

## **CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y GENÉTICA DEL SÍNDROME DE SMITH LEMLI OPITZ EN CUBA**

**ENTIDAD EJECUTORA PRINCIPAL:** Departamento de Genética Médica,  
Hospital Universitario Camilo Cienfuegos, Sancti Spíritus

**AUTORES PRINCIPALES:** Diana Martín García, Ángel A. Aquino Perna

**COLABORADORES:** Miguel Rodríguez Vázquez, Lídice Peraza Cruz, Estela Morales Peralta (Centro Nacional de Genética Médica), Alina García García (Hospital Pediátrico William Soler), Norma de León Ojeda (Hospital Pediátrico William Soler), Miladis Orraca Castillo (Centro de Genética Médica de Pinar del Río), Manuela Herrera Martínez (Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara), Gretsly Arcas Ermeso (Centro de Genética Médica de Villa Clara), Ana Esther Algora Hdez (Centro de Genética Médica de Villa Clara), Alicia Martínez de Santelices (Centro Nacional de Genética Médica), Araceli Lantigua Cruz (Centro Nacional de Genética Médica), Sonia González Sosa (Centro de Genética Médica de Cienfuegos), Vicente Fardales Macías (Universidad de Ciencias Médicas de Sancti Spíritus)

**AUTORA PARA LA CORRESPONDENCIA:**

Diana Martín García

Centro Provincial de Genética Médica

Frank País 352 e/ Brigadier Reeve y Bartolomé Masó, Sancti Spíritus CP 60100

Teléf. (41) 336306, (41) 326936 (trabajo), (41) 331952 (particular)

E.mail: [dianamartin.ssp@infomed.sld.cu](mailto:dianamartin.ssp@infomed.sld.cu)

**RESUMEN:**

El Smith Lemli Opitz (SLO) es un síndrome malformativo, debido a una deficiencia de la enzima 7-dehidrocolesterol (7DHC) reductasa que cataliza la última reacción de síntesis de colesterol, lo que provoca una deficiencia de este metabolito y un incremento de su precursor, el 7DHC, cuya detección es la clave para el diagnóstico definitivo, lo cual también puede realizarse por la identificación de dos mutaciones en el gen DHCR7. El diagnóstico es esencial para el asesoramiento genético incluyendo el tratamiento con dietas ricas en colesterol. Antes del 2001 no existían en Cuba evidencias de estudios sobre esta enfermedad, no se disponía de la tecnología requerida para el diagnóstico y en consecuencia los pacientes y sus familiares no se beneficiaban de los avances alcanzados a nivel mundial; lo cual sirvió de justificación para desarrollar un estudio nacional entre los años 2001 y 2011 (y posteriormente generalizado), con el propósito de caracterizar fenotípica y genéticamente a los pacientes cubanos con SLO y evaluar la correlación entre los fenotipos clínico y bioquímico y el genotipo DHCR7. Su novedad científica consiste en que permitió hacer una exhaustiva caracterización del fenotipo clínico en 21 pacientes (un amplio grupo si se considera la rareza de la enfermedad) cuyo diagnóstico fue posible por la combinación de acciones capacitantes, pesquisa por distintas vías y colaboración multidisciplinaria, interinstitucional e intersectorial, así como la aplicación de estudios bioquímicos, que junto a la implementación del análisis de algunas mutaciones en el gen DHCR7 permite no solo la confirmación de la enfermedad en pacientes con sospecha clínica, sino también la posibilidad de ofrecer un asesoramiento genético certero con nuevas opciones reproductivas y de tratamiento. Además es el primer estudio molecular del SLO en Cuba (y de pacientes de origen hispano el primero que se publica). Sus principales aportes teóricos radican en mostrar elementos a favor del amplio espectro fenotípico del

SLO y la gran heterogeneidad alélica en el gen DHCR7 al encontrarse una mutación no reportada con anterioridad; el posible efecto fundador de la mutación T93M en Cuba; la interacción génica como probable causa de la holoprosencefalia (HPE) en el SLO y la correlación existente entre el genotipo y los fenotipos bioquímico y clínico. También la investigación reporta beneficios prácticos porque permitió elevar el número de pacientes con sospecha clínica; la aplicación en Cuba de un método bioquímico que permite la confirmación del diagnóstico, piedra angular del asesoramiento genético, de lo que se derivó la posibilidad de tratamiento a los enfermos con alimentos ricos en colesterol para lo cual se incluyó en el Dietario Médico Nacional la dieta 39-ES. A lo anterior se suma la introducción en el país de técnicas para la caracterización de mutaciones en el gen DHCR7 que permite ofrecer el diagnóstico prenatal como una nueva opción reproductiva preventiva para parejas de riesgo (lo cual ya se realizó en una oportunidad en el propio país), así como el estudio de portadores a familiares de enfermos y las parejas de estos y por último el establecimiento de un algoritmo para el diagnóstico y el asesoramiento genético de la enfermedad que actualmente se lleva a cabo en Cuba. Resultados parciales de esta investigación han sido presentados en numerosos eventos nacionales e internacionales y publicados en revistas nacionales (6) y la Am J Med Genet (2) y recibió el Premio Anual de la Salud Nacional en el 2012 en la categoría de Investigación Aplicada; además el método de diagnóstico basado en la cromatografía de capa fina empleado en este estudio recibió Premio Provincial Academia de Ciencias en el 2002.

#### **COMUNICACIÓN CORTA DEL RESULTADO:**

##### **Abreviaturas utilizadas:**

0: mutación nula

7DHC: 7-dehidrocolesterol

ARMS: sistema de amplificación refractaria de mutaciones, del inglés amplification refractory mutation system

CCF: cromatografía de capa fina

CG/EM: cromatografía de gases/espectrometría de masa

CPGM-SS: Centro Provincial de Genética Médica de Sancti Spíritus

DHCR7: gen que codifica para la enzima 7-dehidrocolesterol reductasa (7DHCR)

PCR: reacción en cadena de la polimerasa, del inglés polymerase chain reaction

RFLP: polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción, del inglés restriction fragment length polymorphism

SLO: Smith Lemli Opitz

SNPs: polimorfismos de un único nucleótido, del inglés single nucleotide polymorphisms

TM: mutación transmembranal, del inglés transmembranal mutation

**Introducción:** El síndrome de Smith Lemli Opitz (SLO) es una enfermedad genética, de herencia autosómica recesiva, caracterizada por retraso mental y malformaciones congénitas <sup>(1)</sup>. Resulta de una deficiencia de la enzima 7-dehidrocolesterol (7DHC) reductasa que cataliza la última reacción en la síntesis del colesterol de Kandutsch-Russell, por lo que se caracteriza por bajos niveles de colesterol e incrementados del precursor 7DHC <sup>(2-6)</sup>. El diagnóstico definitivo tanto post como prenatal se basa en la demostración del incremento del 7DHC, generalmente por cromatografía de gases/espectrometría de masa (CG/EM) <sup>(3-6)</sup>, y/o la identificación de dos mutaciones en el gen DHCR7 entre las más de 150 conocidas <sup>(7)</sup>. El tratamiento consiste en el aporte de colesterol fundamentalmente a través de la dieta que produce una mejoría de la calidad de vida <sup>(8)</sup>. La frecuencia del SLO es de 1/10 000 a 1/70 000 nacidos vivos en poblaciones caucásicas, por lo que se incluye entre las enfermedades de baja prevalencia <sup>(9)</sup>. Los pacientes con estas enfermedades sufren dificultades relacionadas con su rareza, por lo que la comunidad internacional estimula la creación de grupos y centros expertos encargados de la investigación, el desarrollo de nuevos procedimientos diagnósticos y terapéuticos y la actualización de conocimientos de los restantes profesionales para mejorar la calidad de la atención médica <sup>(10,11)</sup>. A pesar de los avances en el conocimiento del SLO en el mundo, de sus beneficios para los pacientes y familiares y de las políticas dirigidas al estudio de las enfermedades de baja prevalencia, en Cuba no existían evidencias de estudios científicos sobre la misma y el diagnóstico continuaba siendo únicamente clínico, por no disponerse en el sistema de salud de la tecnología de laboratorio necesaria. Lo anterior sirvió de justificación para la formación en el Centro Provincial de Genética Médica de Sancti Spíritus (CPGM-SS) de un grupo de especialistas dedicados a la investigación del síndrome SLO en el país.

### **Objetivos:**

- 1- Caracterizar el fenotipo bioquímico y clínico de los pacientes cubanos con Smith Lemli Opitz,
- 2- Caracterizar genéticamente el síndrome de Smith Lemli Opitz en Cuba y
- 3- Correlacionar los fenotipos bioquímico y clínico y el genotipo DHCR7.

### **Material y métodos:**

Se realizó un estudio descriptivo transversal en el periodo comprendido entre enero del 2001 y diciembre del 2011. Inicialmente se establecieron los criterios de diagnóstico clínico a partir de la revisión de la literatura, se capacitaron a profesionales y se realizó una pesquisa clínica en todo el país. A los enfermos con fenotipo clínico sugestivo de SLO se les analizaron los esteroides por CG/EM y/o cromatografía de capa fina (CCF), un método desarrollado y validado en el CPGM-SS <sup>(2)</sup> que recibió Premio Academia de Ciencias a nivel provincial en el 2001. Se consideraron pacientes con SLO los que mostraron un fenotipo bioquímico positivo (incremento del 7DHC), a los que se les realizó la caracterización clínica y genealógica y el estudio del gen DHCR7 por secuenciación y/o PCR-ARMS, PCR-RFLP, que permitió identificar las mutaciones patogénicas y los haplotipos de polimorfismos de un único nucleótido (SNPs) ligados a las mismas y evaluar el posible efecto fundador en Cuba de alguna de ellas. A partir de la caracterización del fenotipo bioquímico y del genotipo DHCR7 se valoró el comportamiento poblacional. Se realizó una correlación entre los fenotipos bioquímico y clínico y el genotipo DHCR7 para lo que se tuvo en cuenta la severidad clínica según el puntaje de Kelley y Hennekam <sup>(3)</sup>, los valores de colesterol y 7DHC determinados por CG/EM y la clasificación de las mutaciones en: sin sentido o nulas (0) y con sentido causantes de sustituciones aminoacídicas en los dominios transmembranales de la enzima o próximos a ellos (TM) <sup>(7)</sup>. Se contó con la colaboración de la Universidad McMaster de Canadá para la realización de los estudios por CG/EM y secuenciación en la primera etapa de la investigación (2001-2004).

### **Resultados y discusión:**

A través la pesquisa se identificaron 77 pacientes vivos con fenotipo sugestivo de SLO y se confirmó el diagnóstico bioquímicamente en 21 (15 varones y seis hembras, en edades entre cero y 34 años); un caso positivo por cada 3,7 analizados, superior a lo reportado en otras investigaciones <sup>(12,13)</sup> y que evidencia la necesidad de estos estudios para el diagnóstico certero teniendo en cuenta el solapamiento fenotípico entre las enfermedades genéticas u otras condiciones debidas a la acción de teratógenos. El peso, la talla y la circunferencia cefálica al nacimiento fueron normales en la mayor parte de los casos pero por debajo del percentil 50 para la edad gestacional, con una declinación postnatal estadísticamente significativa. En el periodo neonatal y la infancia temprana la hipotonía y los trastornos de la alimentación se manifestaron en el 95,2 y 66,6% de los casos, respectivamente. Los dismorfismos craneofaciales presentes en más del 50% fueron: microcefalia, estrechamiento bitemporal, micrognatia, ptosis palpebral, estrabismo, nariz de puente deprimido, punta ancha y narinas en anteversión, rugosidad de arcos alveolares y/o paladar, alteraciones de la erupción dentaria y orejas grandes, bajas y/o en rotación posterior. El acortamiento/implantación proximal del pulgar, la braquidactilia y la clinodactilia de uno o más dedos son las anomalías de las manos más frecuentes, mientras en los pies fueron la deformidad en valgo y la sindactilia 2-3, esta última presente en el 100% de los pacientes aunque con severidad variable. Trece de los 15 varones tienen malformaciones genitales. El

retraso mental o del desarrollo psicomotor y del lenguaje se encontró en la totalidad de los pacientes en que estas características eran evaluables y dentro de éstos el 90% muestra trastornos conductuales. Estos resultados se asemejan a los reportados por otros autores <sup>(9,14-17)</sup>, y por tanto son de gran valor para la sospecha clínica, especialmente la sindactilia 2-3 de los pies que debe ser un signo de alerta incluso en pacientes con fenotipo muy sutil.

Excepto un paciente, los restantes tienen un fenotipo clásico, aunque en 16 clasificado como ligero y en cinco moderado según el puntaje de severidad de Kelley y Hennekam, resultados relacionados con la baja frecuencia de malformaciones viscerales (33,3 %).

Un paciente con un fenotipo clínico y bioquímico ligero presenta un incisivo central único que es una manifestación mínima de holoprosencefalia, defecto raro en el SLO y habitualmente asociado a fenotipos muy severos, lo que sugiere la interacción de otros genes en su aparición <sup>(18)</sup>.

El análisis genealógico demostró existencia de consanguinidad parental en un solo paciente, lo que representa una frecuencia de 4,7 %, que a pesar de ser alta en relación con la población general cubana, se considera muy baja para una enfermedad rara de herencia autosómica recesiva, lo que coincide con los reportes internacionales <sup>(3)</sup>.

El grupo de 21 enfermos tiene un total de 15 hermanos (10 nacidos vivos, cuatro abortos y un óbito fetal), entre los que se esperaban de tres a cuatro enfermos de acuerdo con el modo de herencia. Solo uno de los hermanos, fallecido en el primer año de vida, tenía características clínicas sugestivas de SLO. La diferencia entre la frecuencia de hermanos enfermos observada y la esperada puede obedecer al azar por el pequeño tamaño de la muestra, pero también puede ser una consecuencia de la pérdida prenatal de esos enfermos, ya que las afecciones genéticas se encuentran entre las causas de abortos y óbitos fetales. En diversas publicaciones se refiere una discrepancia similar, que se atribuye a las pérdidas antes del nacimiento o poco tiempo después de este sin que se hubiera llegado a una definición diagnóstica, además de los posibles casos de fenotipo muy ligero no reconocidos <sup>(19)</sup>. En una familia se refirió una tía fallecida del propósito con características fenotípicas similares pero sin evaluación por especialistas de Genética.

La evaluación del comportamiento poblacional permitió conocer que la frecuencia fenotípica del SLO al nacimiento en Cuba calculada para el periodo 1967-2011 (en el que nacieron los enfermos) es de 1/358 897. En varones es de 1/259 858 y en hembras de 1/606 493 nacidos vivos, que representa una proporción entre ambos sexos de 2,4/1, a pesar que en esos años la relación de nacidos vivos varones/hembras fue de 1,07/1 <sup>(20)</sup>. Por tratarse de una enfermedad autosómica recesiva la frecuencia esperada de enfermos es igual para ambos sexos, sin embargo esta discrepancia se ha encontrado también en otras investigaciones y se atribuye a la mayor facilidad para el diagnóstico en los varones por la ocurrencia de malformaciones genitales <sup>(14,19)</sup>.

Por regiones geográficas la mayor frecuencia se encontró en el Centro, seguida del Occidente y Oriente. Investigaciones sobre la composición étnica de la población cubana <sup>(20,21)</sup> muestran que en la región central se encuentra la mayor proporción de personas blancas y de genes de origen europeo; además el hallazgo de un predominio de progenitores de piel blanca (95 %, que no concuerda con la composición general de la población <sup>(20)</sup>), se convierten en evidencias que apoyan las observaciones obtenidas en investigaciones

internacionales de que el SLO es más común en personas de origen caucásico<sup>(6)</sup>.

La frecuencia del alelo recesivo mutado es 0,0017 y la de portadores 0,003394 (0,34 %). La tasa de prevalencia en el año 2011 fue de 0,16 por cada 100 000 habitantes por lo que el SLO es una enfermedad rara en Cuba <sup>(10)</sup>.

Se estudiaron molecularmente 20 pacientes y se identificaron mutaciones patogénicas en el 77,5% de los alelos. En la primera etapa de la investigación, realizada en la Universidad McMaster, se reconocieron mutaciones en todos los alelos (20) porque se empleó la secuenciación del gen; mientras que en la segunda etapa, realizada entre el 2005 y 2011 en el CPGM-SS, se encontraron mutaciones en 11 de los 20 alelos analizados debido a que se utilizaron técnicas específicas para cuatro de ellas. Las mutaciones detectadas fueron: T93M (42,5%), IVS8-1G>C (27,5%) y F302L, V281M y D234Y, cada una con una frecuencia de 2,5%; la última no era conocida con anterioridad. Cuba se ubica como la de mayor frecuencia mundial de T93M, que es 2,5 veces mayor que la reportada en España, probablemente debido al efecto de la deriva genética <sup>(22,23)</sup>.

De los 13 pacientes con las dos mutaciones identificadas, ocho son heterocigotos compuestos T93M/IVS8-1G>C, dos homocigotos para T93M y los tres restantes son heterocigotos compuestos para T93M con F302L, V281M y D234Y. Según la ley de Hardy Weinberg <sup>(23)</sup> la frecuencia de genotipos homocigotos formados por los alelos T93M y IVS8-1G>C está subrepresentada, contrario a lo que ocurre para el genotipo heterocigoto compuesto. Este hallazgo junto a la menor detección del fenotipo en las hembras, la rareza de consanguinidad entre los progenitores de los pacientes y la sospecha de otro miembro de una familia (no hermano) afectado sugieren que la verdadera frecuencia de portadores y de la enfermedad en Cuba es mayor que la encontrada en esta investigación.

El estudio de haplotipos SNPs ligados a las mutaciones patogénicas en el gen DHCR7 muestra el ligamiento entre el haplotipo J y la mutación T93M, lo que sugiere el efecto fundador de dicha mutación en Cuba <sup>(24)</sup>.

En cuanto a la correlación entre los fenotipos bioquímico y clínico y el genotipo DHCR7, a pesar del pequeño número de casos estudiados que constituyen una limitante para el análisis estadístico, los resultados sugieren que la severidad del fenotipo clínico tiene una correlación inversa con los valores de colesterol y directa con los de 7DHC; que las mutaciones del tipo TM (T93M, F302L, V281M y D234Y) en homocigosis o heterocigosis compuesta ocasionan un fenotipo bioquímico menos severo que cuando se encuentran en heterocigosis compuesta con mutaciones nulas (T93M/IVS81G>C) y que los genotipos TM/TM y TM/0 se asocian a un fenotipo clínico de ligero a moderado, aunque más grave en el segundo grupo. No obstante, hay variaciones tanto de la severidad clínica como de los parámetros bioquímicos dentro de cada grupo genotípico y solapamiento de estos entre los grupos genotípicos, lo que sugiere la intervención de otros factores genéticos y/o ambientales. Resultados similares han sido encontrados en otros trabajos <sup>(7,12,15,25,26)</sup>.

### Conclusiones generales:

1. Las semejanzas encontradas entre las características clínicas de los pacientes cubanos con SLO respecto a las reportadas en otras series de casos

de orígenes étnicos diferentes permiten afirmar que los criterios clínicos empleados para su pesquisa, tanto en las instituciones de atención a personas con discapacidad intelectual como en los servicios de Genética Clínica, son útiles para elevar la sospecha de la enfermedad, que de conjunto con el estudio del fenotipo bioquímico por CCF, representa una alternativa válida para el diagnóstico definitivo del SLO en Cuba.

2. El comportamiento de la frecuencia fenotípica por sexos, caracterizado por un notable predominio de varones y la presencia de malformaciones genitales en un alto porcentaje de ellos (atribuida al defecto de la síntesis de testosterona secundario al déficit de colesterol), permiten plantear que el SLO tiene una herencia influida por el sexo.

3. La alta frecuencia de la mutación T93M, con un posible efecto de fundador en Cuba, y el reconocimiento de la heterogeneidad genética en el locus DHCR7, así como la existencia de otra u otras variantes mutacionales aún no identificadas tiene implicaciones en futuras estrategias de caracterización molecular del SLO en el país.

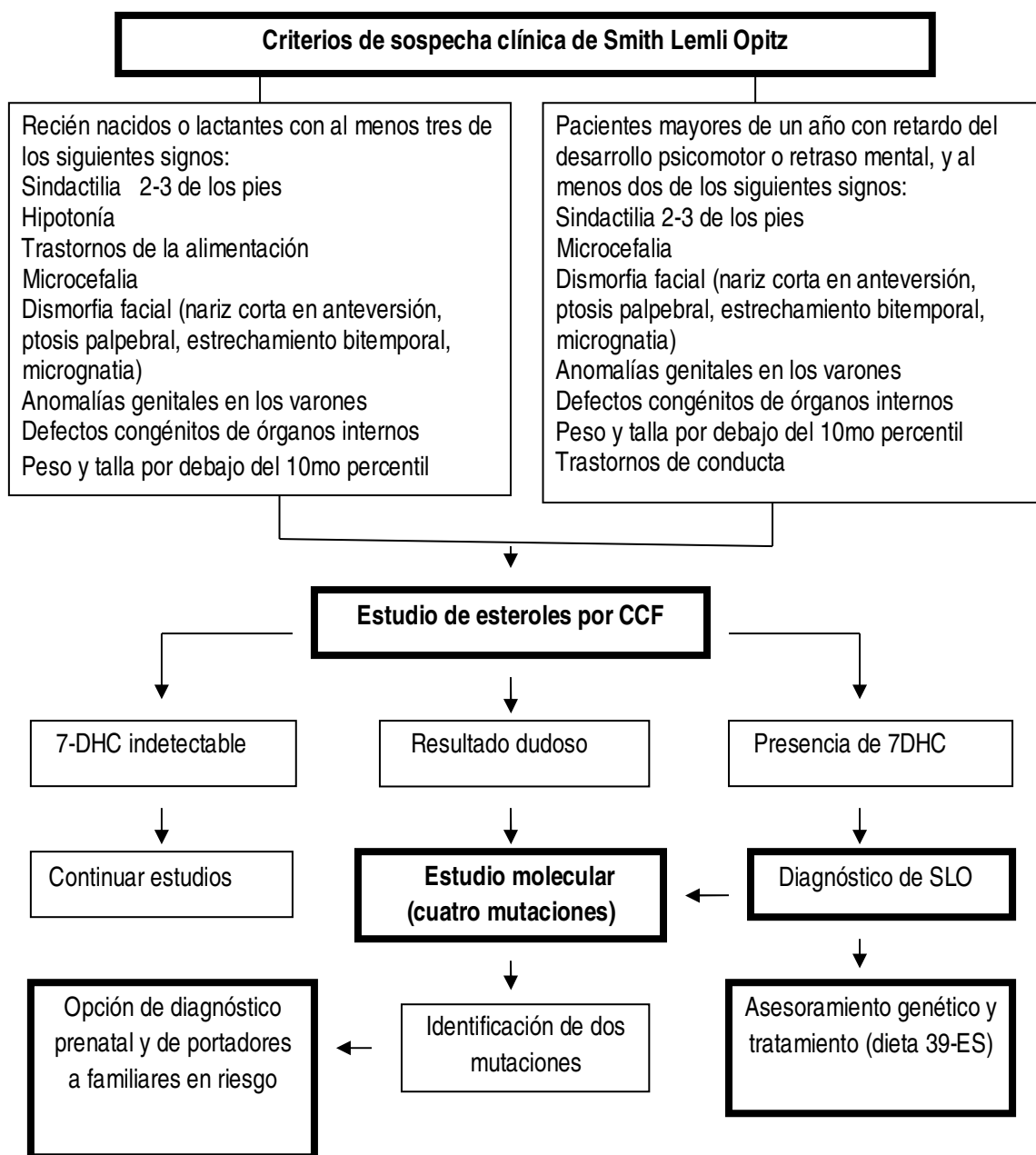
4. Los resultados sugieren, a pesar del pequeño número de pacientes estudiados, que el genotipo DHCR7 determina en parte el comportamiento de los parámetros bioquímicos colesterol y 7DHC, el primero de los cuales se relaciona de forma inversa y el segundo de manera directa con la severidad del fenotipo clínico evaluado a través del puntaje de Kelley y Hennekam.

**Figura 1:** Fenotipo del SLO. A: cara típica, B: sindactilia 2-3 de los pies, C: genitales ambiguos





**Figura 2.** Algoritmo para el diagnóstico y asesoramiento genético del síndrome de Smith Lemli Opitz en Cuba



**BIBLIOGRAFÍA:**

1. OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man). [cited 2014, may, 12]. Available from: <http://www.ncbi.nih.gov/omim/>
2. Diagnóstico del síndrome de Smith Lemli Opitz por cromatografía de capa fina. Rev Cub Genét Comunit. 2012;6(2):47-9. (<http://bvs.sld.cu/revistas/rcgc/v6n2/090212.pdf>)
3. Kelley RI, Hennekam R. The Smith Lemli Opitz syndrome. J Med Genet. 2000;37:321-35.

4. Porter FD. Smith Lemli Opitz syndrome: pathogenesis, diagnosis and management. *Eur J Hum Genet.* 2008;16:535-41.
5. DeBarber AE, Eroglu Y, Merkens LS, Pappu AS, Steiner RD. Smith Lemli Opitz syndrome. *Expert Rev Mol Med.* 2011;13:e24. doi:10.1017/S146239941100189X.
6. Porter FD, Herman GE. Malformation syndromes caused by disorders of cholesterol synthesis. *J Lipid Res.* 2011;52:6-34.
7. Waterham HR, Hennekam RCM. Mutational spectrum of Smith Lemli Opitz syndrome. *Am J Med Genet.* 2012;160C(4):263-84.
8. Svoboda MD, Christie JM, Yasemen-Eroglu Y, Freeman KA, Steiner RD. Treatment of Smith Lemli Opitz syndrome and other sterol disorders. *Am J Med Genet.* 2012;160C(4):285-94.
9. Nowaczyk MJM, Irons M. Smith Lemli Opitz syndrome: phenotype, natural history and epidemiology. *Am J Med Genet.* 2012;160C(3). [cited 2012, oct, 15]. Available from: <http://hinari-gw.who.int/whalecomonlinelibrary.wiley.com/whalecom0/doi/10.1002/ajmg.c.31346/full>.
10. Dodge JA, Chigladze T, Donadieu J, Grossman Z, Ramos F, Serlicorni A, et al. The importance of rare diseases: from the gene to society. *Arch Dis Child.* 2011;96:791-2.
11. Editorial. The needs of the few. *Nature.* 2010;466:160. [cited 2012, dec, 15]. Available from: <http://www.nature.com/nature/journal/v466/n7303/full/466160a.html>
12. Cunniff C, Kratz L, Moser A, Natowicz M, Kelley R. Clinical and biochemical spectrum of patients with RSH/Smith Lemli Opitz syndrome and abnormal cholesterol metabolism. *Am J Med Genet.* 1997;68:263-9.
13. Al-Owain M, Imtiaz F, Shuaib T, Edrees A, Al-Amoudi M, Sakati N, et al. Smith Lemli Opitz syndrome among Arabs. *Clin Genet.* 2012;82(2):165-72.
14. Ryan AK, Bartlett K, Clayton P, Eaton S, Mills L, Donnai D, et al. Smith Lemli Opitz syndrome: a variable clinical and biochemical phenotype. *J Med Genet.* 1998;35:558-65.
15. Ciara E, Nowaczyk MJM, Witsch-Baumgartner M, Malunowicz E, Popowska E, Jezela-Stanek A, et al. DHCR7 mutations and genotype-phenotype correlation in 37 Polish patients with Smith Lemli Opitz syndrome. *Clin Genet.* 2004;66:517-24.
16. Goldenberg A, Chevy F, Bernard C, Wolf C, Cormier-Daire V. [Circunstancias clínicas para el diagnóstico del síndrome de Smith Lemli Opitz y tentativa de correlación fenotipo-ghenotipo: a propósito de 45 casos] When should Smith-Lemli-Opitz syndrome be considered? A serie of 45 cases. *Arch Pédiatr.* 2003;10:4-10.
17. Diaz-Stransky A, Tierney E. Cognitive and behavioral aspects of Smith Lemli Opitz syndrome. *Am J Med Genet.* 2012;160C(4):295-300.
18. ¿Interacción génica como causa de holoprosencefalia en el síndrome de Smith-Lemli-Opitz? A propósito de un caso. *Rev Cub Genét Comunit.* 2013;7(1):43-6. (<http://bvs.sld.cu/revistas/rcgc/v7n1/070113.pdf>)
19. Jesela-Stanek A, Ciara E, Malunowicz E, Chrzanowskak K, Latos-Bielenska A, Krajewska-Walasek M. Differences between predicted and stablished diagnosis of Smith Lemli Opitz syndrome in the Polish population: underdiagnosis or loss of affected fetuses? *J Inherit Metab Dis.* 2010;33 Suppl 3:S241-8.
20. Oficina Nacional de Estadística e Información (ONEI). Accedido el 13 de mayo de 2014. Disponible en: <http://www.onei.cu>

21. Marcheco-Teruel B, Parra EJ, Fuentes-Smith E, Salas A, Buttenschøn HN, Demontis D, et al. Cuba: Exploring the history of admixture and the genetic basis of pigmentation using autosomal and uniparental markers. *PLoS Genet.* 2014;10(7):e1004488.
22. Witsch-Baumgartner M, Schwentner I, Gruber M, Berlain P, Bertranpetit J, Bierth E, et al. Age and origin of major Smith Lemli Opitz syndrome (SLOS) mutations in European Populations. *J Med Genet.* 2008;45(4):200-9.
23. Lantigua-Cruz A. Los genes en las poblaciones humanas. En: Bello-Alvarez D. editor. *Introducción a la Genética Médica.* 2da ed. La Habana: Ciencias Médicas; 2011. p.271-86.
24. Nowaczyk M, Martín-García D, Aquino-Perna A, Rodríguez-Vázquez M, McCaughey D, Eng B, et al. Founder effect for the T93M DHCR7 mutation in Smith Lemli Opitz syndrome. *Am J Med Genet.* 2004;125A(2):173-6.
25. Witsch-Baumgartner M, Fitzky BU, Ogorelkova M, Kraft HG, Mobius FF, Glossmann H, et al. Mutational spectrum and genotype-phenotype correlation in 84 patients with Smith Lemli Opitz syndrome. *Am J Hum Genet.* 2000;66:402-12.
26. Yu H, Lee MH, Starck L, Elias ER, Irons M, Salen G, et al. Spectrum of  $\Delta 7$ -dehydrocholesterol reductase mutations in patients with the Smith Lemli Opitz (RSH) syndrome. *Hum Mol Genet.* 2000;9(9):1385-91.