (1.7-11.5)	<.15
	rs12503220	G		2.9 (1.6-5.4)	1.4 (0.5-4.1)	0.001
<i>SELE</i>	rs5361	A		0.3 (0.1-0.9)	ND	<.15
<i>ICAM1</i>	rs281428	C		1.2 (0.7-2.1)	6.9 (2.1-22.9)	0.101
	rs3093030	T		1.4 (0.6-2.9)	2.6 (1.2-5.6)	<0.001
<i>ICAM4</i>	rs281438	T		1.1 (0.6-2.2)	4.9 (1.4-16.6)	0.829
<i>ICAM5</i>	rs281417	C		2.1 (1.1-4.1)	4.8 (1.7-13.6)	0.946
	rs2075741	C		1.3 (0.6-2.6)	2.2 (1.1-4.4)	0.003
<i>GNB3</i>	rs5443	C		0.2 (0.1-0.5)	0.4 (0.2-0.9)	0.337
<i>NAT1</i>	rs1057126	T		1.6 (0.9-2.8)	0.3 (0.1-0.9)	0.078

HWE, *Hardy-Weinberg equilibrium* (equilibrio de Hardy-Weinberg); OR, *Odds Ratio* (proporción de probabilidad); CI, *Confidence Interval* (intervalo de confianza); ND, No Determinado; ^a Calculado bajo un modelo de herencia recesivo.

En general, estos procesos sugieren que las anomalías hereditarias de la migración endotelial, la diferenciación epidérmica, la angiogénesis y la remodelación vascular pueden estar implicadas en la etiología de la gastrosquisis. Asimismo, diversas SNV han mostrado una asociación significativa con gastrosquisis en conjunto con factores no-genéticos e indica una causalidad heterogénea para el defecto, lo que apoya una alta complejidad de interacciones gen-gen o gen-ambiente en gastrosquisis (65).

TABLA 5

Distribución de genotipos y asociaciones significativas entre las variantes genéticas y el riesgo de gastrosquisis estratificado por etnia, edad materna, exposición al tabaco y uso de vitaminas (Modificado de Salinas-Torres y cols., 2018) (65)

Gen	SNV	Genotipos		Comentarios (OR estratificado por)
		Heterocigoto OR (95% CI)	Homocigoto OR (95% CI)	
NOS3	rs1799983	1.9 (1.1-3.4)	1.2 (0.4-3.7)	Etnicidad
	rs1799983	5.2 (2.4-11.4) ^a		Etnicidad y exposición al tabaco
	rs1800779	3.6 (1.1-11.2)	ND	Edad materna 20-24 años
	rs2373962	4.6 (1.4-15.2)	ND	Edad materna 20-24 años
	rs3918188	1.9 (0.5-6.5)	7.2 (1.6-32.3)	Edad materna >25 años
	rs4496877	3.4 (1.1-10.5)	ND	Edad materna 20-24 años
	rs6951150	4.3 (1.2-15.1)	ND	Edad materna 20-24 años
	rs1036145	0.2 (0.1-0.7)	1.7 (0.3-8.4)	Uso de vitaminas ^b
	rs1036145	0.3 (0.1-0.6)	1.2 (0.3-4.0)	No exposición al tabaco
	rs10277237	1.3 (0.4-3.8)	5.1 (1.5-17.6)	Uso de vitaminas ^b
rs10277237	1.1 (0.4-2.7)	3.8 (1.4-10.8)	No exposición al tabaco	

Continúa...

<i>NPPA</i>	rs5065	1.9 (1.0-3.4)	7.5 (1.7-33.5)	Etnicidad	
	rs5065		2.4 (1.1-5.0) ^a	No-Hispanos blancos	
	rs5065		6.4 (2.8-14.6) ^a	Etnicidad y exposición al tabaco	
<i>ADD1</i>	rs4961	1.5 (0.8-2.8)	4.9 (1.9-12.9)	Etnicidad	
	rs4961		2.7 (1.3-5.6) ^a	Etnicidad y no exposición al tabaco	
	rs4961		4.3 (1.7-10.8) ^a	Etnicidad y exposición al tabaco	
	rs12503220	4.2 (1.2-15.0)	ND	Hispano nativo	
	rs12503220	4.8 (1.6-15.0)	ND	Edad materna 20-24 años	
	rs12503220	3.4 (1.3-8.8)	2.2 (0.5-10.8)	Uso de vitaminas ^b	
	rs12503220	3.4 (1.5-7.3)	1.8 (0.5-7.1)	No exposición al tabaco	
	rs2285084	2.6 (0.8-8.3)	6.4 (1.1-35.6)	Edad materna >25 años	
	rs7678161	0.3 (0.1-0.9)	ND	Edad materna >25 años	
	rs7678161	0.2 (0.1-0.7)	ND	Uso de vitaminas ^b	
<i>SELE</i>	rs16843523	1.0 (0.2-4.1)	6.3 (1.1-36.5)	Edad materna >25 años	
	rs10026792	3.4 (1.1-10.4)	ND	No uso de vitaminas ^b	
	rs5361	0.3 (0.1-0.9)	ND	Etnicidad	
	rs5361	4.4 (1.2-16.2)	ND	No-Hispanos blancos	
	<i>ICAM1</i>	rs1799969		5.2 (2.1-12.7) ^a	Etnicidad y exposición al tabaco
		rs281432	0.2 (0.1-0.9)	0.5 (0.1-2.3)	Edad materna >25 años
rs3093030		1.8 (0.4-8.3)	7.7 (1.7-34.0)	No uso de vitaminas ^b	
<i>ICAM4</i>		rs281438	4.9 (1.4-16.7)	ND	No uso de vitaminas ^b

Continúa...

<i>ICAM5</i>	rs281440	8.1 (1.6–40.3)	8.2 (1.0–66.2)	No-Hispanos blancos
	rs281440	12.0 (2.6–56.4)	11.2 (1.4–89.2)	Uso de vitaminas ^b
	rs281417	12.1 (2.7–54.3)	ND	No uso de vitaminas ^b
	rs281417	2.4 (1.0–5.6)	5.6 (1.2–27.3)	No exposición al tabaco
	rs2075741	2.5 (0.7–8.8)	5.1 (1.4–19.1)	No uso de vitaminas ^b
<i>AGT</i>	rs699	4.6 (1.2–17.7)	1.2 (0.3–5.2)	Hispano nacido en el extranjero
<i>CYP1A1</i>	rs4646903	0.38 (0.15-0.98) ^{a,c}		No-Hispanos blancos con exposición al tabaco
<i>NAT2</i>	rs1799930	2.17 (1.12-4.19) ^{a,c}		Hispanos sin exposición al tabaco
	rs1799930	3.41 (1.25-9.31) ^{a,c}		Parejas maternas e infantiles no fumadoras ajustadas por edad y No-Hispanos blancos
	rs1799930	3.31 (1.42-7.75) ^{a,c}		Parejas maternas e infantiles no fumadoras ajustadas por edad e Hispanos blancos
<i>MTHFR</i>	rs1801133	8.1 (1.8–37.2)	5.0 (0.7–37.8)	Hispano nativo
	rs1801133	3.3 (1.2–8.8)	1.5 (0.4–6.2)	Uso de vitaminas ^b
<i>GNB3</i>	rs5443	0.2 (0.0–0.8)	ND	Hispano nativo
	rs5443	0.2 (0.1–0.8)	0.1 (0.0–0.6)	Edad materna <20 años
	rs5443	0.2 (0.0–0.7)	0.5 (0.1–2.2)	Edad materna 20-24 años
	rs5443	0.2 (0.1–0.5)	0.5 (0.1–1.8)	Uso de vitaminas ^b
	rs5443	0.2 (0.1–0.5)	0.5 (0.2–1.6)	No exposición al tabaco

Continúa...

<i>SERPINE1</i>	rs1799889	0.4 (0.1–1.4)	0.2 (0.0–0.8)	No-Hispanos blancos
<i>SCNN1A</i>	rs2228576	0.3 (0.1–0.8)	ND	No uso de vitaminas ^b

OR, *Odds Ratio* (proporción de probabilidad); CI, *Confidence Interval* (intervalo de confianza); ND, No Determinado; ^a Los genotipos heterocigoto y homocigoto fueron combinados para el análisis; ^b Uso de vitaminas que contienen ácido fólico materno; ^c Calculado bajo un modelo de herencia dominante.

Recientemente, bajo un abordaje clínico-patogénico sobre anomalías asociadas y aberraciones cromosómicas en gastrosquisis se han identificado una serie de regiones cromosómicas y genes candidatos para el defecto (62). Específicamente, un agrupamiento de genes en las regiones cromosómicas 21q22.11 y 21q22.3 (*KRTAPs*), 18q21.33 (*SERPINBs*), 18q22.1 (*CDH7*, *CDH19*), 13q12.3 (*FLT1*), 13q22.1 (*KLF5*), 13q22.3 (*EDNRB*) y 13q34 (*COL4A1*, *COL4A2*, *F7*, *F10*) se relacionaron significativamente con los siguientes procesos biológicos/fisiológicos: regulación de la presión arterial e integridad vascular, angiogénesis, coagulación, adhesión célula-célula/célula-matriz e integridad dérmica y cicatrización que apoyan un rol significativo de la disrupción vascular, la trombosis y la deficiencia mesodérmica en la patogénesis de la gastrosquisis (62). Asimismo, estos hallazgos sugieren que la gastrosquisis puede resultar de la interacción de varias regiones cromosómicas (heterogeneidad cromosómica), así como de interacciones complejas gen-gen o gen-ambiente en gastrosquisis (62,65).

TABLA 6

Regiones cromosómicas y genes candidatos para gastrosquisis a partir de síndromes cromosómicos (Modificado de Salinas-Torres y cols., 2018) (62)

Regiones	Genes	Proceso biológico	Valor P
21q22.11	<i>KRTAP6-1, 6-3, 8-1, 11-1, 13-1, 13-2, 13-3, 13-4, 15-1, 19-1, 19-3, 19-7, 19-8, 21-2, 21-3, 23-1, 24-1, 25-1, 26-1, 27-1</i>	Desarrollo biológico y queratinización	<i>P</i> 8.25E-26, FDR 1.29E-21
21q22.3	<i>KRTAP10-1, 10-2, 10-3, 10-4, 10-5, 10-6, 10-7, 10-8, 10-9, 10-10, 10-11, 10-12, 12-1, 12-2, 12-4</i>	Desarrollo biológico y queratinización	<i>P</i> 5.47E-15, FDR 8.57E-11
18q21.33	<i>SERPINB2, B3, B4, B5, B7, B11, B12, B13</i>	Regulación negativa de la actividad de endopeptidasas	<i>P</i> 3.06E-11, FDR 4.79E-07
18q22.1	<i>CDH7, CDH19</i>	Adhesión celular-dependiente de calcio a través de moléculas de adhesión celular de membrana plasmática	<i>P</i> 1.50E-06, FDR 2.34E-02

Continúa...

13q12.3	<i>FLT1</i>	Vía de señalización del receptor 1 del factor de crecimiento endotelial vascular	<i>P</i> 2.23E-02, FDR 3.15E-00
13q22.1	<i>KLF5</i>	Señalización célula-célula via exosoma	<i>P</i> 2.23E-02, FDR 3.23E-00
13q22.3	<i>EDNRB</i>	Vía de señalización del receptor de endotelina	<i>P</i> 3.33E-02, FDR 2.48E-00
13q34	<i>COL4A1, COL4A2</i>	Vía de señalización del receptor de tirosina quinasa activada por colágeno	<i>P</i> 7.70E-03, FDR 4.46E-00
	<i>F7, F10</i>	Coagulación sanguínea, formación de coágulos de fibrina	<i>P</i> 3.92E-02, FDR 2.57E-00

FDR, *False discovery rate* (tasa de descubrimiento falso).

Existe una gran controversia con relación a la patogénesis de la gastrosquisis. Las hipótesis expuestas implican la formación defectuosa o la interrupción de la pared abdominal en el periodo embrionario con la posterior herniación del intestino; sin embargo, ninguna de ellas explica totalmente la etiología de gastrosquisis (73). Moore y Stokes (1953) propusieron que gastrosquisis es el resultado de una distorsión o detención de la pared

abdominal anterior durante la tercer a quinta semana de gestación (SDG) (74). Duhamel (1963) propuso la existencia de un fallo del mesénquima somatopleural embrionario y crecimiento defectuoso de la pared abdominal lateral durante la cuarta SDG (75). Shaw (1975) propuso que gastrosquisis podría resultar de una ruptura del cordón umbilical en su base durante la fase extra-abdominal del desarrollo del intestino delgado o más tarde en el período fetal debido a un cierre retardado del anillo umbilical durante la quinta a decima SDG (76). Thomas y Atwell (1976) propusieron que el defecto puede resultar de una ruptura temprana del anillo umbilical debido a malformación de la línea media de la pared abdominal (77). deVries (1980) propuso la existencia de una atrofia prematura o persistencia anormal de la vena umbilical derecha que causa daño al mesénquima circundante y falla en la repoblación epidérmica en el área paraumbilical durante la quinta a octava SDG (78). Hoyme y colaboradores (1981) propusieron una insuficiencia de la arteria onfalomesentérica con ruptura que conduce a infarto y necrosis en la base del cordón umbilical durante la quinta a octava SDG (79). Vermeij-Keers y colaboradores (1996), propusieron una deficiencia mesodérmica en el anillo umbilical debido a una anomalía o disfunción de las placodas ectodérmicas (12,80). Feldkamp y colaboradores (2007) propusieron algo semejante a lo propuesto por Duhamel (75) que incluye la falla de uno o más pliegues responsables del cierre de la pared durante la tercer a cuarta SDG (81). Stevenson y colaboradores (2009) propusieron que el defecto resulta de una falla al fusionar el saco vitelino y las estructuras vitelinas relacionadas con el tallo corporal durante la cuarta SDG (82). Lubinsky (2012 y 2014) propuso la

existencia de una predisposición vascular relacionada con el estrógeno con posterior trombosis que debilita el anillo umbilical lo que crea un área potencial para la herniación (83,84).

2.1.4 Diagnóstico pre y posnatal

El diagnóstico posnatal de gastrosquisis típicamente se realiza a través de una exploración física neonatal de rutina. Este defecto de pared abdominal (DPA) usualmente mide menos de 4 cm en diámetro y se presenta generalmente como una abertura pequeña, de bordes lisos y localización usualmente a la derecha de la región umbilical (para-umbilical derecha). En contraste con onfalocele, la herniación de vísceras no están cubiertas por una membrana y están expuestas a líquido amniótico en el útero (1-3). A pesar que gastrosquisis es una anomalía congénita bien caracterizada, en la práctica clínica podría confundirse con otros DPA; entre estos se encuentran principalmente: onfalocele, hernia umbilical, abdominosquisis, complejo pared corporal-extremidad, pentada de Cantrell (DPA supraumbilical, defecto del esternón inferior, defecto diafragmático y pericárdico anterior y anomalías cardíacas congénitas), complejo OIES (onfalocele-extrofia-ano imperforado-defectos espinales), así como otras formas sindrómicas (62,85-88).

Por otra parte, el diagnóstico prenatal típicamente incluye la ultrasonografía (US) de rutina detectable incluso a partir de la decima SDG. Asimismo, la detección de suero materno elevado de alfa-fetoproteína (análogo fetal de albúmina), es identificado en casi todos los casos de gastrosquisis. El nivel de alfa-fetoproteína en suero materno en embarazos con gastrosquisis esta

reportado con un valor medio de 9.42 razón de momios, mientras que en embarazos con espina bífida abierta, en promedio, es de 4 razón de momios y anencefalia 8 razón de momios. Por consiguiente, el examen combinado con US y suero materno elevado de alfa-fetoproteína detecta al menos el 90% de los casos con gastrosquisis (89,90).

2.1.5 Presentación clínica

Clínicamente, la gastrosquisis puede presentarse como una anomalía aislada o asociada con la co-existencia de anomalías intestinales o extra-intestinales. Esta última, puede ocurrir hasta en el 17.9% de los neonatos nacidos con este DPA, lo cual puede aumentar significativamente su morbilidad y mortalidad (62,91). Gastrosquisis generalmente esta considerada como una anomalía aislada (82.1% de los casos); sin embargo, su frecuencia de anomalías asociadas varía ampliamente por sistema o región anatómica. Las más comunes están representadas por anomalías del sistema o región cardiovascular (23.3%), digestivo (20.3%), genitourinario (9%), sistema nervioso central (7.2%), musculo-esquelético (6.2%), extremidades (5.7%), renal (5.4%), craneofacial (4.9%), patrón de anomalías múltiples (4.5%), axiales y pulmonares (3.7%, respectivamente), defectos cromosómicos (3.2%), varios (3.1%) y endocrinos (0.1%). Además, existen diferencias significativas al hacer una comparación de características sociodemográficas y clínicas sobre la presencia o la ausencia de cualquier tipo de anomalías asociadas en gastrosquisis.

TABLA 7

Algunas características sociodemográficas y clínicas de los casos de gastroquiasis estratificados por anomalías aisladas y asociadas* (Modificado de Salinas-Torres y cols., 2018) (62)

Variables	Casos de gastroquiasis (n=18525)		OR	Valor <i>P</i>
	Anomalías asociadas	Sin anomalías asociadas		
	n=3323 % (n)	n=15202 % (n)		
Masculino	49.9 (1661)	30.2 (4598)	2.15	<0.00001
Femenino	37.9 (1262)	31.8 (4848)	1.30	<0.00001
Americanos ^a	79.3 (2636)	70.6 (10733)	1.59	<0.00001
Caucasicos ^b	19.5 (651)	29.1 (4433)	0.59	<0.00001
Diagnóstico prenatal	12.6 (421)	10.3 (1574)	1.25	0.0001
Defectos cromosómicos	2.5 (85)	0.07 (11)	36.25	<0.00001
Mortalidad	19.8 (660)	2.2 (342)	10.76	<0.00001

*Es posible que las frecuencias no resulten al total debido a datos faltantes o no especificados. OR, *Odds Ratio* (proporción de probabilidad). ^a Puede incluir casos de gastroquiasis entre Hispanos, raza Afroamericana, Hawaiana o Ilesñas del Pacífico. ^b Puede involucrar casos de gastroquiasis entre raza Negra o Blanca.

2.2 Estrategias para la identificación de genes candidatos

Los genes candidatos son generalmente aquellos genes con función biológica conocida que regula directa o indirectamente los procesos de desarrollo de los rasgos o patología a investigar. El enfoque del gen candidato se ha aplicado de forma ubicua para la investigación de enfermedades genéticas, estudios de asociación genética, biomarcadores y selección de dianas farmacológicas en muchos organismos, desde animales hasta humanos (92). Uno de los pasos críticos en la realización de estudios de genes candidatos es la elección de un gen candidato adecuado que pueda desempeñar un papel relevante en la enfermedad bajo investigación. Para este fin, se deben identificar las variantes genéticas existentes y determinar cuál de esas variantes produce proteínas con funciones alteradas que podrían influir en el rasgo o patología de interés (93).

Hasta la fecha, un gran número de genes candidatos con características de resistencia o susceptibilidad a determinada enfermedad se han detectado de manera primaria o incluso repetitiva, aunque el número total de genes aceptados públicamente todavía es pequeño. En este aspecto, el diseño de casos/controles se considera una de las principales herramientas para detectar asociaciones significativas entre las variaciones genéticas y la enfermedad bajo investigación. Sin embargo, debido a la extrema rareza de ciertas variantes genéticas, este enfoque requiere cohortes de gran tamaño para confirmar la asociación entre estas variantes y el riesgo de la patología investigada. Asimismo, uno de los principales problemas para la falta de replicación de los

resultados es la estratificación de la población, que se puede sortear fácilmente en una cohorte independiente y aleatoria de poblaciones de prueba y control, lo que reduce la posibilidad de mostrar similares patrones de variación (94).

El análisis de genes candidatos suele ser un procedimiento indispensable para la posterior clonación posicional/funcional de loci de rasgos cualitativos (QTL por sus siglas en inglés *Quantitative Trait Locus*) que controlan la variación genética principal de los rasgos interesados después de las exploraciones iniciales del genoma. Junto con esto, el análisis de ligamiento asocia genes o secuencias cercanas de ácido desoxirribonucleico (DNA por sus siglas en inglés *DeoxyriboNucleic Acid*) que se van localizando a lo largo del cromosoma para identificar un gen candidato. Cada nueva mutación surge de un haplotipo en particular. Este último, puede aumentar a una alta frecuencia por deriva genética aleatoria (selección, migración, mezcla de la población) y posteriormente dividirse en segmentos por recombinación (variación genética) (95). En general, los componentes significativos de los QTL en una región cromosómica que afecta la variación genética de los rasgos investigados son genes causales. Sin embargo, este enfoque puede ser altamente subjetivo debido al proceso de selección de candidatos específicos. La principal desventaja es que requiere la información que proviene del conocimiento fisiológico o bioquímico funcional (por ejemplo, la regulación hormonal o vía metabólica/bioquímica), que generalmente es finita o puede no estar disponible en absoluto (92).

Por otra parte, el estudio de asociación de genoma completo (GWAS por sus siglas en inglés *Genome-Wide Association Study*) es un enfoque utilizado en la

investigación genética para asociar variaciones genéticas específicas con ciertas enfermedades. No obstante, su principal desventaja involucra su elevado empleo de recursos y costo económico. En general, los GWAS sólo ubican las regiones cromosómicas de los QTL con la ayuda de marcadores de DNA en diseños experimentales basados en familias o en poblaciones, que por lo común incluyen un gran número de genes candidatos. En comparación, el diseño basado en familias, en el que los miembros de la familia y sus variantes genéticas compartidas entre los individuos afectados, presumiblemente incluyen alelos de riesgo para la enfermedad bajo investigación. Por consiguiente, es esperado que el enfoque basado en familias y su segregación familiar de variantes genéticas relevantes detecte de forma mayormente específica SNV de susceptibilidad, a diferencia de la selección agrupada de casos/controles no relacionados. Sin embargo, su viabilidad está limitada en gran medida por su confianza en el conocimiento existente sobre la biología conocida del fenotipo bajo investigación y desafortunadamente, la anatomía molecular detallada de la mayoría de los rasgos biológicos que sigue siendo desconocida (96).

Avances recientes en tecnologías experimentales de alto rendimiento como el perfil de expresión génica de genoma completo, GWAS, secuenciación de inmunoprecipitación de cromatina (ChIP-seq por sus siglas en inglés *Chromatin Immunoprecipitation Sequencing*), así como la secuenciación de nueva generación (NGS por sus siglas en inglés *Next-Generation Sequencing*) escanean el genoma en busca de variantes genéticas asociadas a enfermedades y agregan conocimiento a la función genética, regulación y priorización de recursos de SNV (97). Esto proporciona datos e información

extensa sobre el genoma completo, transcriptómica, epigenómica y proteómica de alta cobertura en numerosos tipos de células, clasificando el comportamiento específico del tejido, sus interacciones y el funcionamiento de las células (98). La aplicación del enfoque del gen candidato que emanan de la NGS está destinada a dar abundantes dividendos en términos de esclarecimiento de los mecanismos complejos de la enfermedad bajo investigación, un mejor pronóstico y diagnóstico de los pacientes en poco tiempo y de manera eficiente (97,98).

Asimismo, diversos proyectos del mapeo del genoma en mamíferos sobre la anatomía molecular de rasgos complejos y cuantitativos han revelado una multitud de vías posibles para identificar genes candidatos en los que el enfoque digital atrae la atención; como tal, podría permitir la identificación sistemática de los genes que subyacen a los rasgos biológicos bajo investigación [99]. Especialmente, cuando el desarrollo de la ontología génica (GO por sus siglas en inglés *Gene Ontology*) se ha establecido, los recursos digitales permiten identificar genes candidatos mediante algunos principios determinados, por ejemplo, la similitud funcional [100]. En tal circunstancia, el enfoque de gen candidato *in silico* o enfoque de gen candidato facilitado por computadora, es un recurso en línea novedoso para los investigadores, que les brindan recursos rápidos y eficientes, así como estrategias confiables y significantes para identificar variantes genéticas causales.

TABLA 8**Resumen de diversos *softwares* de aplicación y herramientas en línea relacionadas con el enfoque del gen candidato digital**

Nombre	Sitio web	Referencia
GeneSeeker	http://www.cmbi.ru.nl/GeneSeeker/	101
Endeavour	http://www.esat.kuleuven.be/endeavour	102
POCUS	http://www.hgu.mrc.ac.uk/Users/Colin.Semple/	103
G2D	http://www.ogic.ca/projects/g2d_2/	104
SUSPECTS	http://www.genetics.med.ed.ac.uk/suspects/	105
TOM	http://www-micrel.deis.unibo.it/~tom/	106
BioMercator	http://moulon.inra.fr/~bioinfo/BioMercator	107
FunMap	http://web.biostat.ufl.edu/~cma/genetics/software.html	108
GFINDER	http://www.bioinformatics.polimi.it/GFINDER/	109
PROSPECTR	http://www.genetics.med.ed.ac.uk/prospectr/	110
eVOC	www.sanbi.ac.za/evoc	111
QTL Mixer	http://qtl.pzr.uni-rostock.de/qtlmix.php	112
DGP	http://maine.ebi.ac.uk:8000/services/dgp	113
CoGenT++	http://cgg.ebi.ac.uk/cogentpp.html	114
KNN classifier	Disponibile por solicitud: jianz xu@hotmail.com	115
SNPs3D	http://www.SNPs3D.org	116

Continúa...

PhD-SNP	http://gpcr.biocomp.unibo.it/cgi/predictors/PhD-SNP/Ph D-SNP.cgi	117
REACTOME	http://www.reactome.org	118
LitInspector	http://www.litinspector.org	119
NetPath	http://www.netpath.org/index.html	120
Predictive Networks	http://predictivenetworks.org/	121
GeneGo	http://www.genego.com/	122
Topp Gene suite	http://toppgene.cchmc.org/	123
OMIM	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim	124
PhenoPred	http:// www.phenopred.org/	125
Oncomine	https://www.oncomine.org	126
Entrez Gene	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Entrez	127
ClinVar	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar	127
Ensembl	http://www.ensembl.org	128
VEP	http://www.ensembl.org/info/docs/variation/vep/index.html	128
Aceview	www.ncbi.nlm.nih.gov/IEB/Research/Acembly/	129
UCSC Genome Browser	http://genome.ucsc.edu/	130
VISTA Genome Browser	http://genome.lbl.gov/vista	131

Continúa...

VarioWatch	http://genepipe.ncgm.sinica.edu.tw/variowatch/ main.do	132
NCBI's dbSNP	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp	133
PolyScan	http://genomewustl.edu/pub/software/polyscan/	134
dbSNP-Q	https://cgsmd.isi.edu/dbsnpq/	135
SNPper	http://snpper.chip.org/	136
RAVEN	http://www.cisreg.ca/	137
ANNOVAR	http://www.openbioinformatics.org/annovar/	138
DistiLD	http://distild.jensenlab.org/	139
GLIDERS	http://www.sanger.ac.uk/resources/software/gli ders/	140
SNAP	http://www.broad.mit.edu/mpg/snap/	141
PolyDoms	http://polydoms.cchmc.org	142
UniProt	http://www.uniprot.org/	143
SNPeffect	http://snpeffect.switchlab.org/	144
PolyPhen-2	http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/	145
SIFT	http://sift.jcvi.org/	146
PROVEAN	http://provean.jcvi.org/	147
PANTHER	http://pantherdb.org/	148
STRING	https://string-db.org/	149
SVS-PhoRank	http://www.goldenhelix.com	150
gene ranking		

Continúa...

Genecards	http://genecards.org/	151
Malacards	http://malacards.org/	151
TFBIND	http://tfbind.hgc.jp/	152
TFSEARCH	http://www.cbrc.jp/research/db/TFSEARCH.ht ml	153
Mirsnpscore	http://www.bigr.medisin.ntnu.no/mirsnpscore/	154
MirSNP	http://cmbi.bjmu.edu.cn/mirsnp	155

2.2.1 Secuenciación de exoma

La secuenciación genómica con el uso de tecnologías de secuenciación masiva como la NGS ha demostrado ser una alternativa eficaz a las pruebas específicas y panel de genes en un entorno de investigación para establecer una nueva base genética de distintos trastornos mendelianos (monogénicos) o complejos (multifactoriales) bajo investigación (156,157). La NGS genera información precisa y confiable para la mayoría de las partes del genoma. En un estudio realizado en 684 participantes, se compararon los datos de la secuenciación del exoma y la secuenciación de Sanger (considerada el estándar de la secuenciación) de cinco genes; la tasa de validación para los resultados de la secuenciación del exoma fue del 99.97%. Además, los resultados discrepantes en las regiones de secuenciación del exoma de alta calidad tenían más probabilidades de ser correctos en los datos de

secuenciación del exoma que en la primera ronda de datos de secuenciación de Sanger (158).

La secuenciación de exoma completo (WES, por sus siglas en inglés *Whole-Exome Sequencing*) consiste en la captura, secuenciación y análisis de todos los exones (regiones codificantes) de los genes que codifican para proteínas en el genoma humano. La WES se enfoca en todos los genes conocidos (aproximadamente 22,000 genes codificantes de proteínas) que comprende menos del 2% del genoma. Se estima que el 85% de las mutaciones que causan enfermedades se localizan en el exoma y por ende, desencadenen una consecuencia fenotípica grave. Por otra parte, la secuenciación de genoma completo (WGS, por sus siglas en inglés *Whole Genome Sequencing*) genera datos de secuencia de una región que es de 50 a 100 veces más grande que la cubierta por la WES e incluye regiones reguladoras, intrónicas e intergénicas.

Entre estas tecnologías existen diferencias que representa un área de investigación activa. La WGS genera una secuenciación más uniforme en algunas regiones a diferencia de la WES. Algunos enfoques analíticos emergentes pueden usar la WGS para detectar variantes estructurales y la expansión de repeticiones cortas de nucleótidos asociadas con la enfermedad. Sin embargo, las herramientas bioinformáticas para la WGS están en general menos desarrolladas que las disponibles para la WES. Además, el costo de la WGS sigue siendo mayor que el de la WES, en parte debido al costo de la administración y el análisis de los datos (159).

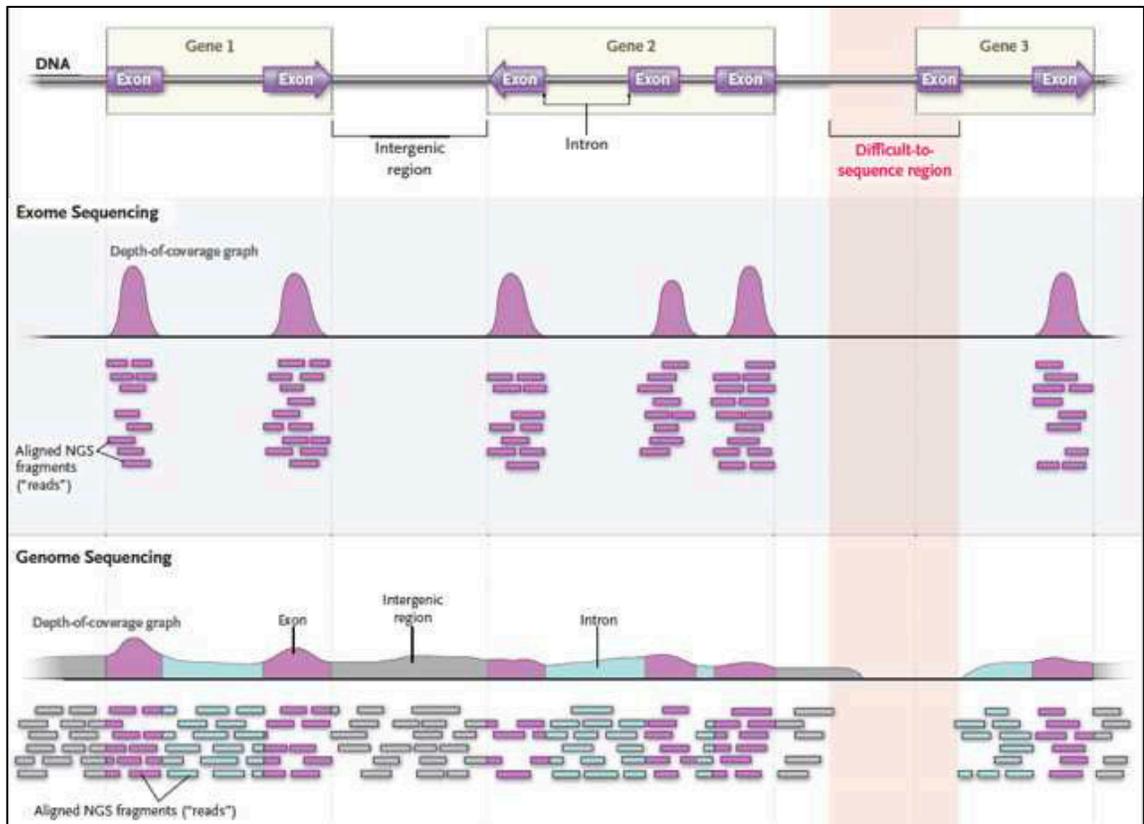


Figura 3. Tipos de pruebas de secuenciación clínica de próxima generación (Modificado de Adams y Eng, 2018) (159). La secuenciación del exoma cubre la mayoría de los genes conocidos, incluidos los genes que aún no se han asociado con enfermedades humanas. La secuenciación del genoma cubre la mayoría de genes y regiones intergénicas.

2.3 Originalidad y contribución del proyecto de investigación

Actualmente, la prevalencia de gastrosquisis alrededor del mundo (incluido México) está en aumento y su etiopatogenia es desconocida (5,16). Asimismo, hasta el momento no existen estudios genéticos/genómicos en familias con gastrosquisis recurrente y abordarlo con este nuevo enfoque podría aportar

mayor información a su etiología. El análisis genético propuesto (análisis de exoma), busca identificar la contribución genética relacionada con gastrosquisis, al explorar variantes genéticas compartidas entre los miembros familiares e individuos afectados que pudieran contribuir a su patogénesis. Por lo tanto, se integró la presente investigación con la finalidad de buscar e identificar genes candidatos de posible riesgo implicados en la patogénesis de gastrosquisis.

CAPÍTULO III: Hipótesis

Hipótesis de trabajo: El análisis de exoma de gastrosquisis recurrente permitirá la identificación de genes de riesgo para el desarrollo de gastrosquisis.

CAPÍTULO IV: Objetivos

4.1 Objetivo general

Identificar genes candidatos de riesgo para gastrosquisis, mediante el análisis de exoma en una familia nuclear.

4.2 Objetivos particulares

1. Identificar en una familia nuclear las variantes genéticas con posible relevancia en descendientes con gastrosquisis recurrente.
2. Analizar la relación de dichas variantes con la fisiopatología de la enfermedad mediante herramientas bioinformáticas.

CAPÍTULO V: Material y métodos

5.1 Diseño metodológico del estudio

La presente investigación es un estudio observacional, transversal, comparativo, retrospectivo, no ciego. El protocolo fue sometido, aprobado y finalizado por el Comité de Ética y el Comité Doctoral de la Facultad de Medicina y Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” de la Universidad Autónoma de Nuevo León, con los números de registro GN17-00002 (aprobado: 21 de septiembre de 2017, finalizado: 21 de agosto 2018) y FMSEPG-3322/1017 (25 de octubre de 2017) respectivamente.

5.2 Tipo de estudio

La presente investigación es un estudio de cohorte transversal.

5.3 Población de estudio

La población de estudio estuvo constituida por individuos afectados con gastrosquisis y sanos en una familia nuclear.

5.3.1 Número de sujetos incluidos y calculo del tamaño de la muestra

La presente investigación es un estudio piloto en una familia nuclear con gastrosquisis recurrente.

5.3.2 Características de la población

Hombres y mujeres mexicanos de cualquier edad.

5.3.3 Criterios de inclusión

Individuos de una familia nuclear con gastrosquisis recurrente, con accesibilidad para toma de muestra de sangre y consentimiento informado firmado.

5.3.4 Criterios de exclusión

Familia nuclear con gastrosquisis sindrómica.

5.3.5 Criterios de eliminación

Retiro del estudio.

5.3.6 Lugar de referencia y método de reclutamiento

La elegibilidad de la familia nuclear con gastrosquisis recurrente se llevó a cabo en el Departamento de Genética de la Facultad de Medicina y Hospital Universitario de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Su método de reclutamiento incluyó la evaluación del caso índice en la consulta externa de Genética. Posteriormente, se realizó una entrevista personalizada a la familia nuclear con gastrosquisis recurrente. Se solicitó a los padres de sujetos menores de edad su participación voluntaria en el estudio (ver formato de Consentimiento Informado dirigido hacia los padres y formato de Consentimiento Informado). Debido al rango de edad (0 a 5 años) el proceso de obtención de asentimiento informado verbal fue obtenido en aquellos sujetos que tuvieron la capacidad de hacerlo. Se les explicó la decisión de participar en la presente investigación de forma voluntaria y sin ninguna presión, inducción o pago alguno. Asimismo, se les explicó de que la participación consistió en contestar un cuestionario donde se preguntó sobre la enfermedad, historia de la familia y costumbres o hábitos personales para entender su ambiente. Se les explicó que se tomarían muestras de sangre de una vena del brazo para buscar genes que pudieran estar relacionados con la enfermedad que presentan. Se explicó las posibles molestias por el tiempo necesario para contestar un cuestionario y el sitio de la toma de muestra de sangre pudiera ocasionar molestia o dolor leve, pero que no pondría en riesgo la salud, así como los beneficios de la participación en el estudio que son buscar factores genéticos que pudieran estar relacionados con la enfermedad. Se les explicó que se

dieron seguridades de que los datos relacionados de esta investigación fueron manejados de forma confidencial (Anexos 9.1, 9.2 y 9.3).

5.4 Estrategia del diseño metodológico

Previa autorización mediante formato de Consentimiento Informado dirigido hacia los padres y formato de Consentimiento Informado, se obtuvo muestra de sangre periférica en los casos afectados e individuos sanos de la familia nuclear con gastrosquisis recurrente, para realizar extracción de DNA con la finalidad de realizar análisis exoma mediante la tecnología NGS (análisis de datos de secuenciación masiva). Las variantes genéticas obtenidas fueron discriminadas o filtradas entre los casos afectados e individuos sanos, es decir, se identificaron si fueron idénticas (por descendencia), genes conocidos para otras enfermedades o si se trataron de variantes comunes (polimórficas) usando bases de datos internacionales genómicas. Posteriormente, se buscaron variantes genéticas funcionales o patogénicas con la finalidad de buscar la función de dichas variantes genéticas y conocer su plausibilidad con la fisiopatología de la enfermedad. Se analizó la relación existente entre las variantes genéticas de interés a través de un interactoma establecido mediante la función de las variantes genéticas de riesgo analizadas previamente (ver abajo, análisis bioinformático integral de los datos).

5.5 Naturaleza de la muestra y secuenciación de exoma

Las muestras utilizadas en la presente investigación fueron DNA genómico de 4 individuos, dos pacientes con gastrosquisis aislada (medias hermanas), madre y padre del caso índice (ambos sanos). Para cada participante, se obtuvo DNA genómico total usando el kit QIAamp® DNA Blood Mini y el sistema automatizado QIAcube (número de cat. 158445; Qiagen GmbH, Hilden, Alemania) siguiendo el protocolo recomendado. El DNA purificado se recolectó y almacenó a -20°C antes del análisis.

Para el caso índice y sus padres (trío), *Centogene AG*® (Rostock, Alemania) validó el desempeño y desarrollo de la WES. Aproximadamente 37 Mb (214,405 exones) de las secuencias de codificación de consenso se enriquecieron a partir de DNA genómico fragmentado por más de 340,000 sondas diseñadas contra el genoma humano (*Nextera*® *Rapid Capture Exome*, *Illumina*® San Diego, CA, EE. UU.) y la biblioteca generada secuenciada en una plataforma *Illumina*® a un promedio profundidad de cobertura 100-130X. Con respecto a la media hermana afectada, *LC Sciences*® (Houston, TX, EE. UU.) validó el desempeño y desarrollo de la WES. El DNA genómico fragmentado se sometió a construcción de biblioteca. La captura del exoma se realizó con *SureSelect*® *Human All Exon V6*, *Agilent*® (Santa Clara, CA, EE. UU.) siguiendo el protocolo recomendado y la secuenciación se realizó con el *Illumina*® *Hiseq X Ten* en *LC-BIO* (Hangzhou, China) durante una ejecución de 150-pb emparejadas. Se aplicó una tubería bioinformática de extremo a extremo para cada uno de los procesos de bioinformáticos internos que incluyen el llamado de bases, filtrado

primario de lecturas de baja calidad, duplicados y probables artefactos, alineación, controles de calidad y anotación de variantes (*Centogene AG*® Rostock, Alemania y *LC Sciences*® Houston, TX, EE. UU.).

Las secuencias de DNA del exoma fueron alineadas contra el genoma humano de referencia (GRCh37/hg19). Las SNV y las inserciones y deleciones de nucleótidos (INDEL por sus siglas en inglés *INsertion or DELetion*) anotadas fueron filtradas según las variantes identificadas como intrónicas (límites de intrón \pm 20 pb), no codificantes o sinónimas, así como variantes con una frecuencia alélica $>1\%$ ya sea en la base de datos de ExAc (160) o 1000 Genomas (161), mientras tanto, todos los patrones de herencia relevantes y las variantes causantes de enfermedades reportadas en HGMD® (162), ClinVar (127), CentoMD® (163), Genome (164) y dbSNP (165) fueron considerados. Una vez que se obtuvo la información de la muestra, posteriormente, se estableció una base de datos unificadora para tener una mejor visualización e interpretación de las SNV e INDEL anotadas y consideradas.

5.6 Análisis bioinformático integral de los datos

Las variantes genéticas del exoma fueron filtradas y priorizadas de acuerdo a su relevancia fenotípica (gastrosquisis) en las plataformas bioinformáticas ClinVar (127), SVS - PhoRank gene ranking (150) y Ensembl - Variant Effect Predictor (128). Esta última también fue utilizada para evaluar los posibles efectos deletéreos (impacto alto, moderado, bajo y modificador) de las variantes del exoma en función de los siguientes algoritmos: SIFT, PolyPhen, dbNSFP,

Condel, LoFtool, MaxEntScan (predicción de *splicing*) y BLOSUM62 (conservación) (128). El análisis se basó en la anotación del genoma humano de referencia GRCh37/hg19.

Mediante SVS - PhoRank gene ranking (algoritmo modelado que clasifica los genes según su relevancia con respecto a los fenotipos especificados por el usuario como lo define la GO) se utilizó para clasificar el modelo de herencia para todas las variantes (150). Se consideró una suma del puntaje estándar por encima de 1.333 para los modelos dominantes y recesivos. Se evaluó un modelo heterocigoto compuesto a partir de la detección de al menos dos genotipos heterocigotos dentro del mismo gen heredado de la madre en un mínimo de dos loci diferentes. Asimismo, se consideraron las siguientes clasificaciones: materno de novo, paterno de novo, heterocigoto de novo, homocigoto de novo heterocigoto materno, heterocigoto paterno y homocigoto ambos.

Posteriormente, se realizó enriquecimiento funcional de genes y análisis de interactoma. Para ello, se utilizaron herramientas bioinformáticas específicas para discernir la implicación de las variantes genéticas y para explorar vías biológicas e interacciones proteína-proteína (IPP). El análisis de enriquecimiento funcional se realizó utilizando las plataformas GO y Panther Classification System, que contienen información completa sobre la evolución y función de los genes codificadores de proteínas de 104 genomas completamente secuenciados (148). Un valor de $P < 0.05$ fue el criterio de selección para las rutas enriquecidas significativamente que incluye una "vista jerárquica" como una estructura de las clasificaciones/ontologías más

significativas de los genes humanos y estadísticas de valor E que incluye tasas de descubrimiento falso (FDR, por sus siglas en inglés *False Discovery Rate*). La red de IPP que incluye procesos físicos, funcionales y biológicos asociados con genes candidatos seleccionados para la gastrosquisis se realizó utilizando la plataforma String 10.5 con un puntaje de confianza de 0.4. Los pares de genes detectados en dos o más de las IPP incluyeron co-expresión, homología de proteínas, bases de datos curadas, vecindad de genes o conjuntos de datos determinados experimentalmente. Estos fueron seleccionados e incluidos en el análisis de la red utilizando la plataforma String 10.5 (149).

Se realizó una clasificación de vías patogenéticas (curado manual) basado en las categorías funcionales GO (vías y procesos biológicos) de acuerdo a genes seleccionados co-segregados con la gastrosquisis (por ejemplo, variantes de alto impacto, variantes segregadas entre ambos casos y la madre, así como genes significantes del enriquecimiento funcional, modelos de herencia e IPP) mediante la plataforma bioinformática ToppGene Suite (123). Los términos GO fueron seleccionados de acuerdo a su proximidad y plausibilidad con el fenotipo, incluidas vías biológicas previamente asociadas a la gastrosquisis (62,65).

CAPÍTULO VI: Resultados

6.1 Descripción clínica de la familia nuclear con gastrosquisis recurrente

El probando, una infante de 1 año de edad, nació en la semana 37 de gestación. La madre tenía 24 años de edad, con antecedente gineco-obstétrico de dos gestas y una cesárea previa (el índice de masa corporal antes del embarazo fue de 19.2) y el padre tenía 24 años de edad (ambos sanos y sin antecedentes patológicos de importancia). El parto fue por cesárea después del diagnóstico prenatal de gastrosquisis. La puntuación Apgar al minuto y a los 5 minutos de nacida fue de 9, peso al nacer 2050 g (centil <3) y longitud de 48 cm (centil 15-50). Su media hermana, una infante de 4 años de edad, nació en la semana 36 de gestación. La madre tenía 21 años de edad (el índice de masa corporal antes del embarazo fue de 18.4) y su ex esposo tenía 23 años de edad (no secuenciado con WES y sin antecedentes patológicos de importancia). El parto fue por cesárea después del diagnóstico prenatal de gastrosquisis. La puntuación Apgar al minuto y a los 5 minutos de nacida fue de 9, peso al nacer 1670 g y longitud 42 cm (ambos en centil <3). No hubo antecedente de consanguinidad. Posnatalmente, en ambos casos, se observó la extrusión de asas intestinales dilatadas a través de un orificio abierto de aproximadamente 3 a 4 cm del lado derecho del anillo umbilical. La gastrosquisis se confirmó como una anomalía aislada (no se identificaron anomalías congénitas asociadas) y se realizó un cierre primario de la pared abdominal sin complicaciones clínicas

adicionales. La placenta y las membranas fueron normales. A la exploración física, tanto el probando como su media hermana no presentaron anomalías congénitas asociadas ni alteraciones en los hitos del desarrollo motor y registraron un peso de 8 kg y 13 kg respectivamente (ambos en centil <3) y una longitud de 77 cm y 98 cm respectivamente (ambos en centil 3-15).

Se detectaron en las historias clínicas de los padres, consumo de tabaco (1 a 2 cigarrillos por día) y consumo de alcohol (1 a 2 latas de cerveza de 355 ml por semana) al momento de la preconcepción y durante el primer trimestre del embarazo. En ambos casos hubo antecedente de infección de vías urinarias durante el segundo trimestre del embarazo y compartieron una atención médica pre-concepcional irregular (menos de cuatro seguimientos clínicos en cada embarazo). No hubo consumo de suplementos que contengan ácido fólico.

6.2 Árbol genealógico

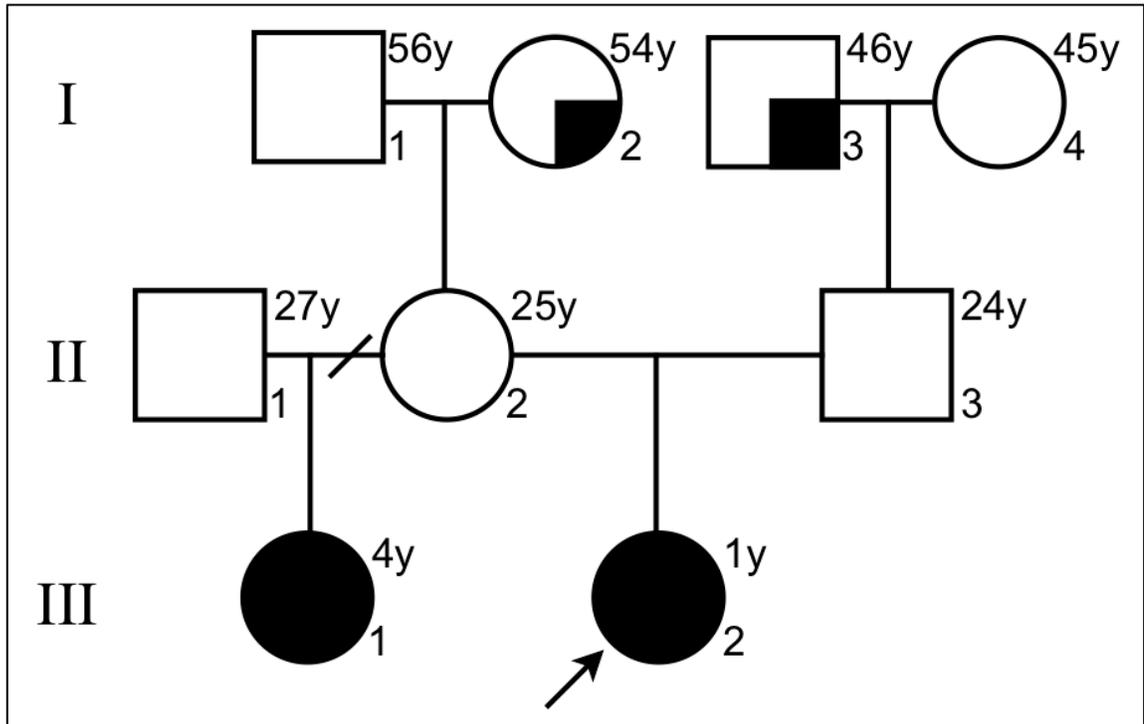


Figura 4. Árbol genealógico de la familia con gastroscisis recurrente (Modificado de Salinas-Torres y cols., 2019) (43). Los símbolos sólidos indican los casos de gastroscisis (III-1 y III-2), los símbolos semisólidos indican casos de hernia umbilical (I-2 y I-3) y los símbolos abiertos indican individuos no afectados. La flecha apunta al probando.

6.3 Naturaleza de la muestra y secuenciación de exoma

La cantidad de DNA se midió mediante la lectura de una relación 260/280 óptima mediante un NanoDrop 8000 (Thermo Fisher). Cuando las relaciones 260/280 se ubicaron en el rango de 1.8 a 2.0, el DNA (con la calidad y concentración requerida) fue utilizado para la generación de las bibliotecas.

TABLA 9**Resumen de los controles de calidad validados del WES**

	Probando^a	Madre^a	Padre^a	Media hermana^b
Total de lecturas	62,605,468	45,508,573	49,095,633	67,572,278
Lecturas alineadas al genoma de referencia	99.82%	99.82%	99.77%	99.26%
Cobertura media del exoma (lecturas)	147	132	132	119
Exoma cubierto al menos por 10 lecturas	98.79%	98.60%	98.83%	97.26%
Exoma cubierto al menos por 50 lecturas	89.53%	87.42%	87.19%	88.23%

^a WES validado por CENTOGENE AG®. ^b WES validado por LC Sciences®.

De acuerdo con los reportes generados por CENTOGENE AG® y LC Sciences® no se detectaron variantes patológicas de DNA asociadas con la gastrosquisis. Para lo cual, se consideraron un total de 17,358 variantes genéticas de los dos conjuntos de informes proporcionados por CENTOGENE AG® y LC Sciences®.

6.4 Análisis bioinformático integral de los datos

De acuerdo al fenotipo investigado, se realizó una priorización funcional de las variantes genéticas resultantes del exoma basado en las plataformas bioinformáticas ClinVar (127), SVS - PhoRank gene ranking (150) y Ensembl - Variant Effect Predictor (128) (31 de agosto 2018). Se identificaron 450 genes con variaciones genéticas heterocigotas, las cuales fueron seleccionadas para el análisis bioinformático posterior (Anexo 9.4).

6.5 Clasificación de genes y variantes genéticas de acuerdo a su impacto/efecto deletéreo

Un efecto combinado de las herramientas de predicción *in silico* identificó las siguientes variantes de alto impacto: *SPATA17* (rs147297747), *PDE4DIP* (rs61804988), *CFAP65* (rs6736922), *ALPP* (rs2260309), *ZNF717* (rs150689808 y rs140982339), *OR4C3* (rs72473368), *MAP2K3* (rs55796947), *TLR8* (rs3764880) y *UBE2NL* (rs237520).

TABLA 10

Variantes genéticas de alto impacto identificadas en la familia con gastroquiasis recurrente*

Chr	Genes	Variantes	Nomenclatura HGVS	Consecuencias	MAF (n)
1	SPATA17	rs147297747	ENST00000470448.5:c.2T>C,	Perdida del codón	1.997E-04
			ENSP00000473514.1:p.Met1?	de inicio, NMDTV	(1) [†]
	PDE4DIP	rs61804988	ENST00000369356.8:c.7053G>A,	Codón de paro	0.500
			ENSP00000358363.4:p.Trp2351Ter	premature	(122829) [§]
2	CFAP65	rs6736922	ENST00000436631.5:c.1A>C,	Perdida del codón	4.073E-06
			ENSP00000396836.1:p.Met1?	de inicio	(1) [§]
	ALPP	rs2260309	ENST00000392027.2:c.804T>G,	Codón de paro	0.617
			ENSP00000375881.2:p.Tyr268Ter	premature	(141172) [§]
3	ZNF717	rs150689808	ENST00000478296.5:c.596C>G,	Codón de paro	7.964E-06
			ENSP00000419377.1:p.Ser199Ter	premature	(1) [¶]
		rs140982339	ENST00000468296.5:c.107G>A,	Codón de paro	0.021
			ENSP00000418187.1:p.Trp36Ter	premature	(958) [§]
11	OR4C3	rs72473368	ENST00000319856.5:c.441G>A,	Codón de paro	0.500
			ENSP00000321419.5:p.Trp147Ter	premature	(120864) [§]
17	MAP2K3	rs55796947	ENST00000496046.5:c.304C>T,	Codón de paro	0.500
			ENSP00000464043.1:p.Gln102Ter	premature, NMDTV	(119837) [§]
X	TLR8	rs3764880	ENST00000218032.6:c.1A>G,	Perdida del codón	0.464
			ENSP00000218032.6:p.Met1?	de inicio, SRV	(1751) [†]
	UBE2NL	rs237520	ENST00000618570.1:c.266G>T,	Perdida del codón	0.617
			ENSP00000488314.1:p.Ter89LeuextTer?	de paro	(2331) [†]

*Variantes de exoma como codón de paro prematuro, pérdida del codón de inicio, pérdida del codón de paro, variante de transcripción degenerativo sin sentido (NMDTV, por sus siglas en inglés, *Nonsense Mediated Decay Transcript*)

Variant), variante de región de empalme (SRV, por sus siglas en inglés, *Splice Region Variant*) con efecto combinado por herramientas de predicción funcional (128); Nomenclatura de la Sociedad de Variación Genómica Humana (HGVS, por sus siglas en inglés, *Human Genome Variation Society*); frecuencia alélica menor (MAF, por sus siglas en inglés, *Minor Allelic Frequency*); [†]Proyecto 1000 genomas fase 3; [§]Base de datos de agregación del genoma versión 9 (gnomAD exomes 9, por sus siglas en inglés, *Genome Aggregation Database versión 9*); [¶]Programa de medicina-ómica para medicina de precisión.

Un efecto combinado de las herramientas de predicción *in silico* identificó múltiples variantes de impacto moderado. Las siguientes variantes genéticas fueron identificadas entre ambos casos afectados con gastrosquisis y la madre: *COL6A3* (rs202092407), *FGFRL1* (rs4647931), *HHIP* (rs753937179), *SGCD* (rs727503423), *RAPGEF1* (rs554713394), *PKD1* (rs142888788), *ZFHX3* (rs200992486), *BCAS3* (rs201061353), *EVPL* (rs202057945), *CEACAM5* (rs998112305) y *KLK14* (rs112658494). La variante genética *PLOD1* (201661871) fue identificada como bajo impacto.

TABLA 11

Variantes genéticas con cambio de sentido de moderado impacto identificadas en la familia con gastrosquisis recurrente*

Chr	Genes	Variantes	Nomenclatura HGVS	MAF (n)	
1	<i>F5</i>	rs6027	ENST00000367797.7:c.6665A>G, ENSP00000356771.3:p.Asp2222Gly	0.045 (227) [†]	
		rs1800595	ENST00000367797.7:c.3980A>G, ENSP00000356771.3:p.His1327Arg	0.046 (228) [†]	
	<i>INPP5B</i>	rs371536609	ENST00000373027.5:c.13G>T, ENSP00000362118.1:p.Ala5Ser	0.004 (19) [†]	
	<i>OBSCN</i>	rs75280352	ENST00000366707.9:c.7498G>T, ENSP00000355668.6:p.Ala2500Ser	0.005 (23) [†]	
		rs185523702	ENST00000366707.9:c.5337G>C, ENSP00000355668.6:p.Glu1779Asp	0.004 (20) [†]	
	<i>MIIP</i>	rs112218993	ENST00000235332.5:c.730C>T, ENSP00000235332.4:p.Arg244Cys	1.922E-04 (47) [§]	
	<i>DPYD</i>	rs200562975	ENST00000370192.7:c.451A>G, ENSP00000359211.3:p.Asn151Asp	0.001 (4) [†]	
	2	<i>COL6A3</i> [‡]	rs202092407	ENST00000295550.4:c.7007C>T, ENSP00000295550.4:p.Pro2336Leu	3.993E-04 (2) [†]
		<i>AOX1</i>	rs3731722	ENST00000260930.10:c.482A>G, ENSP00000260930.6:p.His161Arg	0.084 (422) [†]
		<i>CFAP65</i>	rs6736922	ENST00000409865.7:c.163A>C, ENSP00000386945.3:p.Met55Leu	4.073E-06 [§]
<i>ALPP</i>		rs13026692	ENST00000392027.2:c.265A>T, ENSP00000375881.2:p.Ile89Leu	0.389 (1947) [†]	
<i>UGT1A3</i>		rs6431625	ENST00000482026.5:c.140T>C, ENSP00000418532.1:p.Val47Ala	0.434 (2174) [†]	
<i>UGT1A6</i>		rs1105879	ENST00000441351.1:c.552A>C, ENSP00000389637.1:p.Arg184Ser	0.325 (1626) [†]	

Continúa...

		rs6759892	ENST00000305139.10:c.19T>G, ENSP00000303174.6:p.Ser7Ala	0.362 (1814) [†]
		rs2070959	ENST00000305139.10:c.541A>G, ENSP00000303174.6:p.Thr181Ala	0.278 (1390) [†]
	<i>UGT1A7</i>	rs11692021	ENST00000373426.3:c.622T>C, ENSP00000362525.3:p.Trp208Arg	0.298 (1491) [†]
	<i>PER2</i>	rs934945	ENST00000254657.7:c.3731G>A, ENSP00000254657.3:p.Gly1244Glu	0.175 (875) [†]
	<i>CROCC</i>	rs372884123	ENST00000375541.9:c.5522G>A, ENSP00000364691.4:p.Arg1841Gln	0.002 (8) [†]
3	<i>ZNF717</i>	rs150689808	ENST00000478296.5:c.596C>T, ENSP00000419377.1:p.Ser199Leu	7.964E-06 [†]
	<i>GRK7</i>	rs150840377	ENST00000264952.2:c.1204G>T, ENSP00000264952.2:p.Asp402Tyr	0.003 (15) [†]
4	<i>FGFRL1</i> [‡]	rs4647931	ENST00000264748.6:c.1271G>T, ENSP00000264748.6:p.Arg424Leu	0.007 (36) [†]
	<i>HHIP</i> [‡]	rs753937179	ENST00000296575.3:c.2044C>A, ENSP00000296575.3:p.Leu682Ile	1.018E-04 (25) [§]
	<i>SCLT1</i>	rs77885682	ENST00000281142.9:c.1508G>A, ENSP00000281142.5:p.Arg503Lys	0.014 (72) [†]
5	<i>SGCD</i> [‡]	rs727503423	ENST00000337851.4:c.494G>A, ENSP00000338343.4:p.Arg165Gln	1.236E-04 (30) [§]
	<i>SLC6A18</i>	rs113861454	ENST00000324642.3:c.235G>A, ENSP00000323549.3:p.Gly79Ser	0.034 (171) [†]
	<i>PRDM9</i>	rs6875787	ENST00000296682.3:c.2042C>G, ENSP00000296682.3:p.Thr681Ser	0.702 (2414) [‡]
6	<i>CRYBG1</i>	rs141300996	ENST00000457437.1:c.862G>A, ENSP00000391419.1:p.Val288Met	0.004 (18) [†]
	<i>PRICKLE4</i>	rs145966346	ENST00000359201.6:c.512A>G, ENSP00000352128.6:p.Glu171Gly	4.620E-04 (112) [§]
	<i>ECI2</i>	rs35202579	ENST00000380118.7:c.964C>T, ENSP00000369461.3:p.Pro322Ser	0.011 (56) [†]
	<i>UHRF1BP1</i>	rs3734265	ENST00000452449.6:c.2560A>G, ENSP00000400628.2:p.Lys854Glu	0.001 (5) [†]

Continúa...

	<i>GRM4</i>	rs188910868	ENST00000374177.7:c.1099C>T, ENSP00000363292.3:p.Arg367Cys	0.001 (4) [†]
7	<i>HECW1</i>	rs200912368	ENST00000453890.5:c.3692A>G, ENSP00000407774.1:p.Asn1231Ser	0.001 (6) [†]
	<i>ZMIZ2</i>	rs71548246	ENST00000441627.5:c.2482G>A, ENSP00000414723.1:p.Gly828Arg	0.005 (24) [†]
	<i>SPDYE5</i>	rs371522010	ENST00000455862.6:c.988C>T, ENSP00000485662.1:p.Arg330Cys	0.001 (3) [†]
	<i>TMEM106B</i>	rs147889591	ENST00000396668.7:c.401G>A, ENSP00000379902.3:p.Ser134Asn	0.006 (32) [†]
8	<i>ATP6V1B2</i>	rs116941637	ENST00000523478.5:c.11G>A, ENSP00000430154.1:p.Arg4Gln	0.004 (19) [†]
9	<i>RAPGEF1</i> [‡]	rs554713394	ENST00000372190.3:c.1457C>T, ENSP00000361264.3:p.Thr486Met	2.035E-05 (5) [§]
	<i>OR13F1</i>	rs79177442	ENST00000334726.3:c.290G>A, ENSP00000334452.2:p.Cys97Tyr	0.008 (41) [†]
	<i>CCDC183</i>	rs76153658	ENST00000338005.6:c.1454T>C, ENSP00000338013.6:p.Ile485Thr	0.010 (48) [†]
11	<i>OR10G4</i>	rs4474449	ENST00000320891.4:c.302A>G, ENSP00000325076.3:p.Tyr101Cys	0.041 (9946) [§]
	<i>SF3B2</i>	rs11554199	ENST00000524627.5:c.76G>T, ENSP00000435495.1:p.Ala26Ser	0.003 (16) [†]
	<i>LRP5</i>	rs41494349	ENST00000294304.11:c.266A>G, ENSP00000294304.6:p.Gln89Arg	0.020 (100) [†]
	<i>P2RY2</i>	rs117372847	ENST00000311131.6:c.50A>G, ENSP00000310305.2:p.Asp17Gly	0.002 (12) [†]
	<i>RTN3</i>	rs139271709	ENST00000540798.5:c.838A>G, ENSP00000442733.1:p.Ile280Val	3.993E-04 (2) [†]
12	<i>ITGA7</i>	rs11171663	ENST00000452168.6:c.38C>T, ENSP00000393844.2:p.Thr13Ile	0.002 (11) [†]
14	<i>TTC6</i>	rs181566041	ENST00000533625.5:c.275A>G, ENSP00000451566.1:p.Glu92Gly	0.006 (31) [†]
	<i>AKAP6</i>	rs200626326	ENST00000280979.8:c.4236A>C, ENSP00000280979.4:p.Lys1412Asn	1.997E-04 (1) [†]

Continúa...

	<i>NAA30</i>	rs181080853	ENST00000556492.5:c.511G>A, ENSP00000452521.1:p.Glu171Lys	0.005 (25) [†]
15	<i>APH1B</i>	rs61751105	ENST00000261879.9:c.595G>A, ENSP00000261879.5:p.Val199Met	0.008 (40) [†]
	<i>THBS1</i>	rs2228262	ENST00000260356.5:c.2099A>G, ENSP00000260356.5:p.Asn700Ser	0.040 (201) [†]
	<i>MCTP2</i>	rs199933047	ENST00000543482.5:c.910A>G, ENSP00000438521.1:p.Met304Val	1.997E-04 (1) [†]
	<i>EMC7</i>	rs140117138	ENST00000527822.5:c.347A>T, ENSP00000434292.1:p.Met117Leu	0.003 (16) [†]
16	<i>PKD1</i> [‡]	rs142888788	ENST00000423118.5:c.8530G>A, ENSP00000399501.1:p.Val2844Ile	1.997E-04 (1) [†]
	<i>ZFH3</i> [‡]	rs200992486	ENST00000268489.9:c.10831C>T, ENSP00000493252.1:p.His3611Tyr	0.005 (24) [†]
	<i>ITGAD</i>	rs182797885	ENST00000389202.2:c.3104A>G, ENSP00000373854.2:p.Gln1035Arg	1.997E-04 (1) [†]
	<i>PDIA2</i>	rs148442250	ENST00000404312.5:c.611G>A, ENSP00000384410.1:p.Arg204Gln	0.002 (8) [†]
	<i>IFT140</i>	rs138420849	ENST00000361339.9:c.1880G>A, ENSP00000354895.5:p.Arg627His	1.728E-04 (40) [§]
	<i>OR2C1</i>	rs75856110	ENST00000304936.3:c.172C>T, ENSP00000307726.2:p.Pro58Ser	0.032 (160) [†]
	<i>LMF1</i>	rs138205062	ENST00000543238.5:c.640C>T, ENSP00000437418.1:p.Arg214Trp	0.003 (16) [†]
	<i>MBTPS1</i>	rs150244031	ENST00000343411.7:c.373C>T, ENSP00000344223.3:p.Arg125Trp	1.997E-04 (1) [†]
17	<i>BCAS3</i> [‡]	rs201061353	ENST00000390652.9:c.2122G>A, ENSP00000375067.4:p.Asp708Asn	1.950E-04 (48) [§]
	<i>EVPL</i> [‡]	rs202057945	ENST00000586740.1:c.296T>C, ENSP00000465630.1:p.Leu99Pro	2.321E-04 (57) [§]
	<i>DNAH17</i>	rs186570138	ENST00000591369.5:c.232C>A, ENSP00000466150.1:p.Ala78Asp	0.004 (22) [†]
	<i>GRAP</i>	rs372985295	ENST00000284154.9:c.589C>T, ENSP00000284154.5:p.Arg197Trp	2.724E-05 (6) [§]

Continúa...

	<i>TBX21</i>	rs2240017	ENST00000177694.1:c.99C>G, ENSP00000177694.1:p.His33Gln	0.050 (250) [†]
	<i>GRIN2C</i>	rs201241904	ENST00000293190.9:c.1705A>G, ENSP00000293190.5:p.Ile569Val	1.997E-04 (1) [†]
	<i>WDR45B</i>	rs148665559	ENST00000571817.5:c.17G>A, ENSP00000461355.1:p.Cys6Tyr	0.002 (12) [†]
19	<i>KLK14</i> [‡]	rs112658494	ENST00000391802.1:c.412C>T, ENSP00000375678.1:p.Arg138Trp	0.004 (21) [†]
	<i>CEACAM5</i> [‡]	rs998112305	ENST00000435837.2:c.64+12306G>A, ENSP00000385072.1:p.Gly651Arg	8.121E-06 (2) [§]
	<i>FAM71E1</i>	rs185418641	ENST00000600100.5:c.397C>T, ENSP00000472421.2:p.Leu133Phe	0.002 (11) [†]
21	<i>SLC5A3</i>	rs35707420	ENST00000381151.4:c.1108G>A, ENSP00000370543.3:p.Val370Met	0.003 (13) [†]
22	<i>GRK3</i>	rs200558027	ENST00000324198.10:c.883C>T, ENSP00000317578.4:p.Arg295Trp	1.997E-04 (1) [†]
X	<i>CYSLTR1</i>	rs320995	ENST00000373304.3:c.927C>A, ENSP00000362401.3:p.Phe309Leu	0.663 (2503) [†]

*Variantes de exoma con cambio de sentido (*ATP6V1B2*, *LRP5*, *ITGA7*, *TTC6*, *PKD1*, *DNAH17* y *WDR45B* también catalogadas como variantes de transcripción degenerativas sin sentido), con efecto combinado por herramientas de predicción funcional (128); Nomenclatura de la Sociedad de Variación Genómica Humana (HGVS, por sus siglas en inglés, *Human Genome Variation Society*); frecuencia alélica menor (MAF, por sus siglas en inglés, *Minor Allelic Frequency*); [‡]Genes y variantes genéticas identificadas entre ambos casos afectados con gastrosquisis y la madre; [†]Proyecto 1000 genomas fase 3; [§]Base de datos de agregación del genoma versión 9 (gnomAD exomes 9, por sus siglas en inglés, *Genome Aggregation Database versión 9*); [¶]Programa de medicina-ómica para medicina de precisión; [£]Base de datos de

agregación del genoma versión 8 (gnomAD exomes 8, por sus siglas en inglés, *Genome Aggregation Database versión 8*).

Un efecto combinado de las herramientas de predicción *in silico* identificó múltiples variantes de impacto modificador. Asimismo, cabe señalar que las variantes genéticas *PDE4DIP* (rs61804988), *SPATA17* (rs147297747), *COL6A3* (rs202092407), *CFAP65* (rs6736922), *ALPP* (rs13026692), *ZNF717* (rs150689808 y rs140982339), *FGFRL1* (rs4647931), *RAPGEF1* (rs554713394), *PKD1* (rs142888788), *MAP2K3* (rs55796947), *ZFHX3* (rs200992486), *BCAS3* (rs201061353), *EVPL* (rs202057945), *CEACAM5* (rs998112305) y *TLR8* (rs3764880) fueron identificadas con un impacto alto o segregadas entre ambos casos afectados con gastrosquisis y la madre.

TABLA 12

Variantes genéticas de impacto modificador identificadas en la familia con gastrosquisis recurrente*

Chr	Genes	Variantes	Nomenclatura HGVS	Consecuencias
1	<i>INPP5B</i>	rs371536609	ENST00000373024.7:c.532+213G>T	Proteína codificante
	<i>OBSCN</i>	rs75280352	ENST00000366704, ENST00000602517	Intron retenido, antisentido
	<i>PDE4DIP</i>	rs61804988	ENST00000530062.5:c.*565G>A,	NMDTV, proteína
			ENST00000526182.1:n.186G>A,	codificante, transcrito
			ENST00000369354.7:c.*68G>A	procesado
			rs144590426	ENST00000467859.3:n.837C>G
	<i>SPATA17</i>	rs2762779	ENSR00000013355,	PFR, pseudogen no
			ENST00000313342.8:n.180G>A	procesado
			rs147297747	ENSR00000020110
	<i>OMA1</i>	rs72762068	ENSR00000021294	Potenciador
			rs34851388	ENST00000453710, ENST00000476933
	<i>DPYD</i>	rs200562975	ENST00000474241.1:n.113A>G	Intron retenido
	<i>F5</i>	rs6027	ENST00000495481.1:n.439A>G	Intron retenido
	<i>MIIP, MIR6729</i>	rs112218993	ENST00000460823.1:n.120C>T,	Transcrito procesado,
			ENST00000618194	miRNA
2	<i>COL6A3[‡]</i>	rs202092407	ENST00000491769.1:n.1261C>T	Intron retenido
	<i>AOX1</i>	rs3731722	ENST00000465297.5:n.2822A>G	Transcrito procesado
	<i>CFAP65</i>	rs6736922	ENST00000441968.5:c.-1524A>C,	Proteína codificante, intron
			ENST00000462848.5:n.178A>C	retenido
	<i>ALPP</i>	rs13026692	ENST00000474529.1:n.344A>T	Intron retenido
	<i>CROCC</i>	rs372884123	ENST00000465021.5:n.543G>A	Transcrito procesado
	<i>COL4A3</i>	rs201127190	ENST00000396578.7:c.987+17T>C	Proteína codificante
	<i>IRS1</i>	rs1801123	ENST00000498335	Transcrito procesado
	<i>UGT1A8, 1A9, 1A10</i>	rs11692021	ENST00000373450.4:c.855+63997T>C	Proteína codificante

Continúa...

	<i>UGT1A6, 1A7,</i>	rs6759892	ENST00000446481.6:c.-7-776T>G,	NMDTV, transcrito
	<i>1A8, 1A9,</i>	rs2070959	ENST00000373445.1:c.855+55646T>G	procesado, proteína
	<i>1A10</i>	rs1105879	ENST00000373450.4:c.856-73489A>G	codificante, variante
			ENST00000354728.4:c.855+20767A>C	intrónica
	<i>UGT1A4, 1A5,</i>	rs6431625	ENST00000450233.1:c.867+9579T>C,	
	<i>1A6, 1A7, 1A8,</i>		ENST00000373414.3:c.867+15408T>C	
	<i>1A9, 1A10</i>			
3	<i>ZNF717,</i>	rs150689808	ENST00000477374.5:c.277+2399C>T,	Proteína codificante,
	<i>MIR4273</i>		ENST00000491507.1:n.544+2399C>T,	transcrito procesado, miRNA
			ENST00000582824	
		rs140982339	ENST00000478296.5:c.-44G>A,	Proteína codificante,
			ENST00000491507.1:n.374G>A,	transcrito procesado, miRNA
			ENST00000582824	
	<i>ITIH1, ITIH3</i>	rs2286797	ENST00000467268.1:n.144G>A,	TFBS, intron retenido,
			ENSR00000152596, ENST00000273283,	transcrito procesado,
			ENST00000463893, ENST00000628722	proteína codificante
	<i>IQCJ-SCHIP1</i>	rs370189872	ENST00000476809.7:c.906+17G>A,	PFR, antisentido, transcrito
			ENSR00000161123	procesado, proteína
				codificante
	<i>ATP13A5,</i>	rs71314493	ENST00000342358.8:c.2678+18C>T,	Proteína codificante,
	<i>ATP13A5-AS1</i>		ENST00000495496.1:n.500+18C>T	transcrito procesado,
				antisentido
4	<i>FGFRL1[‡]</i>	rs4647931	ENST00000512174	lincRNA
	<i>SCLT1</i>	rs77885682	ENST00000439369.6:c.291-51983G>A,	Transcrito procesado,
			ENST00000502495.1:n.1165G>A,	proteína codificante, intron
			ENST00000506233.5:n.2634G>A,	retenido, pseudogen
			ENST00000612976	procesado
	<i>CBR4,</i>	rs147931542	ENST00000506808.1:c.*63A>G,	NMDTV, transcrito
	<i>RNY4P17</i>		ENST00000506933, ENST00000364948	procesado, antisentido,
				miscRNA
	<i>GAK</i>	rs142955360	ENST00000509566.1:n.1514G>A,	Transcrito procesado, intron
			ENST00000515868.5:n.2084G>A	retenido
5	<i>PRDM9</i>	rs6875787	ENSR00000314203, ENSR00000178848,	OCR, CTCF, proteína
			ENST00000635252	codificante

Continúa...

	<i>ITGA2</i>	rs1062535	ENST00000503810.6:c.*169G>A	NMDTV
	<i>EFNA5</i>	rs200187971	ENST00000333274.10:c.-27C>G, ENSR00000184916	Promotor, intron retenido, proteína codificante
	<i>PLEKHG4B</i>	rs114885385	ENST00000504041.1:n.1518C>T	Intron retenido
	<i>SLC9A3,</i> <i>SLC9A3-AS1</i>	rs117027344	ENST00000507407, ENST00000606288.1:n.92+28C>T	Intron retenido, antisentido
	<i>SLC6A18</i>	rs113861454	ENST00000513607.2:n.304G>A	Intron retenido
6	<i>CDYL</i>	rs11965336	ENST00000328908.9:c.187-20T>G, ENST00000483019	Proteína codificante, transcrito procesado
		rs11962921	ENST00000483019.1:n.699C>T, ENST00000440139	Transcrito procesado, proteína codificante,
	<i>CRYBG1</i>	rs141300996	ENST00000487681	Intron retenido
	<i>HIST1H2BB,</i> <i>HIST1H3C,</i> <i>HIST1H2APS5</i>	rs373836422	ENST00000615966, ENST00000612966, ENST00000454320	Proteína codificante, pseudogen no procesado
	<i>GRM4</i>	rs188910868	ENST00000609278.1:c.*684C>T, ENST00000545715.5:n.1001C>T, ENST00000609860.5:n.1922C>T	NMDTV, proteína codificante, intron retenido
	<i>PRICKLE4,</i> <i>USP49, FRS3,</i> <i>TOMM6</i>	rs145966346	ENST00000463606, ENST00000394253, ENST00000398884, ENST00000422888.5:c.-168+316T>C	Transcrito procesado, proteína codificante, NMDTV, intron retenido
	<i>C6orf201,</i> <i>ECI2</i>	rs35202579	ENST00000380120.6:c.*587C>T, ENST00000436110.1:n.744+1710G>A, ENST00000642280.1:n.615+1710G>A	NMDTV, transcrito procesado, intron retenido, proteína codificante, pseudogen
7	<i>EPDR1,</i> <i>SFRP4</i>	rs147877097	ENST00000447200.2:c.43+5705G, ENST00000476620.1:c.-37-27865, ENSR00000211064	Promotor, proteína codificante, variante intrónica
	<i>CYP51A1,</i> <i>LRRD1</i>	rs139500916	ENST00000435873.1:c.24+69C>T, ENST00000422722.1:n.667+8140C>T	Proteína codificante, transcrito procesado
	<i>RARRES2</i> <i>TMEM106B</i>	rs141728712	ENST00000223271.7:c.279+10G>C ENST00000420833.5:c.*287G>A, ENST00000444443	Proteína codificante NMDTV, proteína codificante

Continúa...

	<i>HECW1</i>	rs200912368	ENST00000429529.1:c.93-14990A>G,	Proteína codificante,
	<i>LUARIS</i>		ENST00000436105	antisentido
	<i>PMS2P3</i>	rs371522010	ENST00000529061	Pseudogen
	<i>ZMIZ2</i>	rs71548246	ENST00000463931.1:n.586G>A, ENST00000463056.5:n.1885G>A	Transcrito procesado, intron retenido
8	<i>ATP6V1B2</i>	rs116941637	ENST00000523482.5:n.15G>A, ENSR00000221892	Promotor, NMDTV, intron retenido, proteína codificante
	<i>EEF1D</i> ,	rs201733245	ENST00000524397, ENST00000495276,	NMDTV, proteína
	<i>PYCR3</i>		ENST00000531770, ENST00000530848	codificante, transcrito procesado, intron retenido
9	<i>NOTCH1</i> ,	rs11574872	ENST00000491649.1:n.442C>T,	PFR, miRNA, intron retenido
	<i>MIR4673</i>		ENSR00000243025, ENST00000584777	
	<i>RAPGEF1[†]</i>	rs554713394	ENSR00001467633, ENSR00001467634, ENST00000481260.1:n.1024C>T	PFR, CTCF, proteína codificante, transcrito procesado
	<i>ABCA2</i>	rs79966110	ENST00000459850.5:n.5560C>T, ENST00000487109.5:c.*2506C>T, ENSR00000243121	OCR, NMDTV, intron retenido, proteína codificante
	<i>RNF224</i>	rs116743582	ENSR00000243166, ENST00000445101	OCR, proteína codificante
	<i>PTPRD</i>	rs3824417	ENST00000397606.7:c.1793-604C>T, ENST00000471274.1:n.1040C>T	Proteína codificante, transcrito procesado
	<i>RPS6</i> ,	rs117840373	ENST00000498815, ENST00000361024,	Transcrito procesado,
	<i>DENND4C</i> ,		ENST00000449348, ENST00000609982	proteína codificante,
	<i>NDUFA5P3</i>			pseudogen, antisentido
	<i>SH3GLB2</i> ,	rs16930816	ENST00000455407.5:c.*377A>T,	NMDTV, intron retenido,
	<i>NUP188</i>		ENST00000461811.5:n.3816A>T, ENST00000372577	proteína codificante
	<i>CCDC183</i> ,	rs76153658	ENST00000479371.5:c.*579T>C,	NMDTV, transcrito
	<i>RABL6</i>		ENST00000415992.5:n.1916T>C, ENST00000496839.5:n.602T>C, ENST00000414656.1:n.291A>G	procesado, intron retenido, proteína codificante, antisentido
	<i>ODF2</i> , <i>ODF2-</i>	rs147844613	ENST00000448249.7:c.178-2039T>C,	Proteína codificante,
	<i>AS1</i>		ENST00000420801.1:n.95A>G	antisentido

Continúa...

10	<i>FAS</i>	rs2229521	ENST00000479522.5:c.197-2814A>G, ENST00000313771.9:n.531A>G, ENST00000371857.7:n.388A>G	NMDTV, transcrito procesado, intron retenido
11	<i>SF3B2,</i> <i>GAL3ST3</i>	rs11554199	ENSR0000040926, ENST00000524475, ENST00000312006, ENST00000529577	Promotor, proteína codificante, intron retenido, transcrito procesado
	<i>RPS3,</i> <i>SNORD15A,</i> <i>SNORD15B</i>	rs17879266	ENSR0000042130, ENST00000525690, ENST00000384214, ENST00000384714, ENST00000530170	Promotor, NMDTV, snoRNA, proteína codificante, transcrito procesado
	<i>CNIH2, YIF1A,</i> <i>TMEM151A</i>	rs148356112	ENST00000484814.1:c.*53+12A>G, ENST00000376899.8:n.597A>G, ENST00000327259	NMDTV, transcrito procesado, intron retenido, proteína codificante
	<i>RTN3</i>	rs139271709	ENST00000536011.5:c.143-30315A>G, ENST00000354497.4:c.143-30315A>G	NMDTV, intron retenido, proteína codificante
12	<i>ITGA7,</i> <i>BLOC1S1</i>	rs11171663	ENST00000557257.1:c.-108C>T, ENST00000553100	NMDTV, intron retenido, proteína codificante
	<i>KDM5A</i>	rs148769146	ENST00000540156, ENST00000544760	Intron retenido, proteína codificante
		rs144276601	ENST00000535269	Intron retenido
	<i>PFDN5,</i> <i>ESPL1</i>	rs192912818	ENST00000243040, ENST00000334478, ENST00000549154.1:n.3716-10C>T	NMDTV, proteína codificante, intron retenido
	<i>CACNA2D4</i>	rs201783863	ENST00000280663.12:n.1432G>T	Intron retenido
13	<i>NAXD</i>	rs9521879	ENST00000470164.2:n.411C>T, ENSR00000065876	OCR, transcrito procesado
14	<i>TTC6</i>	rs181566041	ENSR00000067783, ENST00000556845	PFR, proteína codificante
	<i>AKAP6</i>	rs200626326	ENST00000557272.1:c.3589-7799A>C	Proteína codificante
	<i>NAA30</i>	rs181080853	ENST00000554703.1:c.-4+763G>A, ENSR00000068993	Promotor, proteína codificante
	<i>SYNE2</i>	rs187183308	ENST00000557005.1:n.431A>G	Intron retenido
15	<i>APH1B</i>	rs61751105	ENST00000380340.8:c.*413G>A, ENST00000558631.1:n.483G>A, ENST00000560353.1:c.479-3153G>A	NMDTV, transcrito procesado, intron retenido, proteína codificante
	<i>THBS1, FSIP1</i>	rs2228262	ENST00000642527.1:c.*215-1403T>C, ENSR00000075372, ENST00000466755,	PFR, NMDTV, antisentido

Continúa...

	<i>MIR422A</i>	rs41277714	ENSR00000077852, ENST00000362286	Potenciador, miRNA
	<i>ADPGK,</i>	rs139418345	ENST00000311669.12:c.-16C>G,	Promotor, NMDTV,
	<i>ADPGK-AS1</i>		ENST00000563592.5:n.873G>C, ENSR00000079067	antisentido, intron retenido, transcrito procesado, proteína codificante
	<i>RASGRP1</i>	rs56241040	ENST00000414708.6:c.676-16G>T, ENST00000558432	NMDTV, proteína codificante
	<i>MCTP2</i>	rs199933047	ENST00000456504.5:c.*448A>G, ENST00000556363.5:n.1182A>C	NMDTV, intron retenido
16	<i>ITGAD</i>	rs182797885	ENST00000567308	Intron retenido
	<i>PDIA2,</i>	rs148442250	ENST00000462950.1:n.83G>A,	OCR, intron retenido,
	<i>ARHGDIG,</i>		ENSR00000082153, ENST00000219409,	transcrito procesado,
	<i>AXIN1</i>		ENST00000262320	proteína codificante
	<i>IFT140,</i>	rs138420849	ENST00000397417.6:c.*2736G>A,	TFBS, NMDTV, lincRNA,
	<i>TELO2</i>		ENSR00000082356, ENST00000497339, ENST00000566922	intron retenido, proteína codificante, transcrito procesado
	<i>PKD1[†],</i>	rs142888788	ENST00000415938.7:n.1775G>A,	OCR, NMDTV, miRNA,
	<i>MIR6511B1</i>		ENSR00000082439, ENST00000612014	intron retenido, proteína codificante, transcrito procesado
	<i>OR2C1</i>	rs75856110	ENSR00000279491	CTCF
	<i>ZFX3[‡]</i>	rs200992486	ENSR00000087760, ENST00000584072, ENST00000563328	PFR, miRNA, antisentido
	<i>ADCY9</i>	rs117823661	ENST00000571467.1:c.177-14059A>G, ENST00000294016.7:c.1694-11A>G	NMDTV, proteína codificante, transcrito procesado
	<i>DNAH3</i>	rs139076305	ENST00000396036.5:n.837G>A, ENST00000575491.1:n.833G>A	Intron retenido, transcrito procesado
	<i>LMF1</i>	rs138205062	ENST00000545827.6:c.*888C>T, ENST00000569516.5:n.2973C>T, ENST00000570168.1:n.140C>T	NMDTV, transcrito procesado, intron retenido, proteína codificante
	<i>MBTPS1</i>	rs150244031	ENST00000570012.1:c.-42+2965C>T, ENST00000564444	Proteína codificante, transcrito procesado

Continúa...

17	<i>MAP2K3</i>	rs55796947	ENST00000395491.6:c.*288C>T, ENST00000583508.1:n.588C>T	NMDTV, intron retenido, proteína codificante
	<i>SLC5A10,</i> <i>GRAP</i>	rs372985295	ENST00000317977.10:c.*1593G>A, ENST00000583020.1:c.*345C>T	OCR, NMDTV, proteína codificante
	<i>TBX21</i>	rs2240017	ENST00000581328.1:n.129C>G, ENSR00000095207	Promotor, intron retenido
	<i>TRIM37</i>	rs201513200	ENSR00000096323	OCR
	<i>BCAS3[‡]</i>	rs201061353	ENST00000585979.1:n.555G>A, ENST00000588604, ENST00000437246	Transcrito procesado, antisentido, pseudogen
	<i>EVPL[‡]</i>	rs202057945	ENST00000587569.1:n.329T>C	Intron retenido
	<i>FOXK2,</i> <i>WDR45B</i>	rs148665559	ENST00000574828.1:n.230G>A, ENSR00000099656, ENST00000574694	Promotor, NMDTV, transcrito procesado
	<i>GRIN2C</i>	rs201241904	ENST00000584176.1:n.5061A>G, ENST00000578159	Intron retenido, transcrito procesado
	<i>DNAH17</i>	rs186570138	ENST00000586052.5:n.2012C>A	Transcrito procesado
19	<i>CEACAM5[‡]</i>	rs998112305	ENST00000609311	Proteína codificante
	<i>SIGLEC16</i>	rs402630	ENSR00000110995, ENST00000599858	PFR, transcrito procesado
	<i>MYBPC2</i>	rs75197332	ENST00000357701.5:c.1749+17C>T	Proteína codificante
	<i>EMC10,</i> <i>FAM71E1</i>	rs185418641	ENST00000599206.1:c.172-12C>T, ENST00000595790.5:c.361-12C>T,	NMDTV, antisentido, intron retenido, NSD
	<i>U2AF2</i>	rs149002438	ENST00000592874, ENST00000589456	NMDTV, antisentido
20	<i>CTCF</i>	rs183111207	ENST00000423479.7:c.926-12G>A, ENST00000608108.1:n.252-12G>A	NMDTV, proteína codificante, transcrito procesado, intron retenido
21	<i>MRPS6</i>	rs35707420	ENST00000399312.2:c.45+22561G>A, ENST00000477091.5:n.198-6529G>A	Proteína codificante, transcrito procesado
22	<i>ANKRD54,</i> <i>EIF3L, MIR658</i>	rs182859563	ENSR00000146075, ENST00000215941, ENST00000385210, ENST00000434930	Promoter, miRNA, NMDTV, proteína codificante
	<i>GRK3</i>	rs200558027	ENST00000455558	NMDTV
X	<i>TLR8,</i> <i>TLR8-AS1</i>	rs3764880	ENST00000451564.1:n.119-456T>C, ENSR00000244520	PFR, antisentido
	<i>ZRSR2</i>	rs148608893	ENSR00000244784	OCR

*Variantes de exoma como promotor, potenciador, transcrito, antisentido, intron retenido, pseudogen, proteína codificante, microRNA (micro ácido ribonucleico,

RNA, por sus siglas en inglés, *RiboNucleic Acid*), RNA largo no-codificante (lincRNA, por sus siglas en inglés, *long intervening non-coding RNA*), RNA misceláneo (miscRNA, por sus siglas en inglés, *miscellaneous RNA*), RNA nucleolar pequeño (snoRNA, por sus siglas en inglés, *small nucleolar RNA*), región flanqueadora del promotor (PFR, por sus siglas en inglés, *Promoter Flanking Region*), variante de transcripción degenerativo sin sentido (NMDTV, por sus siglas en inglés, *Nonsense Mediated Decay Transcript Variant*), transcrito degenerativo con ausencia del codón de paro (NSD, por sus siglas en inglés, *Non Stop Decay Transcript*), región de cromatina abierta (OCR, por sus siglas en inglés, *Open Chromatin Region*), sitio de unión al factor de transcripción (TFBS, por sus siglas en inglés, *Transcription Factor Binding Site*), represor transcripcional CTCF o factor de transcripción CCCTC (por sus siglas en inglés, *CTCF or CCCTC-binding factor*) con efecto combinado por herramientas de predicción funcional (128); Nomenclatura de la Sociedad de Variación Genómica Humana (HGVS, por sus siglas en inglés, *Human Genome Variation Society*); †Genes y variantes genéticas identificadas entre ambos casos afectados con gastrosquisis y la madre.

6.6 Clasificación de genes y variantes genéticas de acuerdo a los modelos de herencia

SVS - PhoRank gene ranking (150) clasificó el modelo de herencia para todas las variantes genéticas (Anexo 9.5). Un modelo dominante fue identificado en las siguientes variantes genéticas: *OR10G4* (rs4474449, también como heterocigoto de novo), *ITIH3* (rs2286797), *PLEKHG4B* (rs114885385), *SLC9A3* (rs117027344), *ITGA2* (rs1062535), *AOX1* (rs3731722) y *ALPP* (rs13026692). Asimismo, *UGT1A7* (rs11692021), *UGT1A6* (rs6759892, rs2070959, rs1105879), *PER2* (rs934945), *PTPRD* (rs3824417) y *UGT1A3* (rs6431625) fueron identificadas en un modelo recesivo.

Por otra parte, se observó un modelo heterocigoto compuesto entre ambos casos afectados con gastrosquisis y la madre en las siguientes variantes genéticas: *CDYL* (rs11965336 y rs11962921), *KDM5A* (rs148769146 y rs144276601), *RASGRP1* (rs56241040, rs55704435 y rs56366451), *MYBPC2* (rs75197332 y rs187765595), *PDE4DIP* (rs61804988, rs144590426 y rs2762779), *F5* (rs6027 y rs1800595), *OBSCN* (rs75280352, rs185523702 y rs72762068) y Subfamilia *UGT1A* que involucra los genes *UGT1A3*, *UGT1A4*, *UGT1A5*, *UGT1A6*, *UGT1A7*, *UGT1A8*, *UGT1A9* y *UGT1A10* (rs11692021, rs6759892, rs1105879 genotipo homocigoto en el probando y rs6431625 genotipo homocigoto en la media hermana afectada).

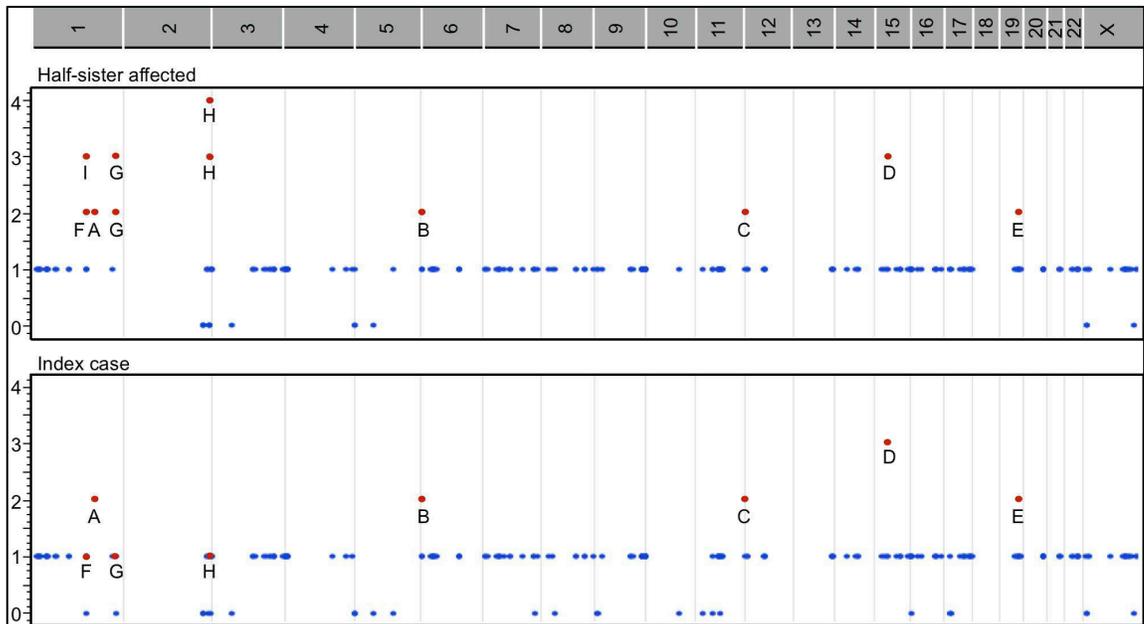


Figura 5. Regiones del modelo heterocigoto compuesto de las variantes genéticas identificados entre ambos casos afectados con gastrosquisis y la madre. F5 (A), CDYL (B), KDM5A (C), RASGRP1 (D), MYBPC2 (E), PDE4DIP (F), OBSCN (G), Subfamilia UGT1A (H) y región cromosómica 1:144146811-146467744 que incluye el gen PDE4DIP (I). Los puntos rojos indican las regiones heterocigotas más significantes. La escala vertical enlista el número de genotipos heterocigotos heredados de la madre. La escala horizontal describe las regiones cromosómicas involucradas.

6.7 Plausibilidad biológica e identificación de vías patogenéticas

Las bases de datos GO y el sistema de clasificación Panther (148), identificaron varios términos GO altamente enriquecidos dentro de genes co-segregantes en la familia con recurrencia por gastrosquisis.

TABLA 13

Representación de los términos GO enriquecidos dentro de genes co-segregantes en la familia con gastrosquisis recurrente

Categoría	Término GO	#	P (FDR)
PB	Glucoronidación de xenobióticos	8	7.99E-11
PB	Regulación negativa de actividad de glucuronosiltransferasa	7	1.42E-09
PB	Glucoronidación de flavonoides	8	2.26E-07
PB	Respuesta a hormonas	30	1.65E-04
PB	Respuesta a químicos	75	3.9E-04
PB	Regulación del proceso metabólico de ácidos grasos	9	7.61E-04
PB	Proceso metabólico de ácido retinoico	4	2.05E-02
CC	Componente integral de la membrana	70	4.95E-03
CC	Membrana	75	5.55E-03
CC	Reticulo endoplásmico	23	8.92E-03
CC	Citoplasma	102	2.18E-02
FM	Actividad de glucuronosiltransferasa	8	1.58E-06
FM	Unión a retinoides	5	7.67E-03
FM	Actividad del transportador transmembrana	12	1.27E-02
VK	Metabolismo de drogas – otras enzimas	9	1.32E-08
VK	Interconversiones de pentosa y glucuronato	8	2.83E-08
VK	Metabolismo de retinol	9	1.1E-07
VK	Biosíntesis de hormonas esteroideas	8	5.85E-07
VK	Metabolismo de xenobióticos por citocromo P450	8	3.45E-06

PB, proceso biológico; CC, componente celular; FM, función molecular; VK, Vía KEGG (por sus siglas en inglés, *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*).

Los procesos biológicos funcionales relacionados con la glucoronidación de xenobióticos, regulación negativa de la actividad de glucuronosiltransferasa y glucoronidación de flavonoides fueron los términos mayormente enriquecidos (Subfamilia *UGT1A*, *P* FDR 7.99E-11, 1.42E-09 y 2.26E-07 respectivamente).

El análisis del componente celular GO también reveló que el componente integral de la membrana fue la categoría funcional más significativa (*UGT1A3*, *UGT1A4*, *UGT1A5*, *UGT1A6*, *UGT1A7*, *UGT1A8*, *UGT1A9*, *UGT1A10*, *AOX1*, *NAA30*, *OMA1*, *DPYD*, *PDIA2*, *ALPP*, *CDYL*, *ADPGK*, *KDM5A*, *PRDM9*, *ZFHX3*, *BCAS3*, *NOTCH1*, *TELO2*, *PLEKHG4B*, *SPATA17*, *LRP5*, *AXIN1*, *PKD1*, *SLC9A3*, *GAL3ST3*, *RASGRP1*, *AKAP6*, *HIST1H2BB*, *EIF3L*, *RPS3*, *RPS6*, *MRPS6*, *INPP5B*, *IRS1*, *FGFR4*, *FGFRL1*, *EFNA5*, *ATP13A5*, *TBX21*, *TLR8*, *ADCY9*, *GRM4*, *GRIN2C*, *OR13F1*, *OR10G4*, *OR4C3*, *OR2C1*, *F5*, *THBS1*, *MAP2K3*, *RTN3*, *EVPL*, *KLK14*, *ITGA7*, *ITGA2B*, *ITGA2*, *ITGAD*, *CTCFL* y *RABL6*, *P* FDR 4.95E-03).

La función molecular resultó principalmente enriquecida en la actividad de la glucuronosiltransferasa (Subfamilia *UGT1A*, *P* FDR 1.58E-06), mientras que el análisis de la vía KEGG identificó metabolismo de fármacos - otras enzimas y las interconversiones de pentosa y glucuronato como las categorías funcionales más significativas (Subfamilia *UGT1A* y *AOX1*, *P* FDR 1.32E-08 y 2.83E-08).

El análisis de IPP mediante la plataforma bioinformática STRING (149) identificó quince genes representados por *UGT1A3*, *UGT1A4*, *UGT1A5*, *UGT1A6*, *UGT1A7*, *UGT1A8*, *UGT1A9*, *UGT1A10*, *AOX1*, *NOTCH1*, *HIST1H2BB*, *RPS3*, *THBS1*, *ADCY9* y *FGFR4*, que mostraron una alta conectividad entre sí y con otros genes a través del interactoma.

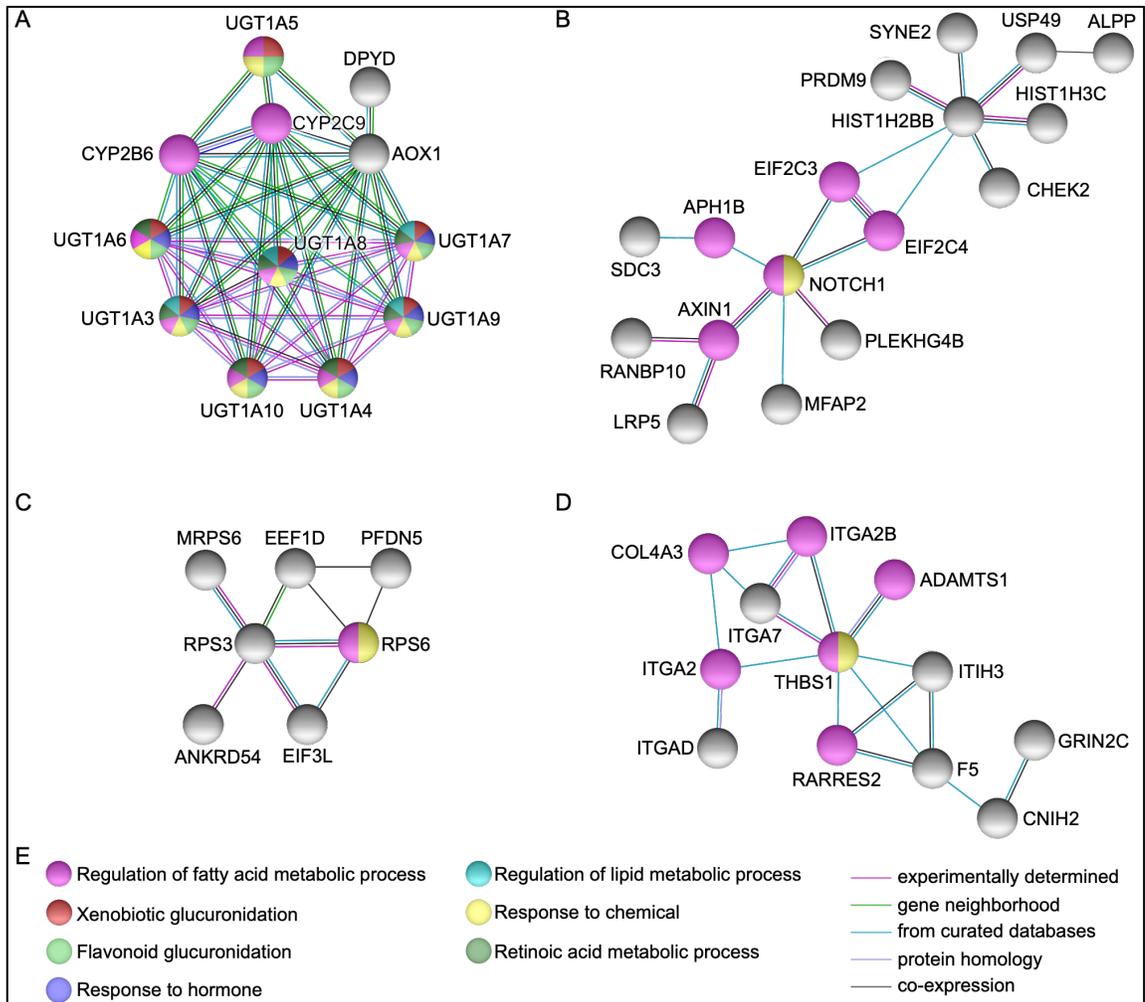


Figura 6. Modelado de redes a partir de interacciones proteína-proteína.

Las figuras (A-D) muestran una alta conectividad e IPP directas a través del interactoma en los genes *UGT1A3*, *UGT1A4*, *UGT1A5*, *UGT1A6*, *UGT1A7*, *UGT1A8*, *UGT1A9*, *UGT1A10*, *AOX1*, *NOTCH1*, *HIST1H2BB*, *RPS3* y *THBS1*. La figura (E) representa los procesos biológicos identificados en las redes.

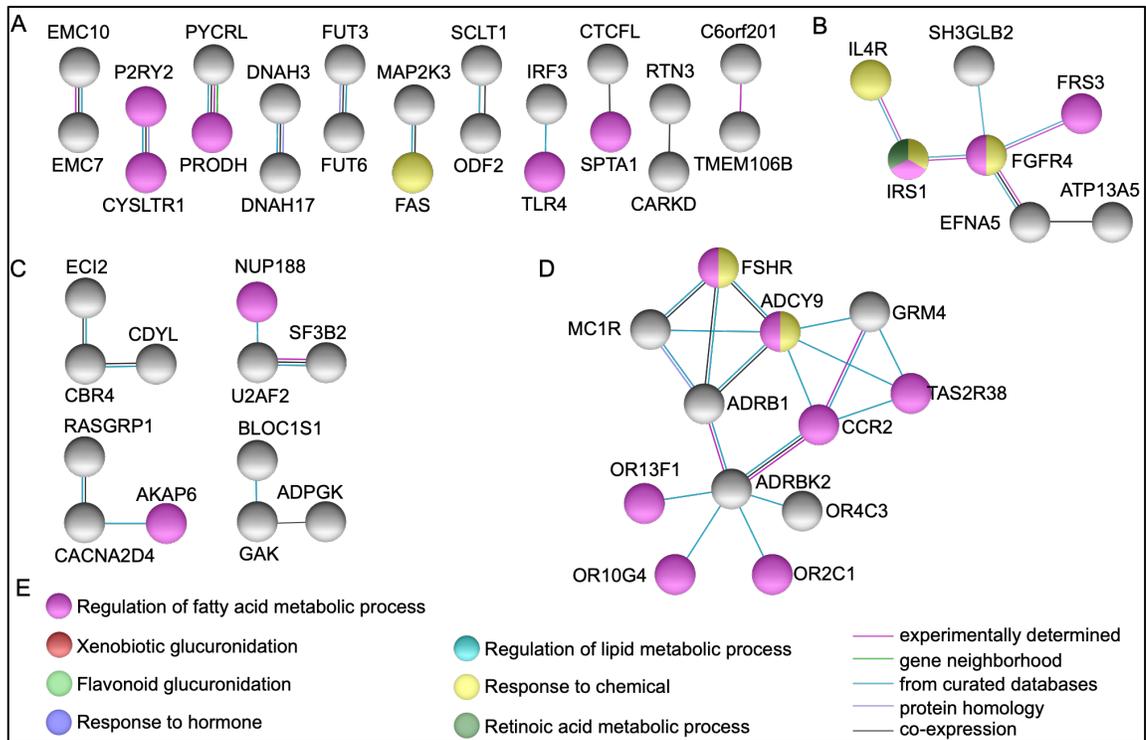


Figura 7. Modelado de redes a partir de interacciones proteína-proteína.

Las figuras (A y C) muestran múltiples diadas y triadas con IPP directa. Las figuras (B y D) muestran una alta conectividad e IPP directas a través del interactoma en los genes *ADCY9* y *FGFR4*. La figura (E) representa los procesos biológicos identificados en las redes.

De acuerdo a la plataforma bioinformática ToppGene Suite (123), se identificaron once vías patogenéticas mediante curado manual basado en las categorías GO entre genes seleccionados co-segregantes en la familia con gastrosquisis recurrente.

TABLA 14

Vías patogenéticas a partir de categorías funcionales GO entre genes seleccionados co-segregantes en la familia con gastrosquisis recurrente*

Vía patogenética	Términos GO	Genes involucrados
Xenobiótico	Glucuronidación de xenobióticos y flavonoides, metabolismo de retinol, regulación negativa del metabolismo del ácido graso, metabolismo de fármacos, biosíntesis de hormonas esteroideas, regulación negativa del metabolismo de los carbohidratos, respuesta celular al estímulo xenobiótico, carcinogénesis química, regulación negativa del metabolismo lipídico, proceso metabólico hormonal celular	<i>UGT1A4, UGT1A3, UGT1A10, UGT1A8, UGT1A7, UGT1A6, UGT1A5, AOX1, UGT1A9</i>
Regulación de procesos metabólicos	Regulación negativa de la actividad catalítica, regulación negativa de la función molecular, regulación de la actividad transferasa, proceso metabólico del ácido carboxílico, respuesta al factor de crecimiento, regulación de la actividad hidrolasa, respuesta al estímulo endógeno, detección del estímulo, regulación del proceso de modificación de proteínas, biosíntesis de folatos	<i>UGT1A4, UGT1A3, PLEKHG4B, COL6A3, RASGRP1, HHIP, THBS1, ADCY9, PER2, KDM5A, SLC9A3, BCAS3, OR2C1, OR4C3, RPS3, OR13F1, OBSCN, UGT1A10, UGT1A8, UGT1A7, UGT1A6, PKD1, UGT1A9, RAPGEF1, FGFR1, ZFH3, MAP2K3, FGFR4, ITGA2, TLR8, OR10G4, ITIH3, NOTCH1, ALPP, PLOD1</i>
Regulación de adhesión celular	Adhesión del sustrato celular, adhesión celular, regulación del ensamblaje de la unión celular, regulación negativa de <i>anoikis</i> , morfogénesis y desarrollo del epitelio, adhesión celular-célula a través de moléculas de adhesión de membrana plasmática, adhesión focal, cicatrización	<i>COL6A3, RASGRP1, THBS1, CEACAM5, PTPRD, BCAS3, HHIP, PKD1, RAPGEF1, FGFR1, ITGA2, F5, KLK14, EVPL, FGFR4, PLOD1, NOTCH1, MYBPC2</i>

Continúa...

Regulación de expresión génica	Regulación circadiana de la expresión génica, biología del desarrollo, proceso reproductivo de múltiples organismos, regulación negativa de la transcripción con plantilla de ácido nucleico	<i>PER2, ZNF717, KDM5A, ZFHX3, COL6A3, RASGRP1, KLK14, HIST1H2BB, CDYL, EVPL, FGFR4, ITGA2, NOTCH1</i>
Respuesta inflamatoria	Vía de señalización de receptores <i>Toll</i> , respuesta inflamatoria, regulación del proceso biosintético de citoquinas	<i>UBE2NL, MAP2K3, TLR8, RASGRP1, THBS1, AOX1, ITGA2, NOTCH1</i>
Regulación del desarrollo vascular	Desarrollo del sistema circulatorio, desarrollo de vasos sanguíneos, hemostasis, coagulación sanguínea	<i>HHIP, RASGRP1, THBS1, CEACAM5, ITGA2, F5, ITIH3, BCAS3, SGCD, PKD1, RAPGEF1, FGFR1, NOTCH1</i>
Queratinización	Formación de la envoltura cornificante	<i>KLK14, EVPL</i>
Simetría izquierda/derecha	Especificación del axis izquierda/derecha	<i>NOTCH1</i>
Epigenética	Modificación de histonas, organización de cromatina, metilación de DNA	<i>PER2, KDM5A, HIST1H2BB, CDYL</i>
Ubiquitinación	Ubiquitinación de proteínas	<i>UBE2NL, PER2, RPS3</i>
Regulación de síntesis proteínas	Complejo/andamiaje que contiene proteínas	<i>RASGRP1, RPS3, PDE4DIP, FGFR1, HIST1H2BB, F5</i>

*Vías patogénicas curadas manualmente basadas en categorías funcionales GO relacionadas de acuerdo con ToppGene (123) entre genes seleccionados co-segregantes en la familia con gastrosquisis recurrente (*SPATA17, PDE4DIP, CFAP65, ALPP, ZNF717, OR4C3, MAP2K3, TLR8, UBE2NL, COL6A3, FGFR1, HHIP, SGCD, RAPGEF1, PKD1, ZFHX3, BCAS3, EVPL, CEACAM5, KLK14, PLOD1, UGT1A3, UGT1A4, UGT1A5, UGT1A6, UGT1A7, UGT1A8, UGT1A9, UGT1A10, AOX1, NOTCH1, HIST1H2BB, RPS3, THBS1, ADCY9, FGFR4, OR10G4, OR2C1, OR13F1, ITIH3, PLEKHG4B, SLC9A3, ITGA2, PER2, PTPRD, CDYL, KDM5A, RASGRP1, MYBPC2, F5, and OBSCN*). No se identificaron categorías GO para los genes *SPATA17* y *CFAP65*.

CAPÍTULO VII: Discusión

La presente investigación es el primer estudio sobre el papel de los genes y las variantes genéticas en la recurrencia familiar de la gastrosquisis. La aplicación de NGS a través de un enfoque basado en la familia, resultó una modalidad útil para identificar variaciones de DNA con un probable efecto de alteración génica que se segrega con la gastrosquisis en esta familia Mexicana mediante WES como un sistema modelo. Los dos casos afectados en esta familia podrían sugerir un origen monogénico de la gastrosquisis; sin embargo, no se identificó ninguna variante disruptiva génica. Con un análisis posterior, identificamos un conjunto de variantes no sinónimas, codificantes y de baja frecuencia que se segrega dentro de la familia y probablemente podrían vincularse con este caso de gastrosquisis familiar (Tablas 10, 11 y 12).

Asimismo, al emplear un análisis bioinformático integral de genes y variantes genéticas candidatas co-segregantes con gastrosquisis, se exploraron posibles vías implicadas en el cierre de la pared corporal. Nuestros hallazgos demuestran que varias categorías funcionales GO mostraron plausibilidad (Tabla 13, Figuras 6 y 7), mientras que nuevas variantes genéticas candidatas dentro de los modelos dominante, recesivo y heterocigoto compuesto (Figura 5) posiblemente fueron subyacentes a la gastrosquisis. También caracterizamos diversas vías patogenéticas novedosas que pueden tener consecuencias

significativas para el cierre de la pared del cuerpo ventral en la gastrosquisis (Tabla 14) (166).

7.1 Modelo multigénico/multifactorial en gastrosquisis

La búsqueda de las variantes genéticas que proporcionan la integración de un asesoramiento genético preciso o la predicción de enfermedad individual para desarrollar la gastrosquisis es un reto (62,65). En el presente estudio, nos centramos en dos medias hermanas afectadas con gastrosquisis confirmada como un defecto aislado. Otras características relacionadas a estos casos incluyeron la edad materna joven con un bajo índice de masa corporal pregestacional, atención preconcepcional irregular, infecciones genitourinarias, cambio en la paternidad, así como exposición potencial como la ingesta de alcohol y el tabaquismo en los padres. Con certeza, el mecanismo subyacente para gastrosquisis es complejo e involucra varios genes que interactúan funcionalmente para los cuales todos los posibles factores genéticos y no genéticos que contribuyen a este defecto deben considerarse (Tablas 10, 11 y 12) (166). En este sentido, los múltiples factores e interacciones genéticas identificadas, en particular, las variantes modificadoras de fondo (Tabla 12) pueden agravar o enmascarar el fenotipo esperado mediante mutaciones de ganancia o pérdida en genes involucrados en funciones celulares relacionadas (167). En consecuencia, la genética de los trastornos complejos es significativa, considerando que incluso las fluctuaciones menores en un número modesto de genes o vías genéticas con células relevantes para la enfermedad, así como

sus reguladores directos pueden contribuir a la susceptibilidad de la enfermedad, como se describe en la hipótesis "omnigénica" (168).

Hasta el 31 de agosto de 2018, el análisis bioinformático indicó que múltiples genes podrían ser candidatos potenciales para futuros estudios como los observados con un alto impacto (*SPATA17*, *PDE4DIP*, *CFAP65*, *ALPP*, *ZNF717*, *OR4C3*, *MAP2K3*, *TLR8*, *UBE2NL*), los identificados entre ambos casos afectados con gastrosquisis y la madre (*COL6A3*, *FGFRL1*, *HHIP*, *SGCD*, *RAPGEF1*, *PKD1*, *ZFHX3*, *BCAS3*, *EVPL*, *CEACAM5*, *KLK14*, *PLOD1*), así como aquellos con un enriquecimiento funcional altamente significativo, alta conectividad e IPP directa y la puntuación más alta para los modelos dominante, recesivo y heterocigoto compuesto (*UGT1A3*, *UGT1A4*, *UGT1A5*, *UGT1A6*, *UGT1A7*, *UGT1A8*, *UGT1A9*, *UGT1A10*, *AOX1*, *NOTCH1*, *HIST1H2BB*, *RPS3*, *THBS1*, *ADCY9*, *FGFR4*, *OR10G4*, *ITIH3*, *PLEKHG4B*, *SLC9A3*, *ITGA2*, *ALPP*, *PER2*, *PTPRD*, *CDYL*, *KDM5A*, *RASGRP1*, *MYBPC2*, *PDE4DIP*, *F5*, *OBSCN*). Por lo tanto, nuestros hallazgos indican que una interacción compleja entre varios genes que interactúan funcionalmente (junto con factores no genéticos) pueden ser elementos precipitantes en el desarrollo de la gastrosquisis (166).

Lo anterior resalta varias de las limitaciones de este estudio. Primero, en ausencia de evidencia funcional de las variantes genéticas identificadas resultantes del WES, los hallazgos de algoritmos de predicción solo pueden tomarse como evidencia sugestiva. En segundo lugar, se minimizó la falta de evaluación de la función de otros tipos de variación genética, como las variantes estructurales o número de copias, ya que los criterios para la evaluación del

WES se basaron en una familia sin evidencia de anomalías congénitas múltiples o un síndrome. En tercer lugar, dado que no se identificó ninguna variante disruptiva génica ni en el WES basado en trío ni en el WES de la media hermana afectada, lo que sugeriría una influencia monogénica, se consideró un enfoque multifactorial a pesar de la investigación limitada con respecto a las interacciones gen-gen o gen-ambiente en la susceptibilidad de gastrosquisis. Finalmente, las muestras objetivo validadas de dos tecnologías de secuenciación diferentes también podrían afectar nuestros hallazgos. La cobertura de la profundidad de WES dentro de la familia en 10x fue del 98,60% y el 97,26% de las tecnologías de *Nextera* y *Agilent* respectivamente (Tabla 9), lo que concuerda con un estudio anterior que indica que no hay una diferencia significativa en la eficiencia de la cobertura entre estas tecnologías y por lo tanto, ofrece una alta reproducibilidad técnica (169).

7.2 Nuevos genes candidatos y vías patogénicas para gastrosquisis

Dada la escasez actual de conocimientos con respecto a los genes en humanos que influyen en el desarrollo normal o con una implicación causal significativa en la gastrosquisis, un papel directo del efecto de los genes y las variantes de genéticas identificadas por la WES no es familiar. Sin embargo, se identificaron influencias genéticas significativas que muestran plausibilidad dentro de las vías biológicas y las categorías funcionales GO posiblemente relacionadas con la gastrosquisis.

Con respecto a los genes de alto impacto, *PDE4DIP* (por sus siglas en inglés, *Phosphodiesterase 4D Interacting Protein*) (1q21.2), funciona como un componente de ancla de la vía dependiente de adenosín monofosfato cíclico (AMPC) hacia la región de Golgi y el centrosoma de la célula, las alteraciones génicas en *PDE4DIP* esta asociada a la cardiomiopatía, el cáncer de peritoneo y el pineoblastoma (151,170-172). Sus anotaciones GO incluyen la unión de proteínas y enzimas y la actividad de andamiaje (complejo) que contiene proteínas; reguladores cruciales de la transducción de señales y la reacción a un área específica de la célula (151). Estudios sobre el ortólogo *Pde4dip* indican expresión en los sistemas nervioso central y cardiovascular en el día 14.5 (etapa de Carnegie); correspondiente a la quinta SDG en humanos (semanas a partir de la fertilización) (173).

SPATA17 (por sus siglas en inglés, *Spermatogenesis Associated 17*) (1q41) ha sido sugerido con implicaciones significantes en la apoptosis de células espermatogénicas en ratones y en la espermatogénesis humana con paro meiótico (174,175). Además, el gen *PRDM9* (por sus siglas en inglés, *PR/SET domain 9*) (5p14.2) también podría desempeñar un papel importante en la espermatogénesis humana, sin embargo, su relación con el defecto sigue siendo desconocida (176). El gen *SPATA17* esta asociado con ictiosis congénita autosómica recesiva, síndrome de Usher y síndrome de Loeys-Dietz (128). Además, es un miembro de la familia de proteínas de unión a la calmodulina, donde típicamente dos dominios de la calmodulina se envuelven alrededor de un dominio de unión a la calmodulina helicoidal emergente de una variedad de proteínas diana como ácidos grasos, hormonas, elementos

metálicos, vitaminas y pigmentos (151). La expresión del ortólogo *Spata17* ha sido identificada en el cerebro en los días 15.5 y 18.5 (sexta y séptima SDG) (177).

CFAP65 (por sus siglas en inglés, *Cilia and Flagella Associated Protein 65*) (2q35) desempeña una función en la motilidad de los espermatozoides, ya que la alteración de *CCDC108* puede provocar este defecto (178). Además, el análisis de expresión tisular de *Ccdc108* se vinculó como una proteína codificada por cilios y flagelos. El gen *CROCC* (por sus siglas en inglés, *Ciliary Rootlet Coiled-Coil Rootletin*) (1p36.13) es un componente principal de las raicillas ciliares que se extienden basalmente desde los cuerpos basales de los cilios ubicados en los botones dendríticos de las neuronas sensoriales olfativas y se extienden hacia el núcleo celular (151,179). No se han asociado trastornos con estos genes, sin embargo, se debe tener en cuenta que estos genes podrían estar involucrados en varios procesos ciliares, incluido el patrón embrionario de izquierda-derecha. En consecuencia, el ortólogo *Cfap65* se expresó en embrión en los días 7.5-8 (tercer SDG) (180).

ALPP (por sus siglas en inglés, *Alkaline Phosphatase Placental*) (2q37.1) es una metaloenzima que cataliza la hidrólisis de los monoésteres de ácido fosfórico. Este gen está asociado a hipofosfatasa así como diversos trastornos y se expresa principalmente en el tejido placentario. Las categorías funcionales GO incluyen la biosíntesis de folato, la tiamina, la piridoxina y el metabolismo de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD), así como las vías de diferenciación de células madre pluripotentes embrionarias e inducidas y los marcadores específicos del linaje, la actividad de la fosfatasa alcalina y la unión a proteínas

(151). El ortólogo *Alpi* se encontró expresado en el intestino y el estómago desde los días 15 a 18 (quinta a séptima SDG) (181).

ZNF717 (por sus siglas en inglés, *Zinc Finger Protein 717*) (3p12.3) pertenece a un gran grupo de reguladores de la transcripción en mamíferos que participan en anotaciones GO como la expresión de genes, la actividad del factor de transcripción de unión al DNA, la actividad del factor de transcripción al RNA polimerasa II y la unión a iones metálicos. Hasta la fecha, no se han asociado trastornos con el gen *ZNF717* (151). La expresión del ortólogo *Zfp39*, se ha identificado en el mesénquima embrionario y en el sistema nervioso central entre los días 10.5 y 13.5 (cuarta SDG) (182).

OR4C3 (por sus siglas en inglés, *Olfactory Receptor family 4 subfamily C member 3*) (11p11.2) junto con *OR10G4* (por sus siglas en inglés, *Olfactory Receptor family 10 subfamily G member 4*) (11q24.2), *OR2C1* (por sus siglas en inglés, *Olfactory Receptor family 2 subfamily C member 1*) (16p13.3) y *OR13F1* (por sus siglas en inglés, *Olfactory Receptor family 13 subfamily F member 1*) (9q31.1) son miembros de una gran familia de receptores acoplados a la proteína G (GPCR, por sus siglas en inglés, *G Protein-Coupled Receptors*) involucrados en anotaciones GO tales como GPCR y actividades de receptores de señalización de transmembrana y olfativas. No se han asociado trastornos con estos genes (151). Estos receptores olfativos son responsables de la co-regulación en respuesta a los productos químicos, drogas y medicamentos (128,151). El ortólogo *Olf140* se expresó en epitelio olfativo a los 14.5 días (quinta SDG) (183).

MAP2K3 (por sus siglas en inglés, *Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase 3*) (17p11.2) es una quinasa (serina/treonina) dirigida a la prolina que induce la fosforilación y activación de los factores de transcripción y la regulación de la expresión génica en respuesta mitogénica (citoquinas) y estrés ambiental en vivo (184). Las quinasas son sistemas de señalización altamente organizados controlados por proteínas de andamiaje que traducen señales extracelulares en una variedad de respuestas intracelulares como la mitosis, el metabolismo, la motilidad, la supervivencia, la apoptosis, la proliferación celular y la diferenciación. El gen *MAP2K3* está asociado con malformaciones cavernosas cerebrales y sus anotaciones GO incluyen la adhesión focal, la vía de señalización del receptor tipo *toll*, la unión a nucleótidos, la actividad de la proteína tirosina quinasa y la actividad de la transferasa (151). El ortólogo *Map2K3* se expresó desde etapas embrionarias hasta el blastocisto (días 1-4, primer SDG) (185), así como en los vasos sanguíneos, los sistemas cardiovascular, nervioso central y periférico, la piel y el cabello en el día 14.5 (quinta SDG) (173).

TLR8 (por sus siglas en inglés, *Toll Like Receptor 8*) (Xp22.2) desempeña un papel fundamental en el reconocimiento de patógenos y la activación de la inmunidad innata. Participa en anotaciones GO que incluyen MAPK y vías de señalización de receptores tipo *toll*, la unión a fármacos, actividad del receptor de señalización transmembrana, la unión a RNA y DNA. El gen *TLR8* está asociado a carcinoma basocelular superficial y enfermedad infecciosa viral (151). La variante genética (rs3764880) está relacionada con la susceptibilidad en la respuesta inflamatoria y el metabolismo de los lípidos implicado en el ictus

isquémico (186), así como con la activación del *TLR8* inducida por el virus de Epstein-Barr y la respuesta inmune innata en pacientes con esclerosis sistémica (187). Dicha influencia genética probablemente esté involucrada en la respuesta inmune e inflamatoria que interactúa con exposiciones tóxicas e infecciones genitourinarias o de transmisión sexual, incluido el virus de Epstein-Barr y el riesgo de gastrosquisis (188). El ortólogo *Tlr8* fue detectado en el hígado y el cerebro en los días 15.5 y 17.5 (sexta y séptima SDG) (177,189).

UBE2NL (por sus siglas en inglés, *Ubiquitin Conjugating Enzyme E2 N Like Gene/Pseudogene*) (Xq27.3) es un miembro del gen codificador de proteínas de la familia de enzimas conjugadoras de ubiquitina. Hasta la fecha, ningún trastorno se ha asociado con el gen *UBE2NL* y se expresa principalmente en el cerebro, el corazón y la piel. Sus anotaciones GO incluyen la proteólisis mediada por ubiquitina, la ubiquitilación de proteínas, la unión y actividad de ubiquitina proteína ligasa (128,151).

En relación a los genes de impacto moderado, *COL6A3* (por sus siglas en inglés, *Collagen type VI Alpha 3 chain*) (2q37.3) está asociado a miopatía Bethlem y distrofia muscular congénita Ullrich. Entre sus anotaciones GO incluyen la trimerización de la cadena de colágeno, vías de señalización de la integrina, señalización regulada por quinasas extracelulares (ERK, por sus siglas en inglés, *Extracellular signal-Regulated Kinases*), fosfatidilinositol-3-quinasa-proteína quinasa B (PI3K-Akt, por sus siglas en inglés, *Phosphatidylinositol 3-Kinase-Protein Kinase B*) y fosfolipasa-C, adhesión focal, receptores de membrana y matriz extracelular (MEC) miRNA, actividad inhibidora de la endopeptidasa de tipo serina y la unión a proteínas. El colágeno

VI desempeña un papel crítico en la organización de los componentes de la MEC que actúa como una proteína de unión celular (151). La expresión de *Col6a3* ha sido detectada de los días 12.5 a 14.5 (cuarta a quinta SDG) en el mesodermo del saco vitelino, el mesénquima sub-epidérmico y otros tejidos. La producción de la cadena *Col6a3* puede tener un control pivote en la regulación del ensamblaje de la MEC durante el desarrollo, así como el control transcripcional durante la embriogénesis, lo que contribuye a las propiedades de tracción del colágeno, como un componente principal de la dermis fetal y adulta (190).

FGFRL1 (por sus siglas en inglés, *Fibroblast Growth Factor Receptor Like 1*) (4p16.3) está asociado a la delección del cromosoma 4p (síndrome de Wolf-Hirschhorn). Sus anotaciones GO incluyen la regulación negativa de la señalización de *FGFR1*, las vías de señalización de factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF, por sus siglas en inglés, *Vascular Endothelial Growth Factor*) / MAPK / diana de rapamicina en células de mamífero (mTOR, por sus siglas en inglés, *mammalian Target of Rapamycin*) / GPCR, la actividad del receptor activado por el FGF y la unión a heparina. Los FGFR potencialmente pueden inhibir la señalización e influenciar la mitogénesis y la diferenciación celular (151). Una expresión prominente de *Fgfr1* fue detectada desde los días 14.5 a 18.5 (quinta a séptima SDG) en el músculo del diafragma, los músculos intercostales y la lengua (183,191).

HHIP (por sus siglas en inglés, *Hedgehog Interacting Protein*) (4q31.21) está asociado a condrodisplasia tipo Blomstrand y Jansen, holoprosencefalia y carcinoma de células basales. Sus anotaciones GO incluyen señalización por

Hedgehog, proteínas sin alas/integrado (Wnt, por sus siglas en inglés, *Wingless/Integrated*) y AMPc, la unión de proteínas y la unión a iones de zinc (151). Las mutaciones en los morfógenos *Shh* (por sus siglas en inglés, *Sonic hedgehog*) están asociadas a defectos graves en el patrón y el control del crecimiento, ya que contribuye a la regulación global de la simetría anterior-posterior, dorsal-ventral, izquierda-derecha y proximal-distal. La expresión de *HIP* ha sido identificada abundantemente en células endoteliales vasculares, lo que promueve la angiogénesis (192). En este contexto, la actividad proangiogénica de *Shh* se ha identificado como un requisito para la angiogénesis del saco vitelino embrionario (cuarta a quinta SDG) (193). Este último incluye una expresión disminuida de *Flt1* (por sus siglas en inglés, *Fms Related Tyrosine Kinase 1*), involucrada en varios procesos biológicos esenciales como la angiogénesis, la migración y diferenciación celular, así como la morfogénesis embrionaria y recientemente propuesto como gen candidato para la gastrosquisis (62).

SGCD (por sus siglas en inglés, *Sarcoglycan Delta*) (5q33.2-q33.3) esta asociado con cardiomiopatía dilatada así como con diversos trastornos. Sus anotaciones GO incluyen la miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho, la miocardiopatía dilatada y la unión a proteínas. Los sarcoglicanos son un grupo complejo de proteínas transmembrana que se expresan principalmente en el músculo esquelético que une el citoesqueleto de actina F y la MEC (151). Basado en un modelo de ratón experimental, se encontró que la integridad del complejo de sarcoglicanos es dependiente de los sarcoglicanos beta y delta (núcleo funcional). En consecuencia, las mutaciones en el

sarcoglicano beta o en el delta podría tener un efecto significativo en el complejo del sarcoglicano, incluidos sus trastornos relacionados (194). El ortólogo *Sgcd* se expresó en el cerebro en los días 15.5 y 18.5 (sexta y séptima SDG) (177).

RAPGEF1 (por sus siglas en inglés, *Rap Guanine Nucleotide Exchange Factor 1*) (9q34.13) activa a diversos miembros de la familia Ras/GTPasas (proteína G monomérica unida al guanosín trifosfato) considerados interruptores moleculares esenciales en el crecimiento, diferenciación, supervivencia y adhesión de células eucariotas. Hasta la fecha, ningún trastorno se ha relacionado con este gen. *RAPGEF1* desempeña una función en el establecimiento de la barrera endotelial basal, así como el crecimiento de neuritas. Sus anotaciones GO incluyen la señalización *RET* (por sus siglas en inglés, *Rearranged during Transfection*), promoción de la motilidad celular mediante el gen *MET* (por sus siglas en inglés, *Tyrosine-Protein Kinase Met*), la adhesión focal, la señalización del factor de crecimiento de hepatocitos (HGF, por sus siglas en inglés, *Hepatocyte Growth Factor*), la señalización de la familia de las cadenas gamma del receptor de citocinas, la actividad del factor de intercambio de guanilo-*Rap*, la unión al dominio SH3 y la unión a proteínas (128,151). La activación de *Rapgef1* ha demostrado ser necesaria para la adhesión y la propagación de los fibroblastos embrionarios y la embriogénesis temprana, ya que parece ser la base de la letalidad en ratones antes del día 7.5 (tercer SDG) (195). El análisis de expresión de *Rapgef1* fue identificado en el sistema cardiovascular, el embrión y el vaso sanguíneo desde los días 10.5 a 12.5 (cuarta SDG) (196).

PKD1 (por sus siglas en inglés, *Polycystin 1*) (16p13.3) está asociado con la enfermedad renal poliquística con o sin enfermedad hepática poliquística, así como con diversos trastornos. Sus anotaciones GO incluyen el tráfico de carga a la membrana periciliar, la biogénesis y el mantenimiento de los orgánulos, el mapa de interacción simplificado entre LOXL4 (por sus siglas en inglés, *Lysyl Oxidase Like 4*) y la vía del estrés oxidativo, la unión específica a proteínas y la unión a proteína quinasa. Esta proteína de membrana integral actúa como un regulador de la señalización WNT moduladora de la longitud del cilio durante la tubulogénesis renal. También está involucrado en las interacciones célula-MEC, además de la unión y activación de proteínas G heteroméricas requeridas para la integridad estructural de los vasos sanguíneos (151). La expresión del ortólogo *Pkd1* mostró una condensación temprana predominante del mesodermo primitivo y el ectodermo en los días 12.5 a 18.5 (cuarta a séptima SDG). Además, este experimento demostró un patrón temporal de tejido específico de la expresión de *Pkd1* en el arco aórtico y la aorta torácica en los días 12.5 y 16.5 respectivamente (cuarta y sexta SDG respectivamente) (197). Asimismo, los ortólogos *Pkd1* y *Pkd2* (por sus siglas en inglés, *Polycystin 2*) han sido implicados en la regulación de la morfogénesis placentaria y la integridad vascular (por ejemplo, el reclutamiento de pericitos) (198).

ZFH3 (por sus siglas en inglés, *Zinc Finger Homeobox 3*) (16q22.2-q22.3) está asociado con cáncer de próstata y fibrilación auricular. Sus anotaciones GO incluyen las vías de señalización que regulan las células madre pluripotenciales, la red reguladora de la transcripción en las células madre embrionarias, los genes relacionados con el ritmo circadiano, actividad de factor

de transcripción RNA polimerasa II con unión específico al DNA, promotor proximal de la RNA polimerasa proximal con unión específico al DNA y la secuencia promotora del núcleo con unión específico al DNA (151). *ZFHX3*, también denominado *ATBF1* (por sus siglas en inglés, *AT motif binding factor 1*), es un factor de transcripción con 23 dedos de zinc y cuatro homeodominios. Esto último sugiere que tiene una función dinámica en diversos procesos biológicos, ya que la delección de *Zfhx3* causa defectos de desarrollo, interrumpe la homeostasis epitelial e induce una morfología neoplásica en próstatas de ratones (199). *ATBF1* actúa como un regulador transcripcional negativo del gen *AFP* (por sus siglas en inglés, *Alpha-fetoprotein*), considerada una glucoproteína oncofetal altamente expresada en saco vitelino e hígado durante el desarrollo embrionario en los días 14-15 (quinta SDG); sin embargo, puede expresarse desde el día 7 (tercer SDG) y durante todas las etapas de desarrollo (200). En particular, un aumento de alfa-fetoproteína sérica materna en el segundo trimestre podría detectar casi todos los casos de gastrosquisis (201). De acuerdo con esto, otros experimentos han indicado que el gen *ATBF1* es indispensable en la señalización del factor de crecimiento transformante beta (TGF- β , por sus siglas en inglés, *Transforming Growth Factor Beta*) y *Smad* (por sus siglas en inglés, *Small Mothers Against Decantaplegic*) lo cual puede contrarrestar la transcripción del gen *AFP* (202).

BCAS3 (por sus siglas en inglés, *Microtubule Associated Cell Migration Factor*) (17q23.2) esta asociado al cáncer de mama y sus anotaciones GO incluyen la diferenciación del ectodermo, la actividad de la acetiltransferasa, la unión a histona acetiltransferasa, la unión a factor de transcripción, la unión a

cromatina y la unión de proteínas (151). Rudhira, el ortólogo de *BCAS3*, desempeña un papel fundamental en el control de la migración celular direccional y la angiogénesis, al facilitar la comunicación entre elementos del citoesqueleto (por ejemplo, los microtúbulos y los filamentos intermedios) que conducen a pérdida del centro de organización de los microtúbulos y la reorientación del aparato de Golgi en el citoesqueleto de la actina en la cicatrización (203). El análisis de expresión de *Bcas3* fue identificado en mesénquima del saco vitelino, embrión, corazón, vaso sanguíneo e hígado en los días 8.5 a 11.5 (tercer a cuarta SDG) (204).

EVPL (por sus siglas en inglés, *Envoplakin*) (17q25.1) está asociado con el pénfigo paraneoplásico así como con diversos trastornos. Sus anotaciones GO incluyen la queratinización, la biología del desarrollo, neurofilamentos remodelantes del citoesqueleto, la actividad molecular estructural, la unión a proteínas y la unión a cadherinas (151). La proteína codificada por *EVPL* media la asociación de filamentos intermedios con sitios de interacción célula-célula y célula-MEC en la membrana, los desmosomas o los hemidesmosomas. Experimentos en un modelo murino *Evpl* ha mostrado una mayor proporción de envolturas cornificantes inmaduras, que se correlaciona con un ligero retraso en la adquisición de la barrera durante el desarrollo embrionario en los días 16.5 y 17.5 (sexta y séptima SDG) indicativos de andamiaje sobre el cual se ensambla la envoltura cornificante (205,206).

CEACAM5 (por sus siglas en inglés, *Carcinoembryonic Antigen related Cell Adhesion Molecule*) (19q13.2) está asociado con cáncer gastrointestinal así como con diversos tumores. Sus anotaciones GO incluyen el metabolismo de

las proteínas, la adhesión, la señalización del factor de transcripción nuclear kappa de las células B (NF-kappaB, por sus siglas en inglés, *Nuclear Factor kappa B cells*), las vías de diferenciación de células madre hematopoyéticas y los marcadores específicos de linaje celular, las interacciones de la superficie celular en la pared vascular, la actividad de homodimerización de proteínas, la unión/anclaje de la glicosilfosfatidilinositol (GPI, por sus siglas en inglés, *Glycosylphosphatidylinositol*) y la unión a proteínas idénticas. La proteína codificada por *CEACAM5* es una glicoproteína de superficie celular que desempeña un papel en la adhesión celular y la señalización intracelular. Además, actúa como inhibidor general de la apoptosis en la MEC (*anoikis*) (128,151). *CEACAM5* favorece la unión del dominio trans-homotípico que produce agregación celular y proliferación que conduce a la tumorigénesis, mientras que funciones heterotípicas adicionales involucran otros componentes y receptores de la MEC (207).

KLK14 (por sus siglas en inglés, *Kallikrein Related Peptidase 14*) (19q13.41) está implicado en la progresión de los tumores de mama y próstata. Sus anotaciones GO incluyen la trimerización de la cadena de colágeno, la queratinización, la señalización de la proteína estimulante de macrófagos-receptor de origen Nantes (MSP-RON, por sus siglas en inglés, *Macrophage Stimulating Protein-Recepteur d'Origine Nantais*), la biología del desarrollo y la actividad de endopeptidasa, peptidasa e hidrolasa de tipo serina (151). La proteína codificada por *KLK14* está implicada en la homeostasis epitelial-epidermis (por ejemplo, remodelación de la MEC) y la permeabilidad de los lípidos (208). *KLK14* está relacionado con la descamación epidérmica debido a

una degradación de las moléculas de adhesión corneodesmosomal intercelular en la patogénesis de la rosácea, así como un papel relacionado con el complemento extrínseco durante la activación de la respuesta inmune innata (208,209). El análisis de expresión de un modelo murino *Klk14* fue identificado en el estómago y en todo el organismo en los días 17 y 18 (sexta y séptima SDG) (181).

PLOD1 (por sus siglas en inglés, *Procollagen-Lysine, 2-Oxoglutarate 5-Dioxygenase 1*) (1p36.22) es requerido para el ensamblaje de las fibrillas de colágeno y esta asociado con el síndrome de Ehlers-Danlos tipo 1 cifoescolótico, hernia umbilical y onfalocele. Sus anotaciones GO incluyen la trimerización de la cadena de colágeno, la degradación de la lisina, la degradación de la MEC, la unión del ión de hierro, la actividad de la oxidorreductasa y la actividad homodimerización de proteínas (151). En particular, la gastrosquisis esta reportada en asociación con hernia umbilical y onfalocele en algunas familias (43-45,47,49,210). Lo anterior sugiere que las variaciones en el gen *PLOD1* podrían tener una influencia significativa en estas consecuencias clínicas, ya que los abuelos del probando sufrieron de hernia umbilical (Figura 4). Además, el síndrome de Axenfeld-Rieger (enfermedad autosómica dominante caracterizada por defectos oculares, craneofaciales y umbilicales) debido a mutaciones de *PITX2* (por sus siglas en inglés, *Paired Like Homeodomain 2*) regula la expresión del promotor del gen *PLOD1* en los días 7 a 15 (tercer a quinta SDG) (173,183,211).

Por otra parte, se observaron IPP significantes, así como un alto enriquecimiento funcional en los genes xenobióticos (subfamilia UGT1A,

2q37.1), *UGT1A3* (por sus siglas en inglés, *UDP Glucuronosyltransferase family 1 member A3 gene*), *UGT1A4* (por sus siglas en inglés, *UDP Glucuronosyltransferase family 1 member A4*), *UGT1A5* (por sus siglas en inglés, *UDP Glucuronosyltransferase family 1 member A5*), *UGT1A6* (por sus siglas en inglés, *UDP Glucuronosyltransferase family 1 member A6*) *UGT1A7* (por sus siglas en inglés, *UDP Glucuronosyltransferase family 1 member A7*), *UGT1A8* (por sus siglas en inglés, *UDP Glucuronosyltransferase family 1 member A8*), *UGT1A9* (por sus siglas en inglés, *UDP Glucuronosyltransferase family 1 member A9*) *UGT1A10* (por sus siglas en inglés, *UDP Glucuronosyltransferase family 1 member A10*). Las proteínas codificadas por la subfamilia UGT1A se unen a la conjugación de enzimas, carbohidratos y proteínas con la posterior desactivación y eliminación de xenobióticos potencialmente tóxicos (por ejemplo, medicamentos, contaminantes ambientales, productos químicos de la dieta) y compuestos endógenos (por ejemplo, bilirrubina, esteroides, ácidos biliares) (151). Además, el gen *CYP2C8* (por sus siglas en inglés, *Cytochrome P450 family 2 subfamily C member 8*) junto con el gen *CYP2C9* (por sus siglas en inglés, *Cytochrome P450 family 2 subfamily C member 9*) y el gen *CYP2B6* (por sus siglas en inglés, *Cytochrome P450 family 2 subfamily B member 6*) a través de la oxidación mediada por el citocromo P450 pueden experimentar actividades de glucuronidación (Figura 6A) (151,212). La subfamilia UGT1A esta asociada con una diversidad de trastornos metabólicos de la bilirrubina (151). El análisis de expresión de los ortólogos *Ugt1a1*, *Ugt1a2*, *Ugt1a5*, *Ugt1a6b*, *Ugt1a7c*, *Ugt1a8*, *Ugt1a8*,

Ugt1a10 se identificaron en hígado en los días 15.5 y 18.5 (sexta y séptima SDG) (128,151,177).

AOX1 (por sus siglas en inglés, *Aldehyde Oxidase 1*) (2q33.1), se observó con IPP directa y por medio de genes de la subfamilia UGT1A, *CYP2C9*, *CYP2B6* y *DPYD* (por sus siglas en inglés, *Dihydropyrimidine Dehydrogenase*); este último, está relacionado con el metabolismo de la pirimidina y la síntesis de nucleótidos. El gen *AOX1* participa en la regulación de la homeostasis de las especies reactivas del oxígeno y esta asociado a la xantínuria hereditaria (151). El análisis de expresión del ortólogo *Aox1* se identificó en hígado en el día 15.5 (sexta SDG) (177).

Asimismo, se observó IPP directa en el gen *NOTCH1* (por sus siglas en inglés, *Notch 1*) (9q34.3), *PLEKHG4B* (por sus siglas en inglés, *Pleckstrin Homology and RhoGEF domain containing G4B*) (5p15.33) e *HIST1H2BB* (por sus siglas en inglés, *Histone Cluster 1 H2B Family Member B*) (6p22.2) (Figura 6B). Sus anotaciones GO para estos genes incluyen la expresión de genes, la actividad del factor de intercambio de nucleótidos de Rho guanilo, la unión del promotor del núcleo, la unión a cromatina, la unión al DNA y la unión a proteínas (128,151). El ortólogo *Notch1* se expresó tanto en trofoblasto como en células madre embrionarias desde la preimplantación e incluso en todas las etapas de desarrollo (151,213), mientras que el ortólogo *Hist1h2bb* se expresó en hígado y cerebro entre los días 15.5 y 18.5 (sexta y séptima SDG) (177). De particular interés, *KDM5A* (por sus siglas en inglés, *Lysine Demethylase 5A*) (12p13.33) y *CDYL* (por sus siglas en inglés, *Chromodomain Y Like*) (6p25.1) interactuaron estrechamente con esta red en particular. Estos genes juegan un

papel central en la codificación de histonas, lo que regula la transcripción específica de genes y la represión de procesos biológicos esenciales que preservan el proceso epigenético (151). Los ortólogos *Kdm5a* y *Cdyl* se expresaron en el blastómero y el blastocisto (días 1.5 a 4.5, primer SDG) (214,215), así como en hígado y cerebro en los días 15.5 y 18.5 (sexta y séptima SDG) (177).

Se detectó IPP directa en el gen *RPS3* (por sus siglas en inglés, *Ribosomal Protein S3*) (11q13.4) interactuando con múltiples genes implicados en la regulación de la síntesis de proteínas (Figura 6C). El gen *RPS3* desempeña un papel clave en la protección del DNA al unirse con similar afinidad al DNA dañado e intacto. Asimismo, cuando se encuentra en la mitocondria, reduce los niveles de especies reactivas del oxígeno celular y el daño del DNA mitocondrial. Además, se une y protege al gen *TP53/p53* (por sus siglas en inglés, *Tumor Protein P53*) de la ubiquitinación mediada por el gen *MDM2* (por sus siglas en inglés, *MDM2 Proto-Oncogene*) y participa en la inducción de la apoptosis a través de su papel en la activación del gen *CASP8* (por sus siglas en inglés, *Caspase 8*) (151). El ortólogo *Rps3* se expresó en hígado y el cerebro en el día 15.5 (sexta SDG) (177).

Se observaron IPP directas adicionales por medio de los genes *THBS1* (por sus siglas en inglés, *Thrombospondin 1*) (15q14), *ITGA2* (por sus siglas en inglés, *Integrin Subunit Alpha 2*) (5q11.2), *ITIH3* (por sus siglas en inglés, *Inter-Alpha-Trypsin Inhibitor Heavy Chain 3*) (3p21.1) y *F5* (por sus siglas en inglés, *Coagulation Factor V*) (1q24.2) (Figura 6D). Estos genes están asociados con una variedad de anomalías trombóticas, ya que desempeñan un papel central

en la hemostasia y la adhesión celular, mediando y estabilizando la adhesión de plaquetas (incluyendo otros tipos de células, como el colágeno) a la MEC (151). El análisis de expresión del ortólogo *Thbs1* se identificó en el saco vitelino y el mesénquima embrionario en los días 9.5 y 14.5 (cuarta y quinta SDG respectivamente) (183,216), mientras que el ortólogo *Itga2* se identificó expresado en embrión, epidermis, endotelio de vasos sanguíneos y estrato basal de las epidermis en los días 7.5, 16.5 y 18.5 (tercer, sexta y séptima SDG respectivamente) (217,218). El ortólogo *Itih3* se detectó expresado en hígado en el día 15.5 (sexta SDG) (177), mientras que el ortólogo *F5* se detectó expresado en embrión de los días 7.5 a 14.5 (tercer a quinta SDG) y notocordia en el día 8.0 y 8.5 (tercer SDG) (219,220).

Se observó el gen *ADCY9* (por sus siglas en inglés, *Adenylate Cyclase 9*) (16p13.3) con IPP directas en múltiples genes implicados en las actividades del GPCR, incluida la activación inducida por catecolamina, la quimiotaxis y la migración, la folitropina, la melanogénesis y la transducción molecular de señales del olor y del sabor (Figura 7D). Estos genes contribuyen en las cascadas de señalización activadas por el factor liberador de corticotropina, los corticosteroides y los receptores betaadrenérgicos, implicados en la producción de factores de crecimiento endoteliales derivados de plaquetas y vasculares (151). El análisis de expresión del ortólogo *Adcy9* se detectó en el sistema cardiovascular, el esqueleto axial, la piel y el cabello en el día 14.5 (quinta SDG) (173).

Se observó el gen *FGFR4* (por sus siglas en inglés, *Fibroblast Growth Factor Receptor 4*) (5q35.2) con IPP directas en múltiples genes implicados en la

regulación de las actividades de tirosina quinasas y receptores de superficie celular para factores de crecimiento de fibroblastos (Figura 7B). Estos genes son cruciales para diversos procesos de desarrollo, metabólicos, inmunes y cáncer, ya que regulan la proliferación, diferenciación y migración celular, incluida la regulación del metabolismo de los lípidos, la biosíntesis de ácidos biliares, la captación de glucosa, el metabolismo de la vitamina D y la homeostasis del fosfato (151). El análisis de expresión del ortólogo *Fgfr4* se detectó en embrión y en blastocisto en los días 2 y 3.5 (primer SDG) (215,221), en el ectodermo neural, el mesénquima embrionario, el ectodermo extra-embrionario en el día 7.5 (tercer SDG), así como en somita, el endodermo del saco vitelino y el endodermo del intestino de los días 8.5 a 14.5 (tercer a quinta SDG) (222,223). Además, se restringió a niveles bajos de expresión en el hígado y en el sistema nervioso central desde el día 11.5 (cuarta SDG) en adelante (221).

La clasificación bioinformática por patrón de herencia también identificó el gen *PER2* (por sus siglas en inglés, *Period Circadian Regulator 2*) (2q37.3). Este gen regula los ritmos circadianos en la expresión génica, que se traducen en ritmos en el metabolismo y el comportamiento, incluida una amplia gama de funciones fisiológicas como el sueño, la temperatura corporal, la presión arterial, las funciones endocrinas, inmunes, cardiovasculares y renales (151). El análisis de expresión del ortólogo *Per2* se identificó en la médula espinal y el sistema nervioso central en los días 11.5 y 13.5 (cuarta SDG) (182,224), los vasos sanguíneos y el sistema cardiovascular en el día 14.5 (quinta SDG) (173) y el hígado en el día 15.5 (sexta SDG) (177).

SLC9A3 (por sus siglas en inglés, *Solute Carrier family 9 member A3*) (5p15.33), es un intercambiador de Na/H que elimina la toxicidad ácida generada por el metabolismo activo o condiciones ambientales adversas (151). El análisis de expresión del ortólogo *Slc9a3* se identificó desde el embrión en etapa celular hasta el trofo-ectodermo (días 1 a 3.5, primer SDG) (225,226), así como en metanefros en el día 18.5 (séptima SDG) (227).

RASGRP1 (por sus siglas en inglés, *RAS Guanyl Releasing Protein 1*) (15q14) y *PTPRD* (por sus siglas en inglés, *Protein Tyrosine Phosphatase Receptor type D*) (9p24.1-p23) son moléculas de señalización cruciales para una variedad de procesos celulares que incluye el crecimiento celular, la diferenciación, el ciclo mitótico y la transformación oncogénica, al regular el desarrollo de las células T y B, la citotoxicidad de las células asesinas (NK, por sus siglas en inglés, *Natural Killers*) y la producción de citoquinas dependientes de la inmunoadactivación de tirosina (ITAM, por sus siglas en inglés, *Immunoreceptor Tyrosine based Activation Motifs*) mediante la activación de las vías ERK, MAPK y quinasas c-Jun N-terminal (JNK, por sus siglas en inglés, *c-Jun N-terminal Kinases*) mediadas por Ras (151). El análisis de expresión de los ortólogos *Rasgrp1* y *Ptprd* se identificaron en el lóbulo olfativo y epitelio en el día 14.5 (quinta SDG), así como en hígado y el sistema nervioso central en los días 15.5 y 16.5 (sexta SDG) (177,183,228).

MYBPC2 (por sus siglas en inglés, *Myosin Binding Protein C fast type*) (19q13.33) y *OBSCN* (por sus siglas en inglés, *Obscurin*) (1q42.13) son proteínas de señalización clave que juegan un papel en la regulación de la miofibrillogénesis y la modulación de la contracción muscular, ya que se une y

modifica el ensamblaje de la miosina ATPasa activada por actina en bandas sarcoméricas A en el músculo estriado (151). El análisis de expresión del ortólogo *Mybpc2* se identificó en la extremidad posterior en el día 18 (séptima SDG) (229), mientras que el ortólogo *Obscn* se detectó en el diafragma y en los cardiomiocitos en los días 14.5 y 17 (quinta y sexta SDG respectivamente) (183,230).

En general, estos genes candidatos demostraron una representación significativa de vías patogenéticas de xenobióticos, regulación de los procesos metabólicos, regulación de la adhesión celular, regulación de la expresión génica, respuesta inflamatoria, regulación del desarrollo vascular, queratinización, simetría izquierda/derecha, epigenética, ubiquitinación y regulación de la síntesis de proteínas (Tabla 14). Por lo tanto, de acuerdo con nuestros resultados, múltiples genes y vías patógenas novedosas podrían estar implicadas en la patogénesis de la gastrosquisis. De hecho, nuestros hallazgos apuntan a una compleja interacción de factores genéticos y no genéticos que interactúan funcionalmente; por lo cual, se propone que cada uno de estos genes son probablemente influencias sustanciales para el desarrollo de este defecto, lo que resalta brechas importantes en relación con el conocimiento actual de la genética y la biología del desarrollo de gastrosquisis (166).

7.3 Teorías sobre el defecto del cierre de la pared abdominal en humanos y su implicación para la gastrosquisis

Se identificaron un número considerable de categorías GO que evocan previas teorías postuladas en gastrosquisis (74-84). Estas hipótesis junto con nuestro propuesto “modelo multigénico/multifactorial” resalta las nuevas variantes genéticas de susceptibilidad dentro de vías patogenéticas posiblemente implicadas en la patogénesis de gastrosquisis (166).

Quizá la explicación principal para una escasez experimental respecto a los mecanismos biológicos o moleculares del desarrollo de la pared abdominal en humanos, particularmente en gastrosquisis, esta vinculada a la suposición que dicho defecto no tiene una base genética. Recientemente, postulamos que este fenotipo podría resultar de interacciones complejas gen-gen o gen-ambiente (16,43,44,62,65). De acuerdo con lo anterior, es posible que las vías patogenéticas previamente descritas conlleven a una disrupción de la pared abdominal, ya que diversos mecanismos biológicos y moleculares podrían interactuar con la predisposición genética en gastrosquisis dentro de las primeras diez semanas de desarrollo humano.

Reportes previos de los análisis de expresión en ortólogos que involucra los genes previamente descritos indicaron que una reducida pero significativa predisposición genética (regulación de expresión génica) están expresados en etapas iniciales embrionarias e implantación (173,213-215,221,225,226), mientras que diversas influencias genéticas implicadas en la regulación de los procesos metabólicos, regulación del desarrollo vascular, ubiquitinación y

regulación de la síntesis de proteínas puede llevar a una alteración del cierre de la pared abdominal de forma masiva, presumiblemente entre la tercer y la quinta SDG (173,182,183,213,216,217,219-224). Notablemente, múltiples factores e interacciones genéticas (variantes modificadoras) pueden agravar o enmascarar el fenotipo esperado a través de mutaciones de ganancia o pérdida de función en genes o vías genéticas involucradas en células relacionadas con enfermedades relevantes (231-233), lo que quizás podría inducir a una anomalía aislada. En estas etapas embrionarias, se produce el plegamiento del embrión debido a un rápido aumento de la proliferación del neuroectodermo y el mesodermo subyacente, dando lugar a los cuatro pliegues de la pared del cuerpo ventral abdominal, así como a la membrana torácica, esternón, diafragma y cloaca. Estos eventos morfogénéticos se determinan debido a la detención del crecimiento causada por la muerte celular en el anillo umbilical (6,7,9,12).

Por otra parte, predominantes y significativas predisposiciones genéticas como aquellas implicadas en las vías patogenéticas de xenobióticos, la regulación de los procesos metabólicos, la regulación de la adhesión celular, la respuesta inflamatoria, la queratinización y la epigenética) pueden conducir a una alteración del cierre de la pared abdominal como un alargamiento del anillo umbilical presumiblemente entre la sexta y décima SDG (177,213,218,221,227-229). Entre estas etapas, el anillo umbilical, emerge de los cuatro pliegues del cuerpo y se ubica en el centro del abdomen (superficie ventral) realizando una transición adecuada entre la pared del cuerpo y el amnios, mientras que este último permanece en continuidad con el peridermo a lo largo de todo el período

embrionario. Durante la décima y undécima semana de desarrollo, los tejidos epiteliales de ambos lados del embrión se encuentran y se fusionan en la línea media. Al mismo tiempo, una capa intermedia se eleva desde el estrato basal/germinativo, que incluye fibras colágenas y elásticas (peridermo queratinizado y descamado); mientras que la muerte celular y la deposición celular impiden el crecimiento del anillo umbilical manteniendo aproximadamente el mismo diámetro a lo largo del desarrollo (6,7,9,12,234).

Nuestros resultados contribuyen a la creciente evidencia que relaciona a la gastrosquisis con la teoría de la disgenesia embrionaria (6,7,12,62,235). La aberración en las placodas ectodérmicas conduce a alteraciones en el proceso de deposición celular y por consecuencia, el mesodermo de la pared del cuerpo ventral podría estar subdesarrollado, lo que podría dar como resultado un anillo umbilical alargado (deficiencia mesodérmica) (6,7,12). La placoda ectodérmica expresamente en el anillo umbilical implica una señalización fundamental para la transición adecuada entre el amnios y el anillo umbilical, así como para la comunicación célula-célula del ectodermo al mesodermo, lo que produce un depósito de células mesoectodérmicas que contribuyen a la pared lateral y ventral del cuerpo del embrión. Además, el proceso de deposición celular debido a un mecanismo combinado de apoptosis y la proliferación celular de las células ectodérmicas subyacentes se puede agregar al compartimiento mesodérmico que se encuentra debajo, incluidos los tejidos asociados con el cierre de la pared del cuerpo ventral (6,7,9,12). Aunque existen diferencias significativas entre la embriología humana y la del ratón (9), estos mecanismos moleculares se han dilucidado con éxito en embriones de rata cultivados in vivo

y ratones con mutaciones en el gen *Tfap2a* (por sus siglas en inglés, *Transcription factor AP-2-alpha*) (8,236).

En conjunto, nuestros hallazgos favorecen los modelos recientemente propuestos denominados "crecimiento mediolateral en la pared corporal dorsolateral" y "crecimiento diferencial" (237,238). De acuerdo con estos modelos, la migración celular es innecesaria para el desarrollo de nuevas estructuras, ya que un aumento robusto en el tamaño corporal de los embriones experimentales contrasta con cambios mínimos en el tamaño del anillo umbilical y la diástasis de los músculos rectos observados desde la sexta a décima semana de desarrollo. Estas observaciones albergan la hipótesis de que aunque los huesos y los músculos de la pared ventral del cuerpo pueden haber sufrido una diferenciación normal, los defectos ventrales de la línea media podrían tener su origen debido a un crecimiento dorsoventral insuficiente (237). En este sentido, el desarrollo de la pared ventral del cuerpo es consistente con una variedad de interacciones orquestadas que involucran una adhesión celular equilibrada para el cual las adherencias conservadas de la MEC en la morfogénesis de los músculos vertebrados son primordiales (239,240). Aunque el tipo de defecto dependería del grado y la ubicación de la insuficiencia, dicho período es consistente con la ausencia de anomalías asociadas (62,77,235,241).

Alternativamente, el modelo clásico "frontera somítica lateral" plantea la hipótesis de que las células musculares somíticas tienen un patrón de migración independiente o de translocación al área de la placa lateral, ya que la migración de las costillas y los músculos a través de la pared del cuerpo se produce en

una dirección ventral (242). Este modelo se relaciona con otras teorías en las que involucra la interrupción de la organización básica del desarrollo embrionario, un entorno embrionario adverso o teratogénico proporcionado por las madres jóvenes y el alto riesgo de ocurrencia mediante la interrupción vascular intrauterina entre la tercer y quinta SDG (74,75,78,79,81-84,243,244). La disrupción embrionaria así como una alteración en la transición vascular, involucran procesos esenciales como la angiogénesis, la apoptosis y la migración celular. Desde nuestra perspectiva, este escenario biológico podría ser demostrativo para aquellos casos que demuestran una constelación de anomalías asociadas (62,85,87), o tal vez muerte fetal, en particular, cuando se asocia con exposiciones tóxicas maternas, dado que más de un evento disruptivo pudiera ocurrir, incluso después del período embrionario (245). Por otra parte, la deposición celular también puede reducirse masivamente entre la pared abdominal y el amnios, lo que podría provocar un defecto extenso de la pared abdominal junto con órganos abdominales (6).

7.4 Susceptibilidad clínica en gastrosquisis

En nuestra opinión, todos los posibles factores genéticos y no genéticos, incluidas sus variantes genéticas reguladoras directas que contribuyen a la complejidad de gastrosquisis deben considerarse (166). Por consiguiente, al tomar en cuenta nuestros resultados y la posible presentación variable de la enfermedad (62), varios mecanismos complejos como el efecto mutacional epistático, la heterocigosidad sinérgica o la herencia multigénica, las variantes

en los genes modificadores o los efectos debidos a la carga de variantes raras en general pueden causar un aumento o represión del fenotipo, así como los defectos en las vías que causan efectos acumulativos podrían conducir a susceptibilidad o variabilidad fenotípica (presentación grave/inusual o presentación leve/aislada) (231-233).

Desde nuestra perspectiva, la razón de una asociación prevalente de gastrosquisis con la edad materna joven (quizás junto con un bajo índice de masa corporal antes del embarazo o con influencias nocivas ambientales), podría ser orquestada por genes involucrados en varios mecanismos biológicos y moleculares sincronizados en vías patogenéticas de xenobióticos y regulación de los procesos metabólicos. Estos genes pueden contribuir al riesgo de gastrosquisis debido a una toxicidad endo- o xenobiótica relacionada con el metabolismo de los lípidos, flavonoides, ácidos grasos, drogas, hormonas, carbohidratos, químicos o lípidos. Además, también regulan la respuesta a los factores de crecimiento, la detección y la respuesta a los estímulos celulares, la biosíntesis de folatos, así como una co-regulación negativa del músculo esquelético, los fibroblastos y el tejido adiposo subcutáneo (128,151). En este sentido las influencias genéticas relacionadas con la epigenética también podrían estar interactuando con una particular plétora de factores de riesgo no genéticos, como la ingesta de alcohol y el tabaquismo por parte de los padres. Este parece ser el caso de una proporción cada vez mayor de fetos afectados de madres jóvenes, consideradas como una población vulnerable asociada con una atención pre/peri-concepcional limitada, así como con disruptores

relacionados con el estrógeno (edad materna joven, nuliparidad, disminución de la masa corporal, ingesta de alcohol) (16,83,84).

Dado lo anterior, se deduce que los genes implicados en la respuesta inflamatoria pueden jugar un papel clave para los factores inmunológicos maternos y posiblemente, sean responsables de la susceptibilidad de las infecciones genitourinarias y el cambio en la paternidad y su asociación con la gastrosquisis (22,23,37,38,43,44). En conjunto con los genes implicados en la regulación de la expresión génica, la epigenética, la regulación de la síntesis de proteínas y la ubiquitinación, los genes reguladores del desarrollo inmunitario fetal también pueden desempeñar un papel central en el parto prematuro y el bajo peso fetal, como se observó en nuestros pacientes (166). Además, los pacientes con gastrosquisis han mostrado niveles elevados de citoquinas inflamatorias, lo que incluye una activación más temprana de CD4+ y CD8+ y células T de memoria (246).

El mecanismo o causa de muerte prenatal en la gastrosquisis es controvertido y en este estudio no ofrecemos ninguna explicación para esta complicación. Los estudios morfológicos brindan apoyo a un posible efecto que involucra la compresión del cordón umbilical debido a una hernia intestinal extraabdominal que conduce a la hipoxia y finalmente a la muerte fetal (235,247). La respuesta inflamatoria mediada por citoquinas se ha incriminado por igual (248). Futuros estudios que investiguen los fenómenos de adhesión celular o vasculares, así como la inflamación crónica/respuesta inmune podrían ser valiosos para esta consecuencia perjudicial.

Los genes *CFAP65*, *CROCC*, *NOTCH1*, *HHIP*, *PKD1* e *IFT140* (por sus siglas en ingles, *Intraflagellar Transport 140*) fueron identificados como influencias en la simetría izquierda-derecha de los casos de gastrosquisis. Estos genes pueden reflejar una interrupción asimétrica del suministro vascular (tercer a quinta SDG) (179,180,183,192,197,213,249,250), deposición celular asimétrica en el anillo umbilical (sexta a décima SDG) (197,235,249,250) o ruptura amniótica a lo largo del cordón umbilical en su *pars flaccida* (octava a onceava SDG) (218,241,249), similar al punto débil sugerido a la izquierda después de la involución de la vena umbilical derecha entre la quinta y décima SDG (76,78). En particular, una expresión ectópica de *Pitx2* en el lado derecho de los embriones experimentales afectó la asimetría izquierda-derecha del corazón, el intestino y la vena vitelina, lo que dio lugar a fenotipos similares a los asociados con el gen *Shh* y la expresión aberrante de *nodal* en los días 10 a 16 (cuarta a sexta SDG) (251). Estos genes también pueden servir como objetivos críticos de transcripción que median la asimetría izquierda-derecha, así como derivaciones de izquierda a derecha entre la vena umbilical izquierda, el canal hepatocárdico derecho y la vena vitelina derecha (252). Además, la expresión diferencial izquierda-derecha de los genes durante las etapas embrionarias y de organogénesis puede afectar la proliferación celular, la comunicación célula-célula y otros procesos morfogénéticos del desarrollo de lateralidad específica; particularmente cuando se trata de un entorno embrionario desfavorable/teratogénico o influencias genéticas adversas (253).

CAPÍTULO VIII: Conclusión

Se identificaron múltiples genes y variantes genéticas candidatas de susceptibilidad a la gastrosquisis utilizando WES de una familia mexicana con recurrencia para el defecto. Al tomar en cuenta el probable efecto disruptivo de segregación de las variantes genéticas y los resultados de la predicción del efecto de las proteínas se propone un "modelo multigénico/multifactorial" conjunto para esta familia y quizás, para el proceso de desarrollo de la gastrosquisis (166).

De la misma manera, se identificaron múltiples vías patogenéticas novedosas implicadas en el cierre de la pared abdominal a partir de genes co-segregantes con gastrosquisis. Basados en nuestros hallazgos y al considerar la plausibilidad de los mecanismos y del patrón patogenético biológico, así como del modelado de redes de los genes identificados, se sugiere que el proceso de desarrollo de la gastrosquisis puede ser la consecuencia de diversos mecanismos moleculares y biológicos sincronizados, orquestados mediante la interacción de múltiples predisposiciones de la gastrosquisis dentro de los primeras diez semanas de desarrollo humano (166).

Estos genes resaltan una participación significativa en vías patogenéticas de xenobióticos, la regulación de los procesos metabólicos, la regulación de la adhesión celular, la regulación de la expresión génica, la respuesta inflamatoria, la regulación del desarrollo vascular, la queratinización, la simetría

izquierda/derecha, la epigenética, la ubiquitinación y la regulación de la síntesis de proteínas en la patogénesis gastrosquisis (166).

En conclusión, estos genes pueden contribuir al futuro descubrimiento de nuevos biomarcadores de diagnóstico y pronóstico de gastrosquisis y pueden ayudar a obtener más información sobre los mecanismos moleculares implicados en la gastrosquisis.

CAPÍTULO IX: Anexos

9.1 Formato de consentimiento informado

Título del Proyecto de Investigación	Análisis de exoma en dos familias nucleares con gastrosquisis recurrente: Estudio piloto para la identificación de genes candidatos
Nombre del Investigador Principal	Dra. Med. Laura Elia Martínez de Villareal
Servicio / Departamento	Genética
Teléfono de Contacto	(81) 83 29 42 17, (81) 83 48 35 09.
Persona de Contacto	Dra. Med. Laura Elia Martínez de Villareal
Versión de Documento	Versión 3
Fecha de Documento	01 septiembre 2017

Usted ha sido invitado(a) a participar en un proyecto de investigación. Este documento contiene información importante acerca del propósito del estudio, lo que Usted hará si decide participar y la forma en que nos gustaría utilizar su información personal y la de su salud. Puede contener palabras que Usted no entienda. Por favor solicite a su médico o al personal del estudio que le explique cualquier palabra o información que no le quede clara.

¿CUÁL ES EL PROPÓSITO DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN?

El siguiente proyecto de investigación tiene como propósito buscar genes (información de mi herencia) que pueda ocasionar una enfermedad llamada gastrosquisis (malformación al nacimiento en el cual no hubo un cierre normal del abdomen provocando la salida de los intestinos). Es importante que usted participe porque con los resultados obtenidos podríamos conocer el origen de esta enfermedad.

¿CUÁL SERÁ LA DURACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN Y CUÁNTOS PARTICIPANTES HABRÁ EN ESTE ESTUDIO?

La duración del proyecto de investigación será de un año aproximadamente y se incluirán nueve pacientes.

¿CUÁLES SON LOS REQUISITOS QUE SE TOMARÁN EN CUENTA PARA MI PARTICIPACIÓN?

Los criterios de inclusión y exclusión son los siguientes:

Se necesita que Usted sea Mexicano(a) de nacimiento y que Usted o algún otro pariente de su familia haya presentado una malformación llamada gastrosquisis (en el cual no hubo un cierre normal del abdomen provocando la salida de los intestinos) y que no se haya acompañado de ningún otro defecto al nacimiento. Si Usted no cumple con estos requisitos no podrá ser incluido en el proyecto de investigación.

¿CUÁLES SON LOS PROCEDIMIENTOS QUE SE ME REALIZARÁN?

Se le pedirá contestar un cuestionario (preguntas personales) donde se le preguntará sobre la enfermedad llamada gastrosquisis (malformación al nacimiento en el cual no hubo un cierre normal del abdomen provocando la salida de los intestinos). Además, se le preguntará la historia personal sobre su familia y sus costumbres personales para entender el ambiente en el que vive. También se le tomarán fotografías con el propósito de enseñanza. También se le tomarán muestras de sangre de una vena de su brazo para buscar genes (información de mi herencia) que pudieran estar relacionados con la enfermedad.

¿QUÉ VA A HACER SI USTED DECIDE PARTICIPAR EN ESTE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN?

1. Autorizar que a Usted se le pregunte sobre la historia personal sobre su familia y sus costumbres personales. 2. Autorizar que se tomen fotografías. 3. Autorizar que se tomen muestras de sangre de una vena del brazo. 4. Firmar el documento de consentimiento informado.

¿CUÁLES SON LOS POSIBLES RIESGOS O MOLESTIAS?

Durante el cuestionario (preguntas personales) pudiera haber molestias por el tiempo que se necesita para responder las preguntas. También en el lugar de la toma de muestra de sangre pudiera provocar molestia o dolor leve pero que no pone en peligro mi vida. Entiendo que el riesgo es pequeño y pudiera provocar mareo, desmayo o moretones.

¿CUÁLES SON LOS POSIBLES BENEFICIOS PARA USTED O PARA OTROS?

Usted puede resultar beneficiado al participar en este proyecto de investigación, porque con los resultados obtenidos podríamos conocer el origen de esta enfermedad e informarle con mayor seguridad la posibilidad de que se repita esta enfermedad en su familia y en otros pacientes con este defecto al nacimiento. Además recibirá sin costo los resultados del examen de exoma (estudio genético donde se analiza la información de mi herencia).

¿SU PARTICIPACIÓN EN ESTE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN LE GENERARÁ ALGÚN COSTO?

No habrá costos para Usted por participar en este estudio. El médico del proyecto de investigación le proporcionará a Usted los resultados del examen genético de exoma (estudio donde se analiza la información de mi herencia) sin costo al término del proyecto de investigación.

¿SE LE PROPORCIONARÁ ALGUNA COMPENSACIÓN ECONÓMICA PARA GASTOS DE TRANSPORTACIÓN?

No habrá ninguna compensación para sus gastos de transportación.

¿RECIBIRÁ ALGÚN PAGO POR SU PARTICIPACIÓN EN ESTE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN?

No habrá o recibirá ningún pago por la participación en este proyecto de investigación.

¿SE ALMACENARÁN MUESTRAS DE SANGRE O TEJIDOS PARA FUTURAS INVESTIGACIONES?

Autorizar el almacenamiento de sus muestras de sangre o tejidos para futuras investigaciones de su enfermedad no le generará un costo a Usted. Sus muestras serán utilizadas sólo para esta investigación y no se comercializarán. Usted no recibirá ninguna compensación ahora o en el futuro por el uso de estas muestras. Asimismo, no se generarán líneas celulares inmortales. Las muestras serán almacenadas en el Departamento de Genética, Facultad de Medicina y Hospital Universitario, Universidad Autónoma de Nuevo León, por un lapso de 1 año.

¿CUÁLES SON SUS DERECHOS COMO SUJETO DE INVESTIGACIÓN?

Si decide participar en este proyecto de investigación, Usted tiene derecho a ser tratado con respeto, incluyendo la decisión de continuar o no en el proyecto de investigación. Usted es libre de terminar su participación en este proyecto de investigación en cualquier momento.

¿PUEDE TERMINAR SU PARTICIPACIÓN EN CUALQUIER MOMENTO DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN?

Su participación es voluntaria. Si desea suspender su participación, puede hacerlo con libertad en cualquier momento. Si elige no participar o retirarse del estudio, su atención médica presente y/o futura no se verá afectada y no incurrirá en sanciones ni perderá los beneficios a los que usted tendría derecho.

Su participación también podrá ser suspendida o terminada por el médico del estudio, sin su consentimiento, por cualquiera de las siguientes circunstancias: 1. Que el estudio haya sido cancelado. 2. Que el médico considere que es lo mejor para Usted. 3. Que necesita algún procedimiento o medicamento que interfiere con esta investigación.

Si Usted decide retirarse de este estudio, deberá realizar lo siguiente: 1. Notificar a su médico tratante del estudio. 2. Deberá de regresar todo el material que su médico le solicite.

Si su participación en el estudio se da por terminada, por cualquier razón, por su seguridad, el médico continuará con seguimientos clínicos. Además, su información médica recabada hasta ese momento podrá ser utilizada para fines de la investigación.

¿CÓMO SE PROTEGERÁ LA CONFIDENCIALIDAD DE SUS DATOS PERSONALES Y LA INFORMACIÓN DE SU EXPEDIENTE CLÍNICO?

Si acepta participar en la investigación, el médico del estudio analizará y registrará la información personal confidencial acerca de su salud. Esta información no contendrá su nombre completo ni su domicilio, pero podrá contener otra información acerca de Usted, tal como iniciales y su fecha de nacimiento. Toda esta información tiene como finalidad garantizar la integridad científica del proyecto de investigación. Su nombre no será conocido fuera de la Institución al menos que lo requiera nuestra Ley.

Usted tiene el derecho de controlar el uso de sus datos personales de acuerdo a la Ley Federal de Protección de datos Personales en Posición de Particulares, así mismo de solicitar el acceso, corrección y oposición de su información personal. La solicitud será procesada de acuerdo a las regulaciones de protección de datos vigentes. Sin embargo, cierta información no podrá estar disponible hasta que el estudio sea completado, esto con la finalidad de proteger la integridad del Estudio.

La Facultad de Medicina y Hospital Universitario, así como el Investigador Principal serán los responsables de salvaguardar la información de acuerdo con las regulaciones locales.

Usted tiene el derecho de solicitar por escrito al médico un resumen de su expediente clínico.

La información personal acerca de su salud y de su tratamiento del proyecto de investigación podrá procesarse o transferirse a terceros en otros países para fines de investigación y de reportes de seguridad, incluyendo agencias reguladoras locales (Secretaría de Salud SSA), así como al Comité de Ética en Investigación y al Comité de Investigación de nuestra Institución.

Para los propósitos de este estudio, autoridades sanitarias como la Secretaría de Salud y el Comité de Ética en Investigación y/o el Comité de Investigación de nuestra Institución, podrán inspeccionar su expediente clínico, incluso los datos que fueron recabados antes del inicio de su participación, los cuales pueden incluir su nombre, domicilio u otra información personal.

En caso necesario estas auditorías o inspecciones podrán hacer fotocopias de parte o de todo su expediente clínico. La razón de esto es asegurar que el estudio se está llevando a cabo apropiadamente con la finalidad de salvaguardar sus derechos como sujeto en investigación.

Los resultados de este estudio de investigación podrán presentarse en reuniones o en publicaciones.

La información analizada durante este estudio será almacenada en bases de datos del investigador principal, los cuales podrán ser usados en otros estudios en el futuro. Estos datos no incluirán información médica personal confidencial. Se mantendrá el anonimato.

Al firmar este documento, Usted autoriza el uso y revelaciones de la información acerca de su estado de salud y tratamiento identificado en esta forma de consentimiento. No perderá ninguno de sus derechos legales como sujeto de investigación. Si hay cambios en el uso de su información, su médico le informará.

SI TIENE PREGUNTAS O INQUIETUDES ACERCA DE ESTE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN, ¿A QUIÉN PUEDE LLAMAR?

En caso de tener alguna pregunta relacionada a sus derechos como sujeto de investigación de la Facultad de Medicina y Hospital Universitario podrá contactar al **Dr. José Gerardo Garza Leal**, Presidente del Comité de Ética en Investigación de nuestra Institución o al **Lic. Antonio Zapata de la Riva** en caso de tener dudas en relación a sus derechos como paciente.

Comité de Ética en Investigación del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”.

Av. Francisco I. Madero y Av. Gonzalitos s/n

Col. Mitras Centro, Monterrey, Nuevo León México. CP 66460

Teléfonos: (81) 83294000 ext. 2870 a 2874

Correo electrónico: investigacionclinica@meduanl.com

RESUMEN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO

PARA LLENAR POR EL SUJETO DE INVESTIGACIÓN

- Mi participación es completamente voluntaria.
- Confirmando que he leído y entendido este documento y la información proporcionada del proyecto de investigación.
- Confirmando que se me ha explicado el proyecto de investigación, que he tenido la oportunidad de hacer preguntas y que se me ha dado el tiempo suficiente para decidir sobre mi participación. Sé con quién debo comunicarme si tengo más preguntas.

- Entiendo que las secciones de mis anotaciones médicas serán revisadas cuando sea pertinente por el Comité de Ética en Investigación o cualquier otra autoridad regulatoria para proteger mi participación en el proyecto de investigación.
- Acepto que mis datos personales se archiven bajo códigos que permitan mi identificación.
- Acepto que mis materiales biológicos (sangre) recolectados puedan usarse para los fines que convengan a este proyecto de investigación.
- Acepto que mi médico sea informado de mi participación en este proyecto de investigación.
- Acepto que la información acerca de este estudio y los resultados de cualquier examen o procedimiento pueden ser incluidos en mi expediente clínico.
- Confirmando que se me ha entregado una copia de este documento de consentimiento firmado.

Nombre y Firma del Sujeto de Investigación

Fecha

PRIMER TESTIGO

Nombre y Firma del Primer Testigo

Dirección

Fecha

Relación con el Sujeto de Investigación

SEGUNDO TESTIGO

Nombre y Firma del Segundo Testigo

Dirección

Fecha

Relación con el Sujeto de Investigación

PERSONA QUE OBTIENE CONSENTIMIENTO

He discutido lo anterior y he aclarado las dudas. A mi más leal saber y entender, el sujeto está proporcionando su consentimiento tanto voluntariamente como de una manera informada, y él/ella posee el derecho legal y la capacidad mental suficiente para otorgar este consentimiento.

Nombre y Firma de la Persona que obtiene el Consentimiento

Fecha

9.2 Formato de consentimiento informado dirigido hacia los padres

Título del Proyecto de Investigación	Análisis de exoma en dos familias nucleares con gastrosquisis recurrente: Estudio piloto para la identificación de genes candidatos
Nombre del Investigador Principal	Dra. Med. Laura Elia Martínez de Villareal
Servicio / Departamento	Genética
Teléfono de Contacto	(81) 83 29 42 17, (81) 83 48 35 09.
Persona de Contacto	Dra. Med. Laura Elia Martínez de Villarreal
Versión de Documento	Versión 2
Fecha de Documento	01 septiembre 2017

Ustedes han sido invitados a participar en un proyecto de investigación. Este documento contiene información importante acerca del propósito del estudio, lo que Ustedes harán si deciden participar y la forma en que nos gustaría utilizar su información personal y la de su salud. Puede contener palabras que Ustedes no entiendan. Por favor solicite a su médico o al personal del estudio que le explique cualquier palabra o información que no les queden claras.

¿CUÁL ES EL PROPÓSITO DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN?

El siguiente proyecto de investigación tiene como propósito buscar genes (información de mi herencia) que pueda ocasionar una enfermedad llamada gastrosquisis (malformación al nacimiento en el cual no hubo un cierre normal del abdomen provocando la salida de los intestinos). Es importante que ustedes permitan la participación de su hijo(a) porque con los resultados obtenidos podríamos conocer el origen de esta enfermedad.

¿CUÁL SERÁ LA DURACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN Y CUÁNTOS PARTICIPANTES HABRÁ EN ESTE ESTUDIO?

La duración del proyecto de investigación será de un año aproximadamente y se incluirán nueve pacientes.

¿CUÁLES SON LOS REQUISITOS QUE SE TOMARÁN EN CUENTA PARA MI PARTICIPACIÓN?

Los criterios de inclusión y exclusión son los siguientes:

Se necesita que se hijo(a) sea Mexicano(a) de nacimiento y que en su familia se haya presentado una malformación llamada gastrosquisis (en el cual no hubo un cierre normal del abdomen provocando la salida de los intestinos) y que no

se haya acompañado de ningún otro defecto al nacimiento. Este mismo defecto debe estar presente en al menos dos parientes de su familia. Se necesita cumplir con estos requisitos ya que de lo contrario no podrán ser incluidos en el proyecto de investigación.

¿CUÁLES SON LOS PROCEDIMIENTOS QUE SE ME REALIZARÁN?

Se les pedirá contestar un cuestionario (preguntas personales) sobre la enfermedad llamada gastrosquisis (malformación al nacimiento en el cual no hubo un cierre normal del abdomen provocando la salida de los intestinos). Además, se les preguntará la historia personal sobre su familia y sus costumbres personales para entender el ambiente en el que viven. También se tomarán fotografías con el propósito de enseñanza y se tomarán muestras de sangre de una vena del brazo de su hijo(a) para buscar genes (información de mi herencia) que pudieran estar relacionados con la enfermedad.

¿QUÉ VAN A HACER SI USTEDES DECIDEN PARTICIPAR EN ESTE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN?

1. Autorizar que a Ustedes se les pregunte sobre la historia personal sobre su familia y sus costumbres personales. 2. Autorizar que se tomen fotografías de su hijo(a). 3. Autorizar que se tomen muestras de sangre de una vena del brazo y de su hijo(a). 4. Firmar el documento de Consentimiento Informado.

¿CUÁLES SON LOS POSIBLES RIESGOS O MOLESTIAS?

Durante el cuestionario (preguntas personales) pudiera haber molestias por el tiempo que se necesita para responder las preguntas. También en el lugar de la toma de muestra de sangre pudiera provocar molestia o dolor leve pero que no pone en peligro la vida de mi hijo(a). Entendemos que el riesgo es pequeño y pudiera provocar mareo, desmayo o moretones.

¿CUÁLES SON LOS POSIBLES BENEFICIOS PARA USTEDES O PARA OTROS?

Ustedes pueden resultar beneficiados al participar en este proyecto de investigación, porque con los resultados obtenidos podríamos conocer el origen de esta enfermedad e informarle con mayor seguridad la posibilidad de que se repita esta enfermedad en su familia y en otros pacientes con este defecto al nacimiento. Además recibirán sin costo los resultados del examen de exoma (estudio genético donde se analiza la información de mi herencia).

¿SU PARTICIPACIÓN EN ESTE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN LES GENERARÁ ALGÚN COSTO?

No habrá costos para su hijo(a) por participar en este estudio. El médico del proyecto de investigación les proporcionará a Ustedes los resultados del examen genético de exoma (estudio donde se analiza la información de mi herencia) sin costo al término del proyecto de investigación.

¿SE LES PROPORCIONARÁ ALGUNA COMPENSACIÓN ECONÓMICA PARA GASTOS DE TRANSPORTACIÓN?

No habrá ninguna compensación para sus gastos de transportación.

¿RECIBIRÁN ALGÚN PAGO POR SU PARTICIPACIÓN EN ESTE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN?

No habrá o recibirá ningún pago por la participación en este proyecto de investigación.

¿SE ALMACENARÁN MUESTRAS DE SANGRE O TEJIDOS PARA FUTURAS INVESTIGACIONES?

Autorizar el almacenamiento de sus muestras de sangre o tejidos para futuras investigaciones de su enfermedad no les generará algún costo a Ustedes. Sus muestras serán utilizadas sólo para esta investigación y no se comercializarán.

Ustedes no recibirán ninguna compensación ahora o en el futuro por el uso de estas muestras. Asimismo, no se generarán líneas celulares inmortales. Las muestras serán almacenadas en el Departamento de Genética, Facultad de Medicina y Hospital Universitario, Universidad Autónoma de Nuevo León, por un lapso de 1 año.

¿CUÁLES SON SUS DERECHOS COMO SUJETOS DE INVESTIGACIÓN?

Su hijo(a) tiene derecho a ser tratado(a) con respeto, incluyendo la decisión de continuar o no en el proyecto de investigación. Ustedes son libres de terminar su participación en este proyecto de investigación en cualquier momento.

¿PUEDEN TERMINAR SU PARTICIPACIÓN EN CUALQUIER MOMENTO DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN?

Su participación es voluntaria. Si desea suspender su participación, puede hacerlo con libertad en cualquier momento. Si elige no participar o retirarse del estudio, la atención médica presente y/o futura de su hijo(a) no se verá afectada y no incurrirá en sanciones ni perderá los beneficios a los que ustedes tendrían derecho de algún otro modo.

La participación de su hijo(a) también podrá ser suspendida o terminada por el médico del estudio, sin su consentimiento, por cualquiera de las siguientes circunstancias: 1. Que el estudio haya sido cancelado. 2. Que el médico considere que es lo mejor para su hijo(a). 3. Que necesita algún procedimiento o medicamento que interfiere con esta investigación.

Si Ustedes deciden retirarse de este estudio, deberán realizar lo siguiente: 1. Notificar a su médico tratante del estudio. 2. Deberá de regresar todo el material que su médico le solicite.

Si su participación en el estudio se da por terminada, por cualquier razón, por su seguridad, el médico continuará con seguimientos clínicos. Además, la información médica analizada de su hijo(a) hasta ese momento podrá ser utilizada para fines de la investigación.

¿CÓMO SE PROTEGERÁ LA CONFIDENCIALIDAD DE SUS DATOS PERSONALES Y LA INFORMACIÓN DE SU EXPEDIENTE CLÍNICO?

Si aceptan participar en la investigación, el médico del estudio analizará y registrará la información personal confidencial acerca de la salud de su hijo(a). Esta información no contendrá nombres completos ni domicilios, pero podrá contener otra información acerca de su hijo(a), tal como iniciales y su fecha de nacimiento. Toda esta información tiene como finalidad garantizar la integridad científica del proyecto de investigación. El nombre de su hijo(a) no será conocido fuera de la Institución al menos que lo requiera nuestra Ley.

Ustedes tienen el derecho de controlar el uso de sus datos personales de acuerdo a la Ley Federal de Protección de datos Personales en Posición de Particulares, así mismo de solicitar el acceso, corrección y oposición de su información personal. La solicitud será procesada de acuerdo a las regulaciones de protección de datos vigentes. Sin embargo, cierta información no podrá estar disponible hasta que el estudio sea completado, esto con la finalidad de proteger la integridad del Estudio.

La Facultad de Medicina y Hospital Universitario, así como el Investigador Principal serán los responsables de salvaguardar la información de acuerdo con las regulaciones locales.

Ustedes tienen el derecho de solicitar por escrito al médico un resumen de su expediente clínico.

La información personal de su hijo(a) acerca de la salud y tratamiento del proyecto de investigación podrá procesarse o transferirse a terceros en otros países para fines de investigación y de reportes de seguridad, incluyendo agencias reguladoras locales (Secretaría de Salud SSA), así como al Comité de Ética en Investigación y al Comité de Investigación de nuestra Institución.

Para los propósitos de este estudio, autoridades sanitarias como la Secretaría de Salud y el Comité de Ética en Investigación y/o el Comité de Investigación de nuestra Institución, podrán inspeccionar el expediente clínico de su hijo(a), incluso los datos que fueron analizados antes del inicio de su participación, los cuales pueden incluir sus nombres, domicilios u otra información personal.

En caso necesario estas auditorías o inspecciones podrán hacer fotocopias de parte o de todo el expediente clínico de su hijo(a). La razón de esto es asegurar que el estudio se está llevando a cabo apropiadamente con la finalidad de salvaguardar los derechos de su hijo(a) como sujeto en investigación.

Los resultados de este estudio de investigación podrán presentarse en reuniones o en publicaciones.

La información analizada durante este estudio será almacenada en bases de datos del investigador principal, los cuales podrán ser usados en otros estudios en el futuro. Estos datos no incluirán información médica personal confidencial. Se mantendrá el anonimato.

Al firmar este documento, Ustedes autorizan el uso y revelaciones de la información acerca del estado de salud y tratamiento identificado en esta forma de consentimiento. No perderá ninguno de sus derechos legales como sujeto de investigación. Si hay cambios en el uso de su información, su médico les informará.

SI TIENE PREGUNTAS O INQUIETUDES ACERCA DE ESTE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN, ¿A QUIÉN PUEDE LLAMAR?

En caso de tener alguna pregunta relacionada a sus derechos como sujeto de investigación de la Facultad de Medicina y Hospital Universitario podrá contactar al **Dr. José Gerardo Garza Leal**, Presidente del Comité de Ética en Investigación de nuestra Institución o al **Lic. Antonio Zapata de la Riva** en caso de tener dudas en relación a sus derechos como paciente.

Comité de Ética en Investigación del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”.

Av. Francisco I. Madero y Av. Gonzalitos s/n

Col. Mitras Centro, Monterrey, Nuevo León México. CP 66460

Teléfonos: (81) 83294000 ext. 2870 a 2874

Correo electrónico: investigacionclinica@meduanl.com

RESUMEN CONSENTIMIENTO

PARA LLENAR POR EL SUJETO DE INVESTIGACIÓN

- Nuestra participación es completamente voluntaria.
- Confirmamos que hemos leído y entendido este documento y la información proporcionada del proyecto de investigación.

- Confirmamos que se nos ha explicado el proyecto de investigación, que hemos tenido la oportunidad de hacer preguntas y que se nos ha dado el tiempo suficiente para decidir sobre nuestra participación. Sé con quién debemos comunicarnos si tenemos más preguntas.
- Entendemos que las secciones de mis anotaciones médicas serán revisadas cuando sea pertinente por el Comité de Ética en Investigación o cualquier otra autoridad regulatoria para proteger nuestra participación en el proyecto de investigación.
- Aceptamos que los datos personales de nuestro hijo(a) se archiven bajo códigos que permitan mi identificación.
- Aceptamos que el material biológico (sangre) recolectado de nuestro hijo(a) puedan usarse para los fines que convengan a este proyecto de investigación.
- Aceptamos que nuestro médico sea informado de la participación de nuestro hijo(a) en este proyecto de investigación.
- Aceptamos que la información acerca de este estudio y los resultados de cualquier examen o procedimiento pueden ser incluidos en el expediente clínico de nuestro hijo(a).
- Confirmamos que se nos ha entregado una copia de este documento de consentimiento firmado.

Nombre y Firma de la Madre del Sujeto de Investigación

Fecha

Nombre y Firma del Padre del Sujeto de Investigación

Fecha

PRIMER TESTIGO

Nombre y Firma del Primer Testigo

Dirección

Fecha

Relación con el Sujeto de Investigación

SEGUNDO TESTIGO

Nombre y Firma del Segundo Testigo

Dirección

Fecha

Relación con el Sujeto de Investigación

PERSONA QUE OBTIENE CONSENTIMIENTO

He discutido lo anterior y he aclarado las dudas. A mi más leal saber y entender, el sujeto está proporcionando su consentimiento tanto voluntariamente como de una manera informada, y él/ella posee el derecho legal y la capacidad mental suficiente para otorgar este consentimiento.

Nombre y Firma de la Persona que obtiene el Consentimiento

Fecha

9.3 Cuestionario suministrado a los sujetos de investigación

Nombre de la madre: _____

Edad de la madre: _____

Nombre del hijo(a): _____

Fecha de nacimiento: _____

Introducción: Este cuestionario tiene por objetivo conocer las posibles causas, historia familiar y costumbres o hábitos personales que pudieran ocasionar la enfermedad que tuvo su bebé durante y después del embarazo llamada gastrosquisis. Todas sus respuestas serán estrictamente confidenciales, por favor conteste responda con honestidad.

1. Cuantas semanas de embarazo tenia cuando se entero que estaba embarazada?
2. En los tres meses antes de quedar embarazada ¿tomo algún multivitamínico que contuviera ácido fólico o algún complemento de acido fólico? Y que dosis tomaba? Lo tomaba todos los días?
3. Hasta qué mes del embarazo empezó a tomar ácido fólico?
4. Sabia usted que tomar ácido fólico desde antes del embarazo ayuda a prevenir algunos defectos del nacimiento?
5. Cuantas semanas de embarazo tenia cuando fue por primera vez a consultar por su embarazo? Cuantas consultas tuvo durante su embarazo? En donde consulto sobre su embarazo?
6. Alguien le informo acerca de la malformación (gastrosquisis)? Que presentaba su hijo(a) durante algunas de sus

consultas sobre su embarazo?

7. Cuantas semanas de embarazo tenia cuando le dijeron que su hijo(a) presentaba gastrosquisis?

8. Cuanto mide de estatura? Cuanto pesaba antes de su embarazo? Cuanto pesaba al final de su embarazo?

9. Actualmente, usted fuma? En los tres meses antes de su embarazo o antes de saber que estaba embarazada usted fumaba?

10. En los tres meses antes de su embarazo o antes de saber que estaba embarazada usted consumió alcohol? En los días que ingería alcohol, cuantas bebidas consumía?

11. En los tres meses antes de su embarazo o antes de saber que estaba embarazada consumió alguna droga (marihuana, cocaína, anfetaminas, solventes o derivados, heroína)? Con que frecuencia consumía estas drogas durante este periodo?

12. Consumió café con cafeína durante el embarazo?

13. Edad de la madre durante el embarazo del niño(a) afectado con gastrosquisis?

14. Edad del padre durante el embarazo del niño(a) afectado con gastrosquisis?

15. Cual es el sueldo mensual que recibía usted y/o su pareja antes del nacimiento de su hijo(a)?

16. Consumió usted paracetamol, ibuprofeno o aspirina durante los primeros tres meses del embarazo? Con que frecuencia consumió estos medicamentos?

17. Consumió usted descongestionantes, anticonceptivos orales o antihistimánicos? Cuales consumió y con que frecuencia?

18. Consumió durante su embarazo productos de origen animal como carne roja de res, carne de pollo y/o pescados como atunes, sardinas, filetes? Cuales consumió y con que frecuencia?

19. Consumió durante su embarazo frutas y verduras? Cuales consumió y con que frecuencia?

20. Consumió durante su embarazo productos lácteos como leche, queso, crema y/o yogurt? Cuales consumió y con que frecuencia?

21. Consumió durante su embarazo productos ricos en grasas como huevo, tocino, mantequilla, manteca de puerco y/o aceites? Cuales consumió y con que frecuencia?

22. Consumió durante su embarazo productos ricos en carbohidratos como pan, galletas, papas, "papitas", dulces y/o pastas? Cuales consumió y con que frecuencia?

23. Se realizó radiografías antes de saber de su embarazo y durante los primero tres meses del mismo?

24. Cuantas parejas sexuales ha tenido? Cuanto tiempo tiene/tenia con el padre de su hijo afectado con gastrosquisis?

Sus hijos anteriores son del mismo padre de su hijo afectado con gastrosquisis?

25. A que edad tuvo su primer menstruación?

26. Cuantos embarazos había tenido antes de tener a su hijo afectado con gastrosquisis?

27. Ha tenido abortos?

28. Durante su embarazo de su hijo afectado con gastrosquisis, tuvo amenaza de aborto y parto pre-termino antes de las 37 semanas de gestación?

29. Se ha realizado algún Papanicolaou?

30. Usted trabajaba tres meses antes de su embarazo o durante los primeros tres meses del embarazo? Cual era o es su trabajo? Estuvo expuesta a altas temperaturas? Estuvo expuesta a químicos o sustancias toxicas? Estuvo expuesta a radiación?

31. En los tres meses antes de quedar embarazada y/o durante los primeros tres meses del embarazo, estuvo en contacto con personas que tuvieran varicela, sarampión o rubeola o algún otro agente infeccioso?

32. Usted padece o padecía diabetes, preeclampsia, IVU o VIH/SIDA antes de su embarazo?

33. Cual fue el manejo de su hijo afectado con gastrosquisis después de nacido?

34. De que lado se presentó el defecto?

35. Cual fue su peso, talla y perímetro cefálico al nacer?

36. Presentó otras malformaciones congénitas/dismorfias asociadas?

9.4 Priorización funcional e identificación de genes de acuerdo al fenotipo investigado*

Impacto / plataforma	Genes
Alto / Ensembl-VEP	<i>ALPP, CFAP65, MAP2K3, OR4C3, PDE4DIP, SPATA17, TLR8, UBE2NL, ZNF717</i>
Moderado / Ensembl-VEP	<i>A2ML1, ACTN3, AKAP6, AL365205.1, ALPP, AOX1, APH1B, ATG5, ATP6V1B2, BCAS3, C4orf50, CCDC110, CCDC183, CD200R1, CFAP65, CROCC, CRYBG1, CT45A5, CYSLTR1, DENND2A, DNAH17, DPYD, ECI2, EMC7, EMILIN2, EVC2, EVPL, EXD3, F5, FAM71E1, FGFR1, GGA1, GPR137, GRAP, GRIN2C, GRK3, GRM4, HECW1, HIPK4, IFT140, INPP5B, ITGA7, ITGAD, KLK14, LIG4, LMF1, LRP5, MBTPS1, MCTP2, MIIP, MS4A8, NAA30, NELL1, NLRP5, OBSCN, OR10G4,</i>

Continua...

OR13F1, OR2C1, P2RY2, PDIA2, PER2, PKD1, PLEKHM2, PPP1R7, PRDM9, PRICKLE4, PRSS1, RBM12B, RHBDD2, RPA4, RTN3, SCLT1, SF3B2, SLC2A14, SLC5A3, SLC6A18, SLC7A6, SPDYE5, TAS1R2, TBX21, TEKT2, THBS1, TIGD5, TMEM106B, TTC6, UGT1A3, UGT1A6, UGT1A7, UHRF1BP1, WDR45B, ZFH3, ZMIZ2, ZNF280A, ZNF285, ZNF716, ZNF717

Modificador / A2ML1, A2ML1-AS1, A2ML1-AS2, ABCA13, ABCA2, ABCA9, ABCA9-AS1, AC004918.3,
Ensembl-VEP AC004943.2, AC005586.2, AC005884.1, AC005884.2, AC008735.1, AC008735.2, AC009779.3,
AC010442.1, AC010735.2, AC010834.1, AC012485.1, AC019103.1, AC020909.3, AC021151.1,
AC026471.5, AC037198.1, AC037198.2, AC068134.1, AC079203.1, AC093783.1, AC097382.2,
AC097662.1, AC104809.2, AC116158.1, AC122685.1, AC124283.5, AC133555.1, AC245297.1,
AC245748.1, ACP2, ACTN3, ADAM3A, ADCY9, ADGRG2, ADPGK, ADPGK-AS1, ADPRHL2,
AKAP6, AL031705.1, AL080251.1, AL138787.1, AL353593.1, AL353593.2, AL355987.4,
AL355994.2, AL365205.1, AL391834.2, AL450998.3, AL512590.2, AL512590.3, AL590705.5,
AL663093.1, AL805909.2, ALPP, ANKRD54, AOX1, AP000317.2, AP001453.3, AP002748.1,
AP002761.4, APH1B, ARHGDI, ATG5, ATP13A5, ATP13A5-AS1, ATP6V1B2, AXIN1, BAD,
BCAS3, BLOC1S1, BX248321.1, BX927139.1, C4orf50, C6orf201, CACNA2D4, CBR4, CCDC110,
CCDC183, CCDC183-AS1, CD200R1, CDYL, CFAP65, CLCN7, CLCNKA, CNIH2, COL4A3,
CPNE5, CR753812.2, CR759772.2, CR759964.2, CROCC, CRYBG1, CTCFL, CXorf40A, CYP51A1,
DAB1, DDB2, DENND4C, DIAPH2, DNAH17, DNAH3, DOPEY2, DPH7, DPY19L4, DPYD, ECI2,
EEF1D, EFNA5, EIF2AK1, EIF3L, EMC10, ENPP2, EPDR1, ESPL1, EVPL, EXD3, F5, FAM71E1,
FAM92A, FAS, FGFRL1, FOXK2, FRS3, FSIP1, GAK, GAL3ST3, GGA1, GOLGA6B, GOLGA8IP,
GPATCH2, GPR137, GPR182, GRAP, GRIN2C, GRK3, GRM4, HECW1, HIST1H2APS5,
HIST1H2BB, HIST1H3C, HSFX3, IFT140, IGSF10, INPP5B, IQCJ-SCHIP1, IQCJ-SCHIP1-AS1,
IRS1, ITGA2, ITGA7, ITGAD, ITIH1, ITIH3, JOSD2, KCNK4, KDM5A, KIAA0319L, KLHL13,
LINC00893, LMF1, LRPAP1, LRRC61, LRRD1, LUARIS, MAP2K3, MBTPS1, MCTP2, MEAF6,
MECOM, MFAP2, MIIP, MIR422A, MIR4273, MIR5581, MIR6511B1, MIR658, MIR659, MIR6729,
MIR888, MIR890, MIR892A, MIR892B, MIR892C, MRPS6, MS4A8, MYBPC2, NAA30, NANOGP1,
NAXD, NDUFA5P3, NELL1, NOTCH1, NPAS4, NPIP12, NR1H3, NUP188, OBSCN, OCA2, ODF2,
ODF2-AS1, OMA1, PDE4DIP, PDIA2, PFDN5, PKD1, PLD3, PLEKHG4B, PLEKHM2, PMS2P3,
PPP1R7, PRDM9, PRICKLE4, PRSS1, PTPRD, PYCR3, RABL6, RANBP10, RARRES2, RASGRP1,
RBM12B, RHBDD2, RN7SL853P, RNF224, RNU6-344P, RNY4P17, RPL23AP74, RPS3, RPS6,
RTN3, SCLT1, SF3B2, SFRP4, SH3BP1, SH3GLB2, SHROOM2, SIGLEC16, SLC26A4, SLC5A10,
SLC6A18, SLC7A6, SLC9A3, SLC9A3-AS1, SNORD15A, SNORD15B, SPIB, STK40, SYNE2,
TBX21, TEKT2, TELO2, THBS1, TLR8-AS1, TMEM106B, TMEM151A, TOMM6, TRAV8-1, TTC6,
U2AF2, UGT1A10, UGT1A4, UGT1A5, UGT1A6, UGT1A7, UGT1A8, UGT1A9, USP49, WDR45B,

Continua...

	<i>XPNPEP2, YIF1A, ZBTB39, ZBTB49, ZMIZ2, ZMYND19, ZNF285, ZNF717</i>
ClinVar y SVS-	<i>ABCC6, ADA, ADAMTS13, ADRB1, ARSA, CCR2, CHEK2, CLEC7A, CTH, CYP2B6, CYP2C9,</i>
PhoRank gene	<i>ELAC2, FECH, FGFR4, FSHR, FUT3, FUT6, HFE, IL4R, ITGA2B, KCNMB1, MC1R, MMACHC,</i>
ranking	<i>NAT2, NCF2, OCA2, PPARGC1B, PRODH, PRSS1, SCNN1G, SDC3, SLC24A5, SLC29A3,</i> <i>SLC45A2, SLC4A1, SPTA1, TAS2R38, TLR4, TMPO, TPCN2, TSC1</i>

*Genes priorizados basado en las plataformas bioinformáticas Ensembl - Variant Effect Predictor (impacto alto, moderado y modificador, 128), ClinVar (127) y SVS - PhoRank gene ranking (150) identificados hasta el 31 de agosto 2018.

9.5 Clasificación de genes y variantes genéticas de acuerdo al modelo de herencia

Variantes genéticas con modelo de herencia dominante*			
Marcador	SNV	Gen	Puntaje total
chr11-123886583-A-G	rs4474449	<i>OR10G4</i>	2.000
chr3-52829633-G-A	rs2286797	<i>ITIH3</i>	1.667
chr5-181729-C-T	rs114885385	<i>PLEKHG4B</i>	1.667
chr5-477479-C-T	rs117027344	<i>SLC9A3</i>	1.667
chr5-52351413-G-A	rs1062535	<i>ITGA2</i>	1.667
chr2-201534389-A-G	rs3731722	<i>AOX1</i>	1.333
chr2-233243981-A-T	rs13026692	<i>ALPP</i>	1.333

*Clasificación mediante la plataforma bioinformática SVS - PhoRank gene ranking (150), con un puntaje estándar por encima de 1.333.

Variantes genéticas con modelo de herencia recesivo*

Marcador	SNV	Gen	Puntaje total
chr2-234591205-T-C	rs11692021	<i>UGT1A7</i>	1.500
chr2-234601669-T-G	rs6759892	<i>UGT1A6</i>	1.500
chr2-234602191-A-G	rs2070959	<i>UGT1A6</i>	1.500
chr2-234602202-A-C	rs1105879	<i>UGT1A6</i>	1.500
chr2-239155053-C-T	rs934945	<i>PER2</i>	1.500
chr9-8485928-G-A	rs3824417	<i>PTPRD</i>	1.500
chr2-234637912-T-C	rs6431625	<i>UGT1A3</i>	1.333

*Clasificación mediante la plataforma bioinformática SVS - PhoRank gene ranking (150), con un puntaje estándar por encima de 1.333.

Variantes genéticas con modelo de herencia heterocigoto compuesto*

Gen	Chr	Posición	Paro	# Marcadores	Puntaje total
<i>UGT1A9</i>	2	234580544	234681951	5	5.481013
<i>UGT1A8</i>	2	234526291	234681945	5	5.367089
<i>UGT1A10</i>	2	234545123	234681951	5	5.367089
<i>UGT1A7</i>	2	234590584	234681945	5	5.367089
<i>UGT1A6</i>	2	234600321	234681945	4	4.481013
<i>OBSCN</i>	1	228395831	228548951	3	3.400000
<i>RASGRP1</i>	15	38780298	38857007	3	3.400000
<i>PDE4DIP</i>	1	144851424	144995033	3	3.392405
<i>F5</i>	1	169481192	169555769	2	2.655696

Continúa...

<i>CDYL</i>	6	4776680	4955778	2	2.473418
<i>KDM5A</i>	12	389223	498621	2	2.473418
<i>MYBPC2</i>	19	50936160	50969583	2	2.392405

*Clasificación mediante la plataforma bioinformática SVS - PhoRank gene ranking (150) a partir de la detección de al menos dos genotipos heterocigotos dentro del mismo gen heredado de la madre en un mínimo de dos loci diferentes.

Variantes genéticas con otros modelos de herencia*

Marcador	SNV	Gen	Clasificación
chr11-123886583-A-G	rs4474449	<i>OR10G4</i>	Heterocigoto de novo
chr2-219903258-T-G	rs6736922	<i>CFAP65</i>	Homocigoto ambos
chr2-234591205-T-C	rs11692021	<i>UGT1A7</i>	Homocigoto ambos
chr2-234601669-T-G	rs6759892	<i>UGT1A6</i>	Homocigoto ambos
chr2-234602191-A-G	rs2070959	<i>UGT1A6</i>	Homocigoto ambos
chr2-234602202-A-C	rs1105879	<i>UGT1A6</i>	Homocigoto ambos
chr2-239155053-C-T	rs934945	<i>PER2</i>	Homocigoto ambos
chr9-8485928-G-A	rs3824417	<i>PTPRD</i>	Homocigoto ambos
chr8-39312996-C-G	rs201472802	<i>ADAM3A</i>	Materno de novo

*Clasificación mediante la plataforma bioinformática SVS - PhoRank gene ranking (150).

9.6 Producción científica y distinciones

Derivado del análisis clínico, epidemiológico y genético de familias e individuos con gastrosquisis, así como otras formas sindrómicas, se obtuvieron nueve productos científicos publicados en revistas indizadas al *Journal Citation Reports* relacionados con el tema de investigación. Además, se obtuvo la promoción como Investigador Nacional Nivel I del Sistema Nacional de Investigadores CONACYT (miembro vigente desde enero 2016). A continuación se describen cada una de las publicaciones y las distinciones obtenidas.

PUBLICACIONES						
Titulo del artículo	Revista	Año	Autoría	FI	Cuartil	Citas
Bioinformatic analysis of gene variants from gastroschisis	<i>Int J Mol</i>	2019	1 de 7	3.687	Q1	0
recurrence identifies multiple novel pathogenetic pathways: implication for the closure of the ventral body wall	<i>Sci</i>				Med & BM	
A clinical-pathogenetic approach on associated anomalies and chromosomal defects supports novel candidate critical regions and genes for gastroschisis	<i>Pediatr Surg Int</i>	2018	1 de 5	1.476	Q2	1
Genetic variants conferring susceptibility to gastroschisis: a phenomenon restricted to the interaction with the environment?	<i>Pediatr Surg Int</i>	2018	1 de 4	1.476	Q2	4
Familial occurrence of gastroschisis: a population-based overview on recurrence risk, sex-dependent influence, and geographical distribution	<i>Pediatr Surg Int</i>	2018	1 de 4	1.476	Q2	4
Prevalence, mortality, and spatial distribution of gastroschisis in Mexico	<i>J Pediatr Adolesc Gynecol</i>	2018	1 de 4	1.752	Q2	9
Evaluation of familial factors in a Mexican population-based setting with gastroschisis: further evidence for an underlying genetic susceptibility	<i>J Pediatr Surg</i>	2018	1 de 4	2.140	Q2	5

Continúa...

Severe intrauterine amputations in one dichorionic twin with pentalogy of Cantrell: further evidence and consideration for mechanical teratogénesis	<i>Pediatr</i> <i>Dev</i> <i>Pathol</i>	2017	1 de 3	1.250	Q2	4
Expansion of the SHORT syndrome phenotype in an adult patient with unilateral basal ganglia calcification	<i>Genet</i> <i>Couns</i>	2016	1 de 3	0.444	Q3	1
Fetus with casamassima-morton-nance syndrome and limb-body wall defect: Presentation of a novel association and review of the phenotype	<i>Pediatr</i> <i>Dev</i> <i>Pathol</i>	2016	1 de 1	1.089	Q2	5

DISTINCIONES

Título de la distinción	Organización	Fecha de inicio y finalización
INVESTIGADOR NACIONAL NIVEL I	Sistema Nacional de Investigadores, CONACYT	01 de enero de 2019 al 31 de diciembre de 2021
CANDIDATO A INVESTIGADOR NACIONAL	Sistema Nacional de Investigadores, CONACYT	01 de enero de 2016 al 31 de diciembre de 2018

CAPÍTULO X: Bibliografía

1. Kumar P. Gastroschisis. En: Burton BK, Kumar P. Congenital malformations: evidence-based evaluation and management. 1a. edición. New York: McGraw Hill, 2008:247-250.
2. Holmes LB. Gastroschisis. En: Holmes LB. Common malformations. 1a edición. New York: Oxford University Press, 2012:109-115.
3. Curry C, Boyd E, Stevenson RE. Ventral wall of the trunk. En: Stevenson RE, Hall JG. Human malformations and related anomalies. 2a edición. New York: Oxford University Press; 2006:1038-1042.
4. Crawshaw P. The new BPA classification. Arch Dis Child 1995;73:563-567.
5. International Clearinghouse for Birth Defects Research and Surveillance. Annual Report 2014. Rome Italy: International Centre of Birth Defects – ICBDSR Centre, 2014.
6. Hartwig NG, Vermeij-Keers C, De Vries HE, Kagie M, Kragt H. Limb body wall malformation complex: an embryologic etiology? Hum Pathol 1989;20:1071-1077.
7. Hartwig NG, Steffelaar JW, Van de Kaa C, Schueler JA, Vermeij-Keers C. Abdominal wall defect associated with persistent cloaca. The embryologic clues in autopsy. Am J Clin Pathol 1991;96:640-647.
8. Smits-van Prooije AE, Vermeij-Keers C, Poelmann RE, Mentink MM, Dubbeldam JA. The formation of mesoderm and mesectoderm in 5- to 41-

somite rat embryos cultured in vitro, using WGA-Au as a marker. *Anat Embryol (Berl)* 1988;177:245-256.

9. Brewer S, Williams T: Finally, a sense of closure? Animal models of human ventral body wall defects. *Bioessays* 2004;26:1307-1321.

10. Grange DK, Arya S, Opitz JM, Laxova R, Herrmann J, Gilbert EF. 1987. The short umbilical cord. *Birth Defects Orig Artic Ser* 1987;23:191-214.

11. Moore KL. *The Developing Human: clinically oriented embryology*. 3a. edición. Philadelphia: W.B. Saunders Co, 1982.

12. Vermeij-Keers C, Hartwig NG, van der Werff JF. Embryonic development of the ventral body wall and its congenital malformations. *Semin Pediatr Surg* 1996;5:82-89.

13. Salemi JL, Pierre M, Tanner JP, Kornosky JL, Hauser KW, Kirby RS, et al. Maternal nativity as a risk factor for gastroschisis: a population-based study. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2009;85:890-895.

14. Khodr ZG, Lupo PJ, Canfield MA, Chan W, Cai Y, Mitchell LE. Hispanic ethnicity and acculturation, maternal age and the risk of gastroschisis in the national birth defects prevention study. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2013;97:538-545.

15. Vo LU, Langlois PH. Time trends in prevalence of gastroschisis in Texas, 1999 to 2011: subgroup analyses by maternal and infant characteristics. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2015;103:928-940.

16. Salinas-Torres VM, Salinas-Torres RA, Cerda-Flores RM, Martínez-de-Villarreal LE. Prevalence, mortality, and spatial distribution of gastroschisis in Mexico. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 2018;31:232-237.

17. Loane M, Dolk H, Bradbury I, EUROCAT Working Group. Increasing prevalence of gastroschisis in Europe 1980-2002: a phenomenon restricted to younger mothers? *Paediatr Perinat Epidemiol* 2007;21:363-369.
18. Kirby RS, Marshall J, Tanner JP, Salemi JL, Feldkamp ML, Marengo L, et al. Prevalence and Correlates of Gastroschisis in 15 States, 1995 to 2005. *Obstet Gynecol* 2013;122:275-281.
19. Jones AM, Isenburg J, Salemi JL, Arnold KE, Mai CT, Aggarwal D, et al. Increasing Prevalence of Gastroschisis--14 States, 1995-2012. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2016;65:23-26.
20. Skarsgard ED, Meaney C, Bassil K, Brindle M, Arbour L, Moineddin R, et al. Maternal risk factors for gastroschisis in Canada. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2015;103:111-118.
21. Rittler M, Campaña H, Ermini ML, Gili JA, Poletta FA, Pawluk MS, et al. Gastroschisis and young mothers: what makes them different from other mothers of the same age? *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2015;103:536-543.
22. Baer RJ, Chambers CD, Jones KL, Shew SB, MacKenzie TC, Shaw GM, et al. Maternal factors associated with the occurrence of gastroschisis. *Am J Med Genet Part A* 2015;167:1534-1541.
23. Rasmussen SA, Frías JL. Non-genetic risk factors for gastroschisis. *Am J Med Genet Part C Semin Med Genet* 2008;148C:199-212.
24. Brindle ME, Flageole H, Wales PW. Influence of maternal factors on health outcomes in gastroschisis: a canadian population-based study. *Neonatology* 2012;102:45-52.

25. Elliott L, Loomis D, Lottritz L, Slotnick RN, Oki E, Todd R. Case-control study of a gastroschisis cluster in Nevada. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2009;163:1000-1006.
26. Draper ES, Rankin J, Tonks AM, Abrams KR, Field DJ, Clarke M, et al. Recreational drug use: a major risk factor for gastroschisis? *Am J Epidemiol* 2008;167:485-491.
27. Werler MM, Sheehan JE, Mitchell AA. Maternal medication use and risks of gastroschisis and small intestinal atresia. *Am J Epidemiol* 2002;155:26-31.
28. Lupo PJ, Langlois PH, Reefhuis J, Lawson CC, Symanski E, Desrosiers TA, et al. Maternal occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: effects on gastroschisis among offspring in the national birth defects prevention study. *Environ Health Perspect* 2012;120:910-915.
29. Waller SA, Paul K, Peterson SE, Hitti JE. Agricultural-related chemical exposures, season of conception, and risk of gastroschisis in Washington state. *Am J Obstet Gynecol* 2010;202:241.e1-6.
30. Shaw GM, Yang W, Roberts E, Kegley SE, Padula A, English PB, et al. Early pregnancy agricultural pesticide exposures and risk of gastroschisis among offspring in the San Joaquin Valley of California. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2014;100:686-694.
31. Ortega-García JA, Soldin OP, Sánchez-Sauco MF, Cánovas-Conesa A, Gomaríz-Peñalver A, Jaimes-Vega DC, et al. Violence against women and gastroschisis: a case-control study. *Int J Environ Res Public Health* 2013;10:5178-5190.

32. Palmer SR, Evans A, Broughton H, Huddart S, Drayton M, Rankin J, et al. The role of maternal stress in early pregnancy in the aetiology of gastroschisis: an incident case control study. *Plos one* 2013;11:e80103.
33. Siega-Riz AM, Herring AH, Olshan AF, Smith J, Moore C, The National Birth Defects Prevention Study. The joint effects of maternal prepregnancy body mass index and age on the risk of gastroschisis. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2009;23:51-57.
34. Paranjothy S, Broughton H, Evans A, Huddart S, Drayton M, Jefferson R, et al. The role of maternal nutrition in the aetiology of gastroschisis: an incident case–control study. *Int J Epidemiol* 2012;41:1141-1152.
35. Weiss LA, Chambers CD, Gonzalez V, Hagey LR, Jones KL. The omega-6 fatty acid linoleic acid is associated with risk of gastroschisis: a novel dietary risk factor. *Am J Med Genet Part A* 2012;158:803-807.
36. Feldkamp ML, Krikov S, Botto LD, Shaw GM, Carmichael SL, National Birth Defects Prevention Study. Better diet quality before pregnancy is associated with reduced risk of gastroschisis in Hispanic women. *J Nutr* 2014;144:1781-1786.
37. Chambers CD, Chen BH, Kalla K, Jernigan L, Jones KL. Novel risk factor in gastroschisis: Change of paternity. *Am J Med Genet Part A* 2007;143A:653-659.
38. Rittler M, Castilla EE, Chambers C, Lopez-Camelo JS. Risk for gastroschisis in primigravidity, length of sexual cohabitation, and change in paternity. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2007;79:483-487.

39. Getz KD, Anderka MT, Werler MM, Case MP. Short interpregnancy interval and gastroschisis risk in the national birth defects prevention study. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2012;94:714-720.
40. Yazdy MM, Mitchell AA, Werler MM. Maternal genitourinary infections and the risk of gastroschisis. *Am J Epidemiol* 2014;180:518-525.
41. Ahrens KA, Anderka MT, Feldkamp ML, Canfield MA, Mitchell AA, Werler MM. Antitherpetic medication use and the risk of gastroschisis: findings from the national birth defects prevention study, 1997-2007. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2013;27:340-345.
42. Werler MM. Hypothesis: could Epstein-Barr virus play a role in the development of gastroschisis? *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2010;88:71-75.
43. Salinas-Torres VM, Salinas-Torres RA, Cerda-Flores RM, Martínez-de-Villarreal LE. Evaluation of familial factors in a Mexican population-based setting with gastroschisis: further evidence for an underlying genetic susceptibility. *J Pediatr Surg* 2018;53:521-524.
44. Salinas-Torres VM, Salinas-Torres RA, Cerda-Flores RM, Martínez-de-Villarreal LE. Familial occurrence of gastroschisis: a population-based overview on recurrence risk, sex-dependent influence, and geographical distribution. *Pediatr Surg Int* 2018;34:277-282.
45. Salinas CF, Bartoshesky L, Othersen HB Jr, Leape L, Feingold M, Jorgenson RJ. Familial occurrence of gastroschisis. Four new cases and review of the literature. *Am J Dis Child* 1979;133:514-517.

46. Gaillard D. Gastroschisis and omphalocele in the same family. *Arch Fr Pediatr* 1980;37:537-538.
47. Hershey DW, Haesslein HC, Marr CC, Adkins JC. Familial abdominal wall defects. *Am J Med Genet* 1989;34:174-176.
48. Gorczyca DP, Lindfors KK, Giles KA, McGahan JP, Hanson FW, Tennant FP. Prenatally diagnosed gastroschisis in monozygotic twins. *J Clin Ultrasound* 1989;17:216-218.
49. Yang P, Beaty TH, Khoury MJ, Chee E, Stewart W, Gordis L. Genetic-epidemiologic study of omphalocele and gastroschisis: evidence for heterogeneity. *Am J Med Genet* 1992;44:668-675.
50. Torfs CP, Curry CJ. Familial cases of gastroschisis in a population-based registry. *Am J Med Genet* 1993;45:465-467.
51. Chun K, Andrews HG, White JJ. Gastroschisis in successive siblings: further evidence of an acquired etiology. *J Pediatr Surg* 1993;28:838-839.
52. Bugge M, Petersen MB, Christensen MF. Monozygotic twins discordant for gastroschisis: case report and review of the literature of twins and familial occurrence of gastroschisis. *Am J Med Genet* 1994;52:223-226.
53. Ng JW, Kong CK, Wong MK, Book KS. Familial gastroschisis in siblings is rare. *J Pediatr Surg* 1994;29:1637-1638.
54. Nelson TC, Toyama WM. Familial gastroschisis: a case of mother and son occurrence. *J Pediatr Surg* 1995;30:1706-1708.
55. Snelling CM, Davies GA. Isolated gastroschisis in successive siblings: a case report and review of the literature. *J Obstet Gynaecol Can* 2004;26:591-593.

56. Schmidt AI, Glüer S, Mühlhaus K, Ure BM. Family cases of gastroschisis. *J Pediatr Surg* 2005;40:740-741.
57. Kohl M, Wiesel A, Schier F. Familial recurrence of gastroschisis: literature review and data from the population-based birth registry "Mainz Model". *J Pediatr Surg* 2010;45:1907-1912.
58. Feldkamp ML, Carey JC, Pimentel R, Krikov S, Botto LD. Is gastroschisis truly a sporadic defect?: familial cases of gastroschisis in Utah, 1997 to 2008. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2011;91:873-878.
59. Binet A, Ceaux E, Bory JP, Poli-Merol ML, François-Fiquet C. Recurrence of pregnancies with gastroschisis: a case report. *Arch Pediatr* 2015;22:1039-1041.
60. Curry JI, McKinney P, Thornton JG, Stringer MD. The aetiology of gastroschisis. *BJOG* 2000;107:1339-1346.
61. Jones KL, Benirschke K, Chambers CD. Gastroschisis: etiology and developmental pathogenesis. *Clin Genet* 2009;75:322-325.
62. Salinas-Torres VM, Salinas-Torres RA, Cerda-Flores RM, Gallardo-Blanco HL, Martínez-de-Villarreal LE. A clinical-pathogenetic approach on associated anomalies and chromosomal defects supports novel candidate critical regions and genes for gastroschisis. *Pediatr Surg Int* 2018;34:931-943.
63. Adjei AA, Gaedigk A, Simon SD, Weinshilboum RM, Leeder JS. Interindividual variability in acetaminophen sulfation by human fetal liver: implications for pharmacogenetic investigations of drug-induced birth defects. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2008;82:155-165.

64. Singh J. Gastroschisis is caused by the combination of carbon monoxide and protein-zinc deficiencies in mice. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol* 2003;68:355-362.
65. Salinas-Torres VM, Salinas-Torres RA, Cerda-Flores RM, Martínez-de-Villarreal LE. Genetic variants conferring susceptibility to gastroschisis: a phenomenon restricted to the interaction with the environment? *Pediatr Surg Int* 2018;34:505-514.
66. Torfs CP, Christianson RE, Iovannisci DM, Shaw GM, Lammer EJ. Selected gene polymorphisms and their interaction with maternal smoking, as risk factors for gastroschisis. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2006;76:723-730.
67. Jenkins MM, Reefhuis J, Gallagher ML, Mulle JG, Hoffmann TJ, Koontz DA, et al. Maternal smoking, xenobiotic metabolizing enzyme gene variants, and gastroschisis risk. *Am J Med Genet A* 2014;164A:1454-1463.
68. Makhmudi A, Sadewa AH, Aryandono T, Chatterjee S, Heij HA, Gunadi. Effects of MTHFR c.677C>T, F2 c.20210G>A and F5 Leiden Polymorphisms in Gastroschisis. *J Invest Surg* 2016;29:88-92
69. Padula AM, Yang W, Schultz K, Tom L, Lin B, Carmichael SL, Lammer EJ, Shaw GM. Gene variants as risk factors for gastroschisis. *Am J Med Genet A* 2016;170:2788-2802.
70. Komuro H, Mori M, Hayashi Y, Fukagawa M, Makino S, Takahara K, et al. Mutational analysis of the BMP-1 gene in patients with gastroschisis. *J Pediatr Surg* 2001;36:885-887.

71. Cardonick E, Broth R, Kaufmann M, Seaton J, Henning D, Roberts N, et al. Genetic predispositions for thromboembolism as a possible etiology for gastroschisis. *Am J Obstet Gynecol* 2005;193:426-428.
72. Feldkamp ML, Bowles NE, Botto LD. AEBP1 gene variants in infants with gastroschisis. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2012;94:738-742.
73. Jones KL, Benirschke K, Chambers CD. Gastroschisis: etiology and developmental pathogenesis. *Clin Genet* 2009;75:322-325.
74. Moore TC, Stokes GE. Gastroschisis; report of two cases treated by a modification of the gross operation for omphalocele. *Surgery* 1953;33:112-120.
75. Duhamel B. Embryology of exomphalus and allied malformations. *Arch Dis Child* 1963;38:142-147.
76. Shaw A. The myth of gastroschisis. *J Pediatr Surg* 1975;10:235-244.
77. Thomas DF, Atwell JD. The embryology and surgical management of gastroschisis. *Br J Surg* 1976;63:893-897.
78. deVries PA. The pathogenesis of gastroschisis and omphalocele. *J Pediatr Surg* 1980;15:245-251.
79. Hoyme HE, Higginbottom MC, Jones KL. The vascular pathogenesis of gastroschisis: intrauterine interruption of the omphalomesenteric artery. *J Pediatr* 1981;98:228-231.
80. van den Eijnde SM, Luijsterburg AJ, Boshart L, De Zeeuw CI, van Dierendonck JH, Reutelingsperger CP, et al. In situ detection of apoptosis during embryogenesis with annexin V: from whole mount to ultrastructure. *Cytometry* 1997;29:313-320.

81. Feldkamp ML, Carey JC, Sadler TW. Development of gastroschisis: review of hypotheses, a novel hypothesis, and implications for research. *Am J Med Genet A* 2007;143A:639-652.
82. Stevenson RE, Rogers RC, Chandler JC, Gauderer MW, Hunter AG. Escape of the yolk sac: a hypothesis to explain the embryogenesis of gastroschisis. *Clin Genet* 2009;75:326-333.
83. Lubinsky M. Hypothesis: Estrogen related thrombosis explains the pathogenesis and epidemiology of gastroschisis. *Am J Med Genet A* 2012;158A:808-811.
84. Lubinsky M. A vascular and thrombotic model of gastroschisis. *Am J Med Genet A* 2014;164A:915-917.
85. Salinas-Torres VM. Fetus with Casamassima-Morton-Nance syndrome and limb-body wall defect: presentation of a novel association and review of the phenotype. *Pediatr Dev Pathol* 2016;19:159-164.
86. Salinas-Torres VM, De La O-Expinoza EA, Salinas-Torres RA. Expansion of the SHORT syndrome phenotype in an adult patient with unilateral basal ganglia calcification. *Genet Couns* 2016;27:479-483.
87. Salinas-Torres VM, De La O-Espinoza EA, Salinas-Torres RA. Severe intrauterine amputations in one dichorionic twin with pentalogy of Cantrell: further evidence and consideration for mechanical teratogenesis. *Pediatr Dev Pathol* 2017;20:440-443.
88. Chen CP. Ruptured omphalocele with extracorporeal intestines mimicking gastroschisis in a fetus with Turner syndrome. *Prenat Diagn* 2007;27:1067-1068.

89. Saller DN Jr, Canick JA, Palomaki GE, Knight GJ, Haddow JE. Second-trimester maternal serum alpha-fetoprotein, unconjugated estriol, and hCG levels in pregnancies with ventral wall defects. *Obstet Gynecol* 1994;84:852-855.
90. Lepigeon K, Van Mieghem T, Vasseur Maurer S, Giannoni E, Baud D. Gastroschisis—what should be told to parents? *Prenat Diagn* 2014;34:316-326.
91. Bergholz R, Boettcher M, Reinshagen K, Wenke K. Complex gastroschisis is a different entity to simple gastroschisis affecting morbidity and mortality - a systematic review and meta-analysis. *J Pediatr Surg* 2014;49:1527-1532.
92. Tabor HK, Risch NJ, Myers RM. Candidate-gene approaches for studying complex genetic traits: practical considerations. *Nat Rev Genet* 2002;3:391-397.
93. Kwon JM, Goate AM. The candidate gene approach. *Alcohol Res Health* 2000;24:164-168.
94. Patnala R, Clements J, Batra J. Candidate gene association studies: a comprehensive guide to useful in silico tools. *BMC Genet* 2013;14:39.
95. Clark AG. The role of haplotypes in candidate gene studies. *Genet Epidemiol* 2004;27:321-333.
96. Zhu M, Zhao S. Candidate gene identification approach: progress and challenges. *Int J Biol Sci* 2007;3:420-427.
97. Hawkins RD, Hon GC, Ren B. Next-generation genomics: an integrative approach. *Nat Rev Genet* 2010;11:476-486.
98. Horgan R, Kenny L. 'Omic' technologies: genomics, transcriptomics, proteomics and metabolomics. *The Obstetrician & Gynaecologist* 2011;13:189-195.

99. Zhang P, Zhang J, Sheng H, Russo JJ, Osborne B, Buetow K. Gene functional similarity search tool (GFSST). *BMC Bioinformatics* 2006;7:135.
100. Gene Ontology Consortium. The Gene Ontology (GO) database and informatics resource. *Nucleic Acids Res* 2004;32:D258-D261.
101. van Driel MA, Cuelenaere K, Kemmeren PP, Leunissen JA, Brunner HG. A new web-based data mining tool for the identification of candidate genes for human genetic disorders. *Eur J Hum Genet* 2003;11:57-63.
102. Aerts S, Lambrechts D, Maity S, Van Loo P, Coessens B, De Smet F, et al. Gene prioritization through genomic data fusion. *Nat Biotechnol* 2006;24:537-544.
103. Turner FS, Clutterbuck DR, Semple CA. POCUS: mining genomic sequence annotation to predict disease genes. *Genome Biol* 2003;4:R75.
104. Perez-Iratxeta C, Wjst M, Bork P, Andrade MA. G2D: a tool for mining genes associated with disease. *BMC Genet* 2005;6:45.
105. Adie EA, Adams RR, Evans KL, Porteous DJ, Pickard BS. SUSPECTS: enabling fast and effective prioritization of positional candidates. *Bioinformatics* 2006;22:773-774.
106. Rossi S, Masotti D, Nardini C, Bonora E, Romeo G, Macii E, et al. TOM: a web-based integrated approach for identification of candidate disease genes. *Nucleic Acids Res* 2006;34:W285-W292.
107. Arcade A, Labourdette A, Falque M, Mangin B, Chardon F, Charcosset A, et al. BioMercator: integrating genetic maps and QTL towards discovery of candidate genes. *Bioinformatics* 2004;20:2324-2326.

108. Ma CX, Wu R, Casella G. FunMap: functional mapping of complex traits. *Bioinformatics* 2004;20:1808-1811.
109. Masseroli M, Galati O, Pinciroli F. GFINDER: genetic disease and phenotype location statistical analysis and mining of dynamically annotated gene lists. *Nucleic Acids Res* 2005;33:W717-W723.
110. Adie EA, Adams RR, Evans KL, Porteous DJ, Pickard BS. Speeding disease gene discovery by sequence based candidate prioritization. *BMC Bioinformatics* 2005;6:55.
111. Tiffin N, Kelso JF, Powell AR, Pan H, Bajic VB, Hide WA. Integration of text- and data-mining using ontologies successfully selects disease gene candidates. *Nucleic Acids Res* 2005;33:1544-1552.
112. Serrano-Fernández P, Ibrahim SM, Koczan D, Zettl UK, Möller S. In silico fine-mapping: narrowing disease-associated loci by intergenomics. *Bioinformatics* 2005;21:1737-1738.
113. López-Bigas N, Ouzounis CA. Genome-wide identification of genes likely to be involved in human genetic disease. *Nucleic Acids Res* 2004;32:3108-3114.
114. Goldovsky L, Janssen P, Ahrén D, Audit B, Cases I, Darzentas N, et al. CoGenT++: an extensive and extensible data environment for computational genomics. *Bioinformatics* 2005;21:3806-3810.
115. Xu J, Li Y. Discovering disease-genes by topological features in human protein-protein interaction network. *Bioinformatics* 2006;22:2800-2805.
116. Yue P, Melamud E, Moulton J. SNPs3D: candidate gene and SNP selection for association studies. *BMC Bioinformatics* 2006;7:166.

117. Capriotti E, Calabrese R, Casadio R. Predicting the insurgence of human genetic diseases associated to single point protein mutations with support vector machines and evolutionary information. *Bioinformatics* 2006;22:2729-2734.
118. Croft D, O'Kelly G, Wu G, Haw R, Gillespie M, Matthews L, et al. Reactome: a database of reactions, pathways and biological processes. *Nucleic Acids Res* 2011;39:D691-D697.
119. Frisch M, Klocke B, Haltmeier M, Frech K. LitInspector: literature and signal transduction pathway mining in PubMed abstracts. *Nucleic Acids Res* 2009;37:W135-W140.
120. Kandasamy K, Mohan SS, Raju R, Keerthikumar S, Kumar G, Venugopal A, et al. NetPath: a public resource of curated signal transduction pathways. *Genome Biol* 2010;11:R3.
121. Haibe-Kains B, Olsen C, Djebbari A, Bontempi G, Correll M, Bouton C, et al. Predictive networks: a flexible, open source, web application for integration and analysis of human gene networks. *Nucleic Acids Res* 2012;40:D866-D875.
122. Tranchevent L-C, Capdevila FB, Nitsch D, De Moor B, De Causmaecker P, Moreau Y. A guide to web tools to prioritize candidate genes. *Brief Bioinform* 2011;12:22-32.
123. Chen J, Bardes EE, Aronow BJ, Jegga AG: ToppGene Suite for gene list enrichment analysis and candidate gene prioritization. *Nucleic Acids Res* 2009;37:W305-W311.
124. Amberger J, Bocchini C, Hamosh A: A new face and new challenges for online Mendelian inheritance in man (OMIM®). *Hum Mutat* 2011;32:564-567.

125. Radivojac P, Peng K, Clark WT, Peters BJ, Mohan A, Boyle SM, et al. An integrated approach to inferring gene–disease associations in humans. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics* 2008;72:1030-1037.
126. Rhodes DR, Kalyana-Sundaram S, Mahavisno V, Varambally R, Yu J, Briggs BB, et al. OncoPrint 3.0: genes, pathways, and networks in a collection of 18,000 cancer gene expression Profiles¹. New York: Neoplasia Press Inc, 2007.
127. Wheeler DL, Barrett T, Benson DA, Bryant SH, Canese K, Church DM, et al. Database resources of the national center for biotechnology information. *Nucleic Acids Res* 2005;33:D39-D45.
128. Zerbino DR, Achuthan P, Akanni W, Amode MR, Barrell D, Bhai J, et al: Ensembl 2018. *Nucleic Acids Res* 2018;46:D754-D761.
129. Thierry-Mieg D, Thierry-Mieg J. AceView: a comprehensive cDNA-supported gene and transcripts annotation. *Genome Biol* 2006;7:S12.
130. Kuhn RM, Karolchik D, Zweig AS, Wang T, Smith KE, Rosenbloom KR, et al. The UCSC genome browser database: update 2009. *Nucleic Acids Res* 2009;37:D755-D761.
131. Frazer KA, Pachter L, Poliakov A, Rubin EM, Dubchak I. VISTA: computational tools for comparative genomics. *Nucleic Acids Res* 2004;32:W273-W279.
132. Chen Y-H, Liu C-K, Chang S-C, Lin Y-J, Tsai M-F, Chen Y-T, et al. GenoWatch: a disease gene mining browser for association study. *Nucleic Acids Res* 2008;36:W336-W340.

133. Sherry ST, Ward M-H, Kholodov M, Baker J, Phan L, Smigielski EM, et al. dbSNP: the NCBI database of genetic variation. *Nucleic Acids Res* 2001;29:308-311.
134. Chen K, McLellan MD, Ding L, Wendl MC, Kasai Y, Wilson RK, et al. PolyScan: an automatic indel and SNP detection approach to the analysis of human resequencing data. *Genome Res* 2007;17:659-666.
135. Saccone SF, Quan J, Mehta G, Bolze R, Thomas P, Deelman E, et al. New tools and methods for direct programmatic access to the dbSNP relational database. *Nucleic Acids Res* 2011;39:D901-D907.
136. Riva A, Kohane IS. SNPper: retrieval and analysis of human SNPs. *Bioinformatics* 2002;18:1681-1685.
137. Andersen MC, Engström PG, Lithwick S, Arenillas D, Eriksson P, Lenhard B, et al. In silico detection of sequence variations modifying transcriptional regulation. *PLoS Comput Biol* 2008;4:e5.
138. Wang K, Li M, Hakonarson H. ANNOVAR: functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data. *Nucleic Acids Res* 2010;38:e164.
139. Pallejà A, Horn H, Eliasson S, Jensen LJ. DistiLD Database: diseases and traits in linkage disequilibrium blocks. *Nucleic Acids Res* 2012;40:D1036-D1040.
140. Lawrence R, Day-Williams A, Mott R, Broxholme J, Cardon L, Zeggini E. GLIDERS - A web-based search engine for genome-wide linkage disequilibrium between HapMap SNPs. *BMC Bioinforma* 2009;10:367.

141. Johnson AD, Handsaker RE, Pulit SL, Nizzari MM, O'Donnell CJ, de Bakker PIW. SNAP: a web-based tool for identification and annotation of proxy SNPs using HapMap. *Bioinformatics* 2008;24:2938-2939.
142. Jegga AG, Gowrisankar S, Chen J, Aronow BJ. PolyDoms: a whole genome database for the identification of non-synonymous coding SNPs with the potential to impact disease. *Nucleic Acids Res* 2007;35:D700-D706.
143. Consortium TU. Reorganizing the protein space at the universal protein resource (UniProt). *Nucleic Acids Res* 2012;40:D71-D75.
144. De Baets G, Van Durme J, Reumers J, Maurer-Stroh S, Vanhee P, Dopazo J, et al. SNPeffect 4.0: on-line prediction of molecular and structural effects of protein-coding variants. *Nucleic Acids Res* 2012;40:D935-D939.
145. Adzhubei IA, Schmidt S, Peshkin L, Ramensky VE, Gerasimova A, Bork P, et al. A method and server for predicting damaging missense mutations. *Nat Meth* 2010;7:248-249.
146. Kumar P, Henikoff S, Ng PC. Predicting the effects of coding non-synonymous variants on protein function using the SIFT algorithm. *Nat Protocols* 2009;4:1073-1081.
147. Choi Y, Sims GE, Murphy S, Miller JR, Chan AP. Predicting the functional effect of amino acid substitutions and Indels. *PLoS ONE* 2012;7:e46688.
148. Mi H, Huang X, Muruganujan A, Tang H, Mills C, Kang D, et al. PANTHER version 11: expanded annotation data from Gene Ontology and Reactome pathways, and data analysis tool enhancements. *Nucleic Acids Res* 2017;45:D183-D189.

149. Szklarczyk D, Morris JH, Cook H, Kuhn M, Wyder S, Simonovic M, et al. The STRING database in 2017: quality-controlled protein-protein association networks, made broadly accessible. *Nucleic Acids Res* 2017;45:D362-368.
150. SNP & Variation Suite TM (Version 8.x). Bozeman, MT: Golden Helix Inc., 2018 [Consultado 2018 diciembre 18]. Disponible en: <http://www.goldenhelix.com>
151. Stelzer G, Rosen N, Plaschkes I, Zimmerman S, Twik M, Fishilevich S, et al: The GeneCards suite: from gene data mining to disease genome sequence analyses. *Curr Protoc Bioinformatics* 2016;54:1.30.1-1.30.33.
152. Tsunoda T, Takagi T. Estimating transcription factor bindability on DNA. *Bioinformatics* 1999;15:622-630.
153. Heinemeyer T, Wingender E, Reuter I, Hermjakob H, Kel AE, Kel OV, et al. Databases on transcriptional regulation: TRANSFAC, TRRD and COMPEL. *Nucleic Acids Res* 1998;26:362-367.
154. Thomas LF, Saito T, Sætrom P. Inferring causative variants in microRNA target sites. *Nucleic Acids Res* 2011;39:e109.
155. Liu C, Zhang F, Li T, Lu M, Wang L, Yue W, et al. MirSNP, a database of polymorphisms altering miRNA target sites, identifies miRNA-related SNPs in GWAS SNPs and eQTLs. *BMC Genom* 2012;13:661.
156. Gonzaga-Jauregui C, Lupski JR, Gibbs RA. Human genome sequencing in health and disease. *Annu Rev Med* 2012;63:35-61.
157. Yang Y, Muzny DM, Reid JG, Bainbridge MN, Willis A, Ward PA, et al. Clinical whole-exome sequencing for the diagnosis of mendelian disorders. *N Engl J Med* 2013;369:1502-1511.

158. Beck TF, Mullikin JC. Systematic evaluation of Sanger validation of next-generation sequencing variants. Clin Chem 2016;62:647-654.
159. Adams DR, Eng CM. Next-generation sequencing to diagnose suspected genetic disorders. N Engl J Med 2018;379:1353-1362.
160. Exome Aggregation Consortium (ExAC) 2018 [Consultado 2018 diciembre 18]. Disponible en: <http://exac.broadinstitute.org>
161. IGSR: The International Genome Sample Resource and the 1000 Genomes Project 2018 [Consultado 2018 diciembre 18]. Disponible en: <http://www.internationalgenome.org>
162. The Human Gene Mutation Database (HGMD®) 2018 [Consultado 2018 diciembre 18]. Disponible en: <http://www.hgmd.cf.ac.uk/>
163. CentoMD® 2018 [Consultado 2018 diciembre 18]. Disponible en: <https://www.centomd.com/>
164. Genome 2018 [Consultado 2018 diciembre 18]. Disponible en: ftp://ftp.ensembl.org/pub/release-73/fastq/homo_sapiens/dna/Homo_sapiens.GRCh37.73.dna.toplevel.fa.gz
165. dbSNP Short Genetic Variations 2018 [Consultado 2018 diciembre 18]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>
166. Salinas-Torres VM, Gallardo-Blanco HL, Salinas-Torres RA, Cerda-Flores RM, Lugo-Trampe JJ, Villarreal-Martínez DZ, et al. Bioinformatic analysis of gene variants from gastroschisis recurrence identifies multiple novel pathogenetic pathways: implication for the closure of the ventral body wall. Int J Mol Sci 2019;20:2295.

167. Hou J, van Leeuwen J, Andrews BJ, Boone C. Genetic network complexity shapes background-dependent phenotypic expression. *Trends Genet* 2018;34:578-586.
168. Boyle EA, Li YI, Pritchard JK. An expanded view of complex traits: from polygenic to omnigenic. *Cell* 2017;169:1177-1186.
169. Chilamakuri CS, Lorenz S, Madoui MA, Vodák D, Sun J, Hovig E, et al. Performance comparison of four exome capture systems for deep sequencing. *BMC Genomics* 2014;15:449.
170. Uys GM, Ramburan A, Loos B, Kinnear CJ, Korkie LJ, Mouton J, et al. Myomegalin is a novel A-kinase anchoring protein involved in the phosphorylation of cardiac myosin binding protein C. *BMC Cell Biol* 2011;12:18.
171. Lai J, Zhou Z, Tang XJ, Gao ZB, Zhou J, et al. A tumor-specific neo-antigen caused by a frameshift mutation in BAP1 is a potential personalized biomarker in malignant peritoneal mesothelioma. *Int J Mol Sci* 2016;17:E739.
172. Snuderl M, Kannan K, Pfaff E, Wang S, Stafford JM, Serrano J, et al. Recurrent homozygous deletion of DROSHA and microduplication of PDE4DIP in pineoblastoma. *Nat Commun* 2018;9:2868.
173. Visel A, Thaller C, Eichele G. GenePaint.org: an atlas of gene expression patterns in the mouse embryo. *Nucleic Acids Res* 2004;32:D552-D556.
174. Deng Y, Hu LS, Lu GX. Expression and identification of a novel apoptosis gene Spata17 (MSRG-11) in mouse spermatogenic cells. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2006;38:37-45.

175. Miyamoto T, Tsujimura A, Miyagawa Y, Koh E, Sakugawa N, Miyakawa H, et al. A single nucleotide polymorphism in SPATA17 may be a genetic risk factor for Japanese patients with meiotic arrest. *Asian J Androl* 2009;11:623-628.
176. Miyamoto T, Koh E, Sakugawa N, Sato H, Hayashi H, Namiki M, et al. Two single nucleotide polymorphisms in PRDM9 (MEISETZ) gene may be a genetic risk factor for Japanese patients with azoospermia by meiotic arrest. *J Assist Reprod Genet* 2008;25:553-557.
177. Schmitt BM, Rudolph KL, Karagianni P, Fonseca NA, White RJ, Talianidis I, et al. High-resolution mapping of transcriptional dynamics across tissue development reveals a stable mRNA-tRNA interface. *Genome Res* 2014;24:1797-1807.
178. Imsland F, Feng C, Boije H, Bed'hom B, Fillon V, Dorshorst B, et al. The Rose-comb mutation in chickens constitutes a structural rearrangement causing both altered comb morphology and defective sperm motility. *PLoS Genet* 2012;8:e1002775.
179. McClintock TS, Glasser CE, Bose SC, Bergman DA. Tissue expression patterns identify mouse cilia genes. *Physiol Genomics* 2008;32:198-206.
180. Stauber M, Weidemann M, Dittrich-Breiholz O, Lobschat K, Alten L, Mai M, et al. Identification of FOXJ1 effectors during ciliogenesis in the foetal respiratory epithelium and embryonic left-right organiser of the mouse. *Dev Biol* 2017;423:170-188.
181. Lizio M, Harshbarger J, Shimoji H, Severin J, Kasukawa T, Sahin S, et al: Gateways to the FANTOM5 promoter level mammalian expression atlas. *Genome Biol* 2015;16:22.

182. Gray PA, Fu H, Luo P, Zhao Q, Yu J, Ferrari A, et al. Mouse brain organization revealed through direct genome-scale TF expression analysis. *Science* 2004;306:2255-2257.
183. Diez-Roux G, Banfi S, Sultan M, Geffers L, Anand S, Rozado D, et al. A high-resolution anatomical atlas of the transcriptome in the mouse embryo. *PLoS Biol* 2011;9:e1000582.
184. Cariolato L, Cavin S, Diviani D. A-kinase anchoring protein (AKAP)-Lbc anchors a PKN-based signaling complex involved in α 1-adrenergic receptor-induced p38 activation. *J Biol Chem* 2011;286:7925-7937.
185. Fong B, Watson PH, Watson AJ. Mouse preimplantation embryo responses to culture medium osmolarity include increased expression of CCM2 and p38 MAPK activation. *BMC Dev Biol* 2007;7:2.
186. Gu L, Zhou J, Tan J, Yang J, Shen T, Jiang H, et al. Association of TLR8 gene rs3764880 polymorphisms with susceptibility and lipid metabolism- and inflammation response-related quantitative traits of ischemic stroke in southern Chinese Han male population. *J Neurol Sci* 2016;370:94-99.
187. Farina A, Peruzzi G, Lacconi V, Lenna S, Quarta S, Rosato E, et al. Epstein-Barr virus lytic infection promotes activation of Toll-like receptor 8 innate immune response in systemic sclerosis monocytes. *Arthritis Res Ther* 2017;19:39.
188. Werler MM. Hypothesis: could Epstein-Barr virus play a role in the development of gastroschisis? *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2010;88:71-75.

189. Liu HY, Hong YF, Huang CM, Chen CY, Huang TN, Hsueh YP. TLR7 negatively regulates dendrite outgrowth through the Myd88-c-Fos-IL-6 pathway. *J Neurosci* 2013;33:11479-11493.
190. Dziadek M, Darling P, Bakker M, Overall M, Zhang RZ, Pan TC, et al. Deposition of collagen VI in the extracellular matrix during mouse embryogenesis correlates with expression of the alpha 3(VI) subunit gene. *Exp Cell Res* 1996;226:302-315.
191. Trueb B, Taeschler S. Expression of FGFR1, a novel fibroblast growth factor receptor, during embryonic development. *Int J Mol Med* 2006;17:617-620.
192. Olsen CL, Hsu PP, Glienke J, Rubanyi GM, Brooks AR. Hedgehog-interacting protein is highly expressed in endothelial cells but down-regulated during angiogenesis and in several human tumors. *BMC Cancer* 2004;4:43.
193. Byrd N, Becker S, Maye P, Narasimhaiah R, St-Jacques B, Zhang X, et al. Hedgehog is required for murine yolk sac angiogenesis. *Development* 2002;129:361-372.
194. Chan YM, Bönnemann CG, Lidov HG, Kunkel LM. Molecular organization of sarcoglycan complex in mouse myotubes in culture. *J Cell Biol* 1998;143:2033-2044.
195. Ohba Y, Ikuta K, Ogura A, Matsuda J, Mochizuki N, Nagashima K, et al. Requirement for C3G-dependent Rap1 activation for cell adhesion and embryogenesis. *EMBO J* 2001;20:3333-3341.
196. Voss AK, Gruss P, Thomas T. The guanine nucleotide exchange factor C3G is necessary for the formation of focal adhesions and vascular maturation. *Development* 2003;130:355-367.

197. Guillaume R, D'Agati V, Daoust M, Trudel M. Murine Pkd1 is a developmentally regulated gene from morula to adulthood: role in tissue condensation and patterning. *Dev Dyn* 1999;214:337-348.
198. Garcia-Gonzalez MA, Outeda P, Zhou Q, Zhou F, Menezes LF, Qian F, et al. Pkd1 and Pkd2 are required for normal placental development. *PLoS One* 2010;5:e12821.
199. Sun X, Fu X, Li J, Xing C, Frierson HF, Wu H, et al. Deletion of atbf1/zfhx3 in mouse prostate causes neoplastic lesions, likely by attenuation of membrane and secretory proteins and multiple signaling pathways. *Neoplasia* 2014;16:377-389.
200. Dziadek MA, Andrews GK. Tissue specificity of alpha-fetoprotein messenger RNA expression during mouse embryogenesis. *EMBO J* 1983;2:549-554.
201. Saller DN Jr, Canick JA, Palomaki GE, Knight GJ, Haddow JE. Second-trimester maternal serum alpha-fetoprotein, unconjugated estriol, and hCG levels in pregnancies with ventral wall defects. *Obstet Gynecol* 1994;84:852-855.
202. Sakata N, Kaneko S, Ikeno S, Miura Y, Nakabayashi H, Dong XY, et al. TGF- β signaling cooperates with AT motif-binding factor-1 for repression of the α -fetoprotein promoter. *J Signal Transduct* 2014;2014:970346.
203. Jain M, Bhat GP, Vijayraghavan K, Inamdar MS. Rudhira/BCAS3 is a cytoskeletal protein that controls Cdc42 activation and directional cell migration during angiogenesis. *Exp Cell Res* 2012;318:753-767.

204. Siva K, Inamdar MS. Rudhira is a cytoplasmic WD40 protein expressed in mouse embryonic stem cells and during embryonic erythropoiesis. *Gene Expr Patterns* 2006;6:225-234.
205. Määttä A, DiColandrea T, Groot K, Watt FM. Gene targeting of envoplakin, a cytoskeletal linker protein and precursor of the epidermal cornified envelope. *Mol Cell Biol* 2007;21:7047-7053.
206. Sevilla LM, Nachat R, Groot KR, Klement JF, Uitto J, Djian P, et al. Mice deficient in involucrin, envoplakin, and periplakin have a defective epidermal barrier. *J Cell Biol* 2007;179:1599-1612.
207. Abdul-Wahid A, Huang EH, Cydzik M, Bolewska-Pedyczak E, Gariépy J. The carcinoembryonic antigen IgV-like N domain plays a critical role in the implantation of metastatic tumor cells. *Mol Oncol* 2014;8:337-350.
208. Eissa A, Diamandis EP. Human tissue kallikreins as promiscuous modulators of homeostatic skin barrier functions. *Biol Chem* 2008;389:669-680.
209. Oikonomopoulou K, DeAngelis RA, Chen H, Diamandis EP, Hollenberg MD, Ricklin D, et al. Induction of complement C3a receptor responses by kallikrein-related peptidase 14. *J Immunol* 2013;191:3858-3866.
210. Ventruto V, Stabile M, Lonardo F, Esposito G, Savanelli A, Orfeo L, et al. Gastroschisis in two sibs with abdominal hernia in maternal grandfather and greatgrandfather. *Am J Med Genet* 1985;21:405-407.
211. Hjalt TA, Amendt BA, Murray JC. PITX2 regulates procollagen lysyl hydroxylase (PLOD) gene expression: implications for the pathology of Rieger syndrome. *J Cell Biol* 2001;152:545-552.

212. Rowbotham SE, Illingworth NA, Daly AK, Veal GJ, Boddy AV. Role of UDP-glucuronosyltransferase isoforms in 13-cis retinoic acid metabolism in humans. *Drug Metab Dispos* 2010;38:1211-1217.
213. Cormier S, Vandormael-Pournin S, Babinet C, Cohen-Tannoudji M. Developmental expression of the Notch signaling pathway genes during mouse preimplantation development. *Gene Expr Patterns* 2004;4:713-717.
214. Guo G, Huss M, Tong GQ, Wang C, Li Sun L, Clarke ND, et al. Resolution of cell fate decisions revealed by single-cell gene expression analysis from zygote to blastocyst. *Dev Cell* 2010;18:675-685.
215. Tang F, Barbacioru C, Nordman E, Bao S, Lee C, Wang X, et al. Deterministic and stochastic allele specific gene expression in single mouse blastomeres. *PLoS One* 2011;6:e21208.
216. Redmond LC, Dumur CI, Archer KJ, Haar JL, Lloyd JA. Identification of erythroid-enriched gene expression in the mouse embryonic yolk sac using microdissected cells. *Dev Dyn* 2008;237:436-446.
217. Sutherland AE, Calarco PG, Damsky CH. Developmental regulation of integrin expression at the time of implantation in the mouse embryo. *Development* 1993;119:1175-1186.
218. Wu JE, Santoro SA. Complex patterns of expression suggest extensive roles for the alpha 2 beta 1 integrin in murine development. *Dev Dyn* 1994;199:292-314.
219. Ong K, Horsfall W, Conway EM, Schuh AC. Early embryonic expression of murine coagulation system components. *Thromb Haemost* 2000;84:1023-1030.

220. Tamplin OJ, Cox BJ, Rossant J. Integrated microarray and ChIP analysis identifies multiple Foxa2 dependent target genes in the notochord. *Dev Biol* 2011;360:415-425.
221. Thomas T, Voss AK, Petrou P, Gruss P. The murine gene, Traube, is essential for the growth of preimplantation embryos. *Dev Biol* 2000;227:324-342.
222. Wright TJ, Hatch EP, Karabagli H, Karabagli P, Schoenwolf GC, Mansour SL. Expression of mouse fibroblast growth factor and fibroblast growth factor receptor genes during early inner ear development. *Dev Dyn* 2003;228:267-272.
223. Stark KL, McMahon JA, McMahon AP. FGFR-4, a new member of the fibroblast growth factor receptor family, expressed in the definitive endoderm and skeletal muscle lineages of the mouse. *Development* 1991;113:641-651.
224. Magdaleno S, Jensen P, Brumwell CL, Seal A, Lehman K, Asbury A, et al. BGEM: an in situ hybridization database of gene expression in the embryonic and adult mouse nervous system. *PLoS Biol* 2006;4:e86.
225. Siyanov V, Baltz JM. NHE1 is the sodium-hydrogen exchanger active in acute intracellular pH regulation in preimplantation mouse embryos. *Biol Reprod* 2013;88:157.
226. Barr KJ, Garrill A, Jones DH, Orlowski J, Kidder GM. Contributions of Na⁺/H⁺ exchanger isoforms to preimplantation development of the mouse. *Mol Reprod Dev* 1998;50:146-153.
227. Nakamura K, Stokes JB, McCray PBJr. Endogenous and exogenous glucocorticoid regulation of ENaC mRNA expression in developing kidney and lung. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002;283:C762-C772.

228. Schaapveld RQ, Schepens JT, Bächner D, Attema J, Wieringa B, Jap PH, et al. Developmental expression of the cell adhesion molecule-like protein tyrosine phosphatases LAR, RPTPdelta and RPTPsigma in the mouse. *Mech Dev* 1998;77:59-62.
229. Kurasawa M, Sato N, Matsuda A, Koshida S, Totsuka T, Obinata T. Differential expression of C-protein isoforms in developing and degenerating mouse striated muscles. *Muscle Nerve* 1999;22:196-207.
230. Giudice J, Xia Z, Wang ET, Scavuzzo MA, Ward AJ, Kalsotra A, et al. Alternative splicing regulates vesicular trafficking genes in cardiomyocytes during postnatal heart development. *Nat Commun* 2014;5:3603.
231. Hou J, van Leeuwen J, Andrews BJ, Boone C. Genetic network complexity shapes background-dependent phenotypic expression. *Trends Genet* 2018;34:578-586.
232. Boyle EA, Li YI, Pritchard JK. An expanded view of complex traits: from polygenic to omnigenic. *Cell* 2017;169:1177-1186.
233. Chakravorty S, Hegde M. Inferring the effect of genomic variation in the new era of genomics. *Hum Mutat* 2018;39:756-773.
234. O’Rahilly R, Müller F. *Human Embryology and Teratology*. 3er edición. New York: Wiley-Liss, 2001.
235. Rittler M, Vauthay L, Mazzitelli N. Gastroschisis is a defect of the umbilical ring: evidence from morphological evaluation of stillborn fetuses. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2013;97:198-209.
236. Brewer S, Williams T. Loss of AP-2alpha impacts multiple aspects of ventral body wall development and closure. *Dev Biol* 2004;267:399-417.

237. Mekonen HK, Hikspoors JP, Mommen G, Köhler SE, Lamers WH. Development of the ventral body wall in the human embryo. *J Anat* 2015;227:673-685.
238. Gasser RF. Evidence that some events of mammalian embryogenesis can result from differential growth, making migration unnecessary. *Anat Rec B New Anat* 2006;289:53-63.
239. Singh J, Hussain F, Decuzzi P. Role of differential adhesion in cell cluster evolution: from vasculogenesis to cancer metastasis. *Comput Methods Biomech Biomed Engin* 2015;18:282-292.
240. Goody MF, Sher RB, Henry CA. Hanging on for the ride: adhesion to the extracellular matrix mediates cellular responses in skeletal muscle morphogenesis and disease. *Dev Biol* 2015;401:75-91.
241. Bargy F, Beaudoin S. Comprehensive developmental mechanisms in gastroschisis. *Fetal Diagn Ther* 2014;36:223-330.
242. Shearman RM, Burke AC. The lateral somitic frontier in ontogeny and phylogeny. *J Exp Zool B Mol Dev Evol* 2009;312:603-612.
243. Streeter GL. Focal deficiencies in fetal tissues and their relation to intra-uterine amputation. *Contrib Embryol Carnegie Inst* 1930;22:1-44.
244. Bamforth JS. Amniotic band sequence: Streeter's hypothesis reexamined. *Am J Med Genet* 1992;44:280-287.
245. Folkerth RD, Habbe DM, Boyd TK, McMillan K, Gromer J, Sens MA, et al. Gastroschisis, destructive brain lesions, and placental infarction in the second trimester suggest a vascular pathogenesis. *Pediatr Dev Pathol* 2013;16:391-396.

246. Frascoli M, Jeanty C, Fleck S, Moradi PW, Keating S, Mattis AN, et al. Heightened immune activation in fetuses with gastroschisis may be blocked by targeting IL-5. *J Immunol* 2016;196:4957-4966.
247. Kalache KD, Bierlich A, Hammer H, Bollmann R. Is unexplained third trimester intrauterine death of fetuses with gastroschisis caused by umbilical cord compression due to acute extra-abdominal bowel dilatation? *Prenat Diagn* 2002;22:715-717.
248. Luton D, de Lagausie P, Guibourdenche J, Oury J, Sibony O, Vuillard E, et al. Effect of amnioinfusion on the outcome of prenatally diagnosed gastroschisis. *Fetal Diagn Ther* 1999;14:152-155.
249. Weinmaster G, Roberts VJ, Lemke G. A homolog of *Drosophila* Notch expressed during mammalian development. *Development* 1991;113:199-205.
250. Schmidts M, Frank V, Eisenberger T, Al Turki S, Bizet AA, Antony D, et al. Combined NGS approaches identify mutations in the intraflagellar transport gene IFT140 in skeletal ciliopathies with early progressive kidney Disease. *Hum Mutat* 2013;34:714-724.
251. Ryan AK, Blumberg B, Rodriguez-Esteban C, Yonei-Tamura S, Tamura K, Tsukui T, et al. *Pitx2* determines left-right asymmetry of internal organs in vertebrates. *Nature* 1998;394:545-551.
252. Hikspoors JPJM, Peeters MMJP, Mekonen HK, Kruepunga N, Mommen GMC, Cornillie P, et al. The fate of the vitelline and umbilical veins during the development of the human liver. *J Anat* 2017;231:718-735.
253. Ramsdell AF, Yost HJ. Molecular mechanisms of vertebrate left-right development. *Trends Genet* 1998;14:459-465.

CAPÍTULO XI: Resumen autobiográfico

RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO

Víctor Michael Salinas Torres

Candidato para el Grado de

Doctor en medicina

Tesis: ANÁLISIS DE EXOMA EN DOS FAMILIAS NUCLEARES CON GASTROSQUISIS RECURRENTE: ESTUDIO PILOTO PARA LA IDENTIFICACIÓN DE GENES CANDIDATOS

Campo de Estudio: Ciencias Médicas

Biografía:

Datos Personales: Nacido en Los Mochis, Sinaloa el 07 de junio de 1981, hijo de Dr. C. Rafael Atanasio Salinas Pérez y Lic. Rosa María Torres Meléndez.

Educación:

Licenciatura: Egresado de la Universidad Autónoma de Sinaloa, Médico Cirujano en 2007 (DGP 5196387). Posgrado: Egresado de la Universidad de Guadalajara, Especialidad en Genética Médica en 2013 (DGP 8344334).

Experiencia profesional:

Personal Profesional No Docente de Tiempo Completo de la Universidad Autónoma de Nuevo León desde 2018, Colaborador en el Departamento de Genética de la Facultad de Medicina y Hospital Universitario “José Eleuterio González” desde 2018. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores CONACYT desde 2016 (actualmente Investigador Nacional Nivel I, 2019-2021).