

Síndrome de Alagille por delección del gen *JAG1*. Una causa poco frecuente

Alagille syndrome associated to *JAG1* gene deletion. An unusual etiology

Diana Avila-Jaque^a, Catherine Díaz^b, Rosa Pardo^c

^aSección de Genética, Hospital San Juan de Dios, Santiago, Chile.

^bUnidad de Genética, Hospital Roberto del Río, Santiago, Chile.

^cSección de Genética y Unidad de Neonatología, Hospital Clínico Universidad de Chile, Santiago, Chile.

Recibido: 22 de mayo de 2023; Aceptado: 09 de febrero de 2024

¿Qué se sabe del tema que trata este estudio?

El síndrome de Alagille es un síndrome genético autosómico dominante, asociado a mutaciones en los genes *JAG1* y *NOTCH2*, que se manifiesta habitualmente con colestasia, anomalías cardíacas, oculares, esqueléticas, vasculares, renales y rasgos faciales particulares, que requiere manejo multidisciplinario.

¿Qué aporta este estudio a lo ya conocido?

Se describen las características clínicas y paraclínicas de una paciente diagnosticada con síndrome de Alagille, causado por una variante de número de copias (arr[GRCh37] 20p12.2(10414643_10792802)x1), que incluye la delección de todo el gen *JAG1*, y que no ha sido reportada previamente en la literatura, constituyéndose así este reporte en una herramienta relevante para el análisis y la interpretación de resultados de estudios genéticos.

Resumen

El síndrome de Alagille (SALG) es una enfermedad autosómica dominante y multisistémica, que suele manifestarse con colestasia, anomalías cardíacas, oculares, esqueléticas, vasculares, renales y rasgos faciales particulares. La mayoría de los casos se deben a variantes en el gen *JAG1*, siendo muy pocas de ellas delecciones completas del gen. **Objetivo:** Contribuir a la delimitación fenotípica e interpretación de una microdelección no descrita previamente en la literatura en el cromosoma 20. **Caso Clínico:** Paciente de sexo femenino, a quién a los 4 meses de vida se le detectó un soplo cardíaco. El ecocardiograma evidenció estenosis de ramas pulmonares, lo que, junto con el hallazgo de una frente prominente en el examen físico, motivó su derivación a genética clínica. Debido a la sospecha de SALG, se realizaron estudios complementarios que revelaron vértebras en mariposa y un panel genético que identificó una delección patogénica en heterocigosis, abarcando toda la secuencia codificante del gen *JAG1*. Para descartar una delección más extensa, se realizó un cariotipo molecular confirmándose una microdelección patogénica en el cromosoma 20 de 378 kb (arr[GRCh37] 20p12.2(10414643_10792802)x1). **Conclusiones:** La secuenciación con panel dirigido y posterior confirmación con microarreglo para cariotipo molecular, permitieron identificar y delimitar una microdelección patogénica no reportada previamente en la literatura, la cual incluye el gen *JAG1* completo, en una paciente chilena cuyo fenotipo es concordante con SALG.

Palabras clave:

Síndrome de Alagille;
Gen *JAG1*;
Microdelección
Cromosómica;
Estenosis de Arterias
Pulmonares

Abstract

Alagille syndrome (ALGS) is an autosomal dominant, multisystem disorder that typically presents with cholestasis, cardiac, ocular, skeletal, vascular and renal abnormalities, and distinct facial features. Most cases are due to variants in the *JAG1* gene, with only a small percentage involving a complete gene deletion. **Objective:** to contribute to the phenotype delineation and interpretation of a microdeletion not previously described in the literature on chromosome 20. **Clinical Case:** A 4-month-old female patient was diagnosed with a heart murmur. An echocardiogram revealed pulmonary artery stenosis, which, combined with a prominent forehead observed on physical examination, determined her referral to clinical genetics. Because ALGS was suspected, complementary studies were performed, revealing butterfly vertebrae and a genetic panel identified a pathogenic heterozygous deletion, encompassing the entire coding sequence of the *JAG1* gene. To rule out a more extensive deletion, a chromosome microarray was performed, confirming a pathogenic microdeletion on chromosome 20 of 378 kb (arr[GRCh37] 20p12.2(10414643_10792802)x1). **Conclusions:** A targeted sequencing panel followed by confirmation with a chromosome microarray allowed the identification and delineation of a pathogenic microdeletion not previously reported in the literature, including the complete *JAG1* gene in a Chilean patient whose phenotype is consistent with ALGS.

Keywords:

Alagille Syndrome;
JAG1 Gene;
Chromosome
Microdeletion;
Pulmonary Artery
Stenosis

Introducción

El síndrome de Alagille (SALG) (OMIM #118450) es una enfermedad autosómica dominante, multisistémica y con un fenotipo variable entre los afectados. Tiene una prevalencia estimada de 1 en 30.000 personas de la población general¹. Se caracteriza principalmente por escasez de los ductos biliares, colestasia crónica, anomalías cardíacas, oculares, esqueléticas, vasculares, renales y rasgos faciales específicos (tabla 1)².

Aproximadamente el 95% de los casos de SALG se deben a variantes patogénicas en el gen *JAG1* y 2,5% se relacionan con variantes en el gen *NOTCH2*, que son ligando y receptor, respectivamente, de la vía de señalización NOTCH. Entre los pacientes con variantes en el gen *JAG1*, solo el 13% corresponden a deleciones completas del gen³.

Por otra parte, en aproximadamente el 3% de las personas que cumplen con los criterios clínicos diagnósticos del SALG, aún se desconoce su causa³.

Presentamos el caso clínico de una paciente diagnosticada con SALG, causado por la deleción arr[GRCh37] 20p12.2(10414643_10792802)x1, no reportada previamente en la literatura, la que incluye la deleción de todo el gen *JAG1*.

El objetivo de este reporte es contribuir a la delimitación fenotípica e interpretación de una microdeleción no descrita previamente en la literatura en el cromosoma 20.

Caso Clínico

Paciente de 15 meses, sexo femenino, primera hija de padres sanos, no consanguíneos. Su embarazo fue

controlado y transcurrió sin complicaciones. Nació por parto vaginal a las 40 semanas de edad gestacional, con un peso de 2635 gramos (percentil 2), talla de 48 cm (percentil 8) y perímetro cefálico de 33 cm (percentil 5), de acuerdo con las curvas de Alarcón y Pittaluga⁴ con un score de APGAR de 9-10.

Evolucionó con desarrollo psicomotor normal y no tuvo enfermedades intercurrentes. A los 4 meses de vida se le auscultó un soplo cardíaco en control pediátrico, por lo que fue referida a cardiología. Se realizó un ecocardiograma que reveló estenosis de ramas pulmonares, lo que, sumado al hallazgo de una frente

Tabla 1. Características clínicas del Síndrome de Alagille^{2,9,12,13}

Característica	Frecuencia
Malformaciones cardíacas	75-97%
- Estenosis de ramas de arterias pulmonares (35%)	
- Tetralogía de Fallot (12%)	
- Estenosis de la válvula pulmonar (8%)	
Vértebrae torácicas en mariposa	33-93%
Rasgos faciales distintivos	80-90%
Anomalías oculares	13- 90%
- Embriotoxon posterior (56-90%)	
- Anomalías del disco óptico (76%)	
- Anomalía de Axenfeld (13%)	
Compromiso hepático	75 - 89%
- Colestasia crónica (89%)	
- Escasez de conductos biliares (75%)	
Prurito	45% a 88%
Alteraciones renales	39%
Hemorragias intracraneales y accidentes cerebrovasculares	25%

prominente en el examen físico, motivó su derivación a genética clínica.

En la evaluación realizada por genética, se observaron características como implantación anterior del cabello alta, cejas rectas, ojos hundidos, pabellones auriculares prominentes, puente nasal bajo, perfil nasal convexo con punta bulbosa, columna corta y mentón puntiagudo. Además, se detectó un soplo sistólico en el foco pulmonar durante la auscultación. No se evidenciaron alteraciones en el abdomen, genitales o extremidades.

Ante la sospecha de SALG, se realizaron exámenes complementarios. Las radiografías de columna evidenciaron vértebras D4 y D6 con tendencia morfológica en mariposa, y una osificación incompleta del arco posterior de L5. Las radiografías de las extremidades y la pelvis, así como las ecografías abdominal y renal, no mostraron anomalías. En los análisis de parámetros hormonales, bioquímicos, función hepática y renal, solo se observó una leve elevación de la LDH.

Por la hipótesis diagnóstica principal, se solicitó un panel comercial para defectos cardíacos congénitos y heterotaxia, que incluía los dos genes asociados a SALG (*JAG1* y *NOTCH2*), permitiendo el estudio de variantes puntuales y variantes en el número de copias (CNVs) de los genes analizados, un aspecto relevante para la patología en estudio. Este análisis identificó una microdelección patogénica en heterocigosis que abarcaba toda la secuencia codificante del gen *JAG1*, además de tres variantes heterocigotas de significado incierto en los genes *DNAH11*, *NME8* y *NEK8* (asociados a disquinesia ciliar primaria y nefronoptosis, ambas de herencia autosómica recesiva).

Dado que se identificó una delección completa del gen *JAG1*, y considerando reportes de genes contiguos asociados a patologías que podrían requerir intervenciones adicionales en la paciente, se decidió realizar un estudio más exhaustivo mediante un cariotipo molecular (Affymetrix CytoScan 750K). El array confirmó la presencia de una microdelección patogénica, arr[GRCh37] 20p12.2(10414643_10792802)x1, de aproximadamente 378 kb, que incluía 5 genes: *MKKS*, *SLX4IP*, *JAG1*, *MIR6870*, *LINC01752*. Esto confirmó molecularmente el SALG debido a la delección completa del gen *JAG1*.

La paciente cumplió con tres de los siete criterios clínicos para el diagnóstico de SALG, al presentar estenosis de la rama de las arterias pulmonares, vértebras torácicas en forma de mariposa y rasgos faciales típicos que incluyen ojos hundidos, punta nasal bulbosa y mentón puntiagudo. En los controles posteriores, no se observaron alteraciones en las pruebas de función hepática o renal, tampoco anomalías oftalmológicas ni la presencia de xantomias. Su neurodesarrollo está acorde a la edad.

Se sugirió a los padres realizar un estudio con cariotipo molecular para determinar la posibilidad de ser portadores de CNVs, condición que les conferiría un riesgo de recurrencia del 50% en un nuevo hijo o hija. Sin embargo, por motivos económicos, este estudio no se llevó a cabo.

Discusión

Tradicionalmente, el diagnóstico del SALG se establecía mediante el hallazgo de escasez de conductos biliares en la biopsia hepática y al menos otras tres de las siguientes características clínicas: colestasia crónica, anomalías cardíacas, oculares, esqueléticas y rasgos faciales típicos². Sin embargo, la escasez de conductos biliares se observa solo en el 75% de los casos, pudiendo estar ausente en niños pequeños o desarrollarse durante los primeros 12 meses de vida⁵. Por tanto, la biopsia hepática ya no es un requisito obligatorio para el diagnóstico clínico, sino que se requiere la presencia de al menos tres de las siguientes características: colestasia, anomalías cardíacas (generalmente estenosis de las ramas periféricas de las arterias pulmonares), anomalías oculares (principalmente embriotoxon posterior), anomalías esqueléticas, vasculares, renales o rasgos faciales característicos. Alternativamente, se establece el diagnóstico si se presentan dos criterios junto con un familiar de primer grado con SALG confirmado¹.

El compromiso hepático en el SALG varía ampliamente, desde leves alteraciones bioquímicas hasta colestasia grave, hipertensión portal e insuficiencia hepática que requiere trasplante⁶. Hasta la mitad de los niños con colestasia grave necesitan trasplante antes de la adultez, mientras que en el resto la afección hepática mejora o se estabiliza⁷.

Las malformaciones cardíacas ocurren en el 75-94% de los pacientes con SALG, siendo principalmente estenosis de rama de arterias pulmonares (35%), seguida por la tetralogía de Fallot (12%) y la estenosis de la válvula pulmonar (8%)⁸.

En casi el 90% de los casos de SALG, se observa embriotoxon posterior, una prominencia del anillo de Schwalbe. Además, se han identificado otras anomalías oculares como anomalías de Axenfeld, microcórnea, queratocono, distrofia macular congénita, cámara anterior poco profunda, exotropía y cataratas. También se han observado alteraciones en la retina, aunque el pronóstico visual suele ser favorable⁹.

Entre el 33 y el 93% de los pacientes con SALG tienen vértebras torácicas en mariposa. Otros fenotipos esqueléticos incluyen falanges distales ahusadas y pliegues de flexión digital adicionales¹.

Las anomalías renales afectan al 39% de los pacientes con SALG, siendo la displasia renal la más

común (58,9%). También se han reportado acidosis tubular renal, reflujo vesicoureteral y obstrucción urinaria¹⁰.

Se han documentado hemorragias intracraneales y accidentes cerebrovasculares en alrededor de un 15% de los pacientes, siendo fatales en un 25 a 50% de los casos. En algunos de ellos, la causa serían malformaciones vasculares preexistentes como aneurismas de la arteria basilar, de la cerebral media, Moyamoya y anomalías de la carótida interna. También existen manifestaciones vasculares sistémicas como aneurismas y coartaciones aórticas, estenosis de arterias renales, y anomalías de grandes arterias (aorta, celíaca, mesentérica superior, subclavia)¹¹.

El enfoque inicial de las personas diagnosticadas con SALG debe incluir evaluación por gastroenterología para determinar función hepática y coagulación; cardiología para examen físico y ecocardiografía; oftalmología que debe descartar alteraciones de cámara anterior; traumatología para determinar compromiso esquelético, especialmente vértebras en mariposa; nefrología para estudio de función y anatomía renal y por genética clínica, para orientar la confirmación diagnóstica molecular y realizar un asesoramiento pre y post test a la familia. Además, los niños deben mantener su control pediátrico habitual, con medición de antropometría y la supervisión del neurodesarrollo¹².

En cuanto al seguimiento, la enfermedad hepática es uno de los determinantes más importantes de la morbilidad y mortalidad en SALG. Se ha desarrollado un modelo que combina niveles séricos de bilirrubina total en los primeros dos años de vida, la identificación de fibrosis en la biopsia hepática y la presencia de xantomas antes de los 5 años para predecir la progresión de la enfermedad hepática grave y la necesidad de trasplante hepático⁷.

Los defectos vasculares son dinámicos, pueden manifestarse a cualquier edad, y debido a su alta prevalencia se recomienda un tamizaje de rutina con resonancia magnética o angiografía a los 8 años (edad aproximada en la que no se requiere anestesia general para una resonancia) y antes de cualquier cirugía mayor. Además, estos exámenes se deben realizar siempre que existan síntomas sugerentes de déficit neurológico, cefalea persistente, hipertensión, entre otros¹¹.

Dado que la enfermedad renal se manifiesta en casi un 40% de los pacientes, es crucial realizar controles de función después de la evaluación nefrológica inicial, especialmente en niños con falla en el medro. Esto es importante debido a que problemas como la acidosis tubular que se asocian con dificultades en el crecimiento, pueden ser tratados. Además, en personas sometidas a trasplante hepático, se debe prestar especial atención a la vigilancia de la posible nefrotoxicidad de los inmunosupresores¹⁰.

El prurito es un síntoma común que afecta entre el 45% y el 88% de los niños con SALG. Puede ser severo y está asociado con lesiones cutáneas, problemas de sueño y alteraciones del estado de ánimo¹³. Para su manejo, se recomienda la hidratación cutánea, mantener las uñas cortas y tomar duchas breves para reducir la resequead de la piel. También se ha observado mejoría del prurito con el uso de ácido ursodesoxicólico¹⁴.

Aunque el manejo médico actual de las personas con SALG se centra en el manejo sintomático, el trasplante hepático está indicado en casos de prurito severo, falla hepática, hipertensión portal, fracturas óseas o falla en el crecimiento¹⁵ y, además, se está investigando el desarrollo de nuevas terapias que inhiban el transportador de ácido biliar ileal¹⁶.

Las características faciales descritas en los pacientes con SALG incluyen una cara de forma triangular, frente prominente, ojos hundidos, hipertelorismo moderado, punta bulbosa de la nariz y mentón puntiagudo². Es importante tener en cuenta que, en diferentes grupos étnicos, este fenotipo puede no ser tan evidente o manifestarse con la edad, especialmente en niños pequeños¹⁷.

En cuanto a los aspectos moleculares, un 94,3% de los casos de SALG son causados por variantes en *JAG1*. Las variantes más comunes (~75%) son aquellas asociadas a proteínas truncadas (cambio del marco de lectura, sin sentido, deleciones exónicas y de sitio de empalme). También se han informado variantes con cambio de sentido (13%) y deleciones completas del gen (13%)^{2,3}, como es nuestro caso.

Las variantes que generan proteínas truncadas y las deleciones completas del gen causan fenotipos similares, lo que respalda la idea de que el mecanismo de la enfermedad podría ser por haploinsuficiencia^{3,18}. La paciente tiene el fenotipo característico asociado a las deleciones completas del gen *JAG1*¹⁹.

Dentro de las deleciones grandes del gen *JAG1*, existe variabilidad tanto en su extensión como en la ubicación de sus puntos de corte, lo que sugiere que no existen puntos específicos de reordenamiento en esta región³. En pacientes con deleciones que exceden la región crítica de 5.4 Mb asociada al gen *JAG1*, se han observado otros fenotipos no característicos del síndrome, como retraso en el desarrollo, hipoacusia, autismo, obesidad, entre otros^{3,19}. La paciente ha tenido un desarrollo psicomotor adecuado para su edad, lo que es concordante con el tamaño y ubicación de la deleción identificada.

La alteración detectada en el cromosoma 20 de la paciente, no ha sido reportada previamente en la literatura, pero cumple con los criterios para ser clasificada como patogénica según las recomendaciones del Colegio Americano de Genética Médica (ACMG)²⁰.

Esta delección contiene 5 genes: *MKKS*, *SLX4IP*, *JAG1*, *MIR6870*, *LINC01752*. De éstos, solo *MKKS* y *JAG1* tienen descripción en OMIM. *MKKS* se asocia a los síndromes de Bardet-Biedl y de McKusick-Kaufman, ambos de herencia autosómica recesiva^{21,22}.

En el panel de defectos cardíacos congénitos y heterotaxia, se identificaron, además, tres variantes de significado incierto: *DNAH11* c.9884G>A, *NEK8* c.2077del y *NME8* c.461T>A, todas en estado heterocigoto. La variante en *DNAH11* está asociada a disquinesia ciliar primaria tipo 7, de herencia autosómica recesiva (OMIM #611884) y está clasificada en la base de datos de ClinVar como significado incierto. El gen *NEK8* es causante de nefronoptosis tipo 9 (OMIM #613824), una enfermedad autosómica recesiva que lleva a la formación de quistes renales con consiguiente falla renal progresiva. La variante encontrada en este gen corresponde a una delección, que también se encuentra publicada en ClinVar y se mantiene de significado incierto. Por último, *NME8* se ha relacionado con la disquinesia ciliar primaria tipo 6 (OMIM #610852), que también es de herencia autosómica recesiva. La variante específica no está reportada previamente, y no cumple criterios suficientes para ser clasificada como patogénica²³.

Este caso subraya la importancia de que un examen diagnóstico genético debe estar siempre acompañado de un adecuado asesoramiento genético pre y post test. Dicho asesoramiento ayuda a los pacientes a comprender y adaptarse a las implicaciones médicas, psicológicas y familiares de las contribuciones genéticas en la enfermedad²⁴. Además, debe considerarse que, conforme a las recomendaciones internacionalmente aceptadas, este proceso debe ser realizado por personas capacitadas en conceptos citogenéticos y moleculares, así como estar familiarizadas con las implicaciones éticas y morales²⁵.

Conclusiones

El empleo de la secuenciación génica, a través de un panel que incluía los genes asociados a SALG, seguido por la confirmación con un cariotipo molecular, permitió la identificación y delimitación de una microdelección patogénica previamente no documentada, abarcando el gen *JAG1* completo, en una paciente chilena cuyo fenotipo es consistente con SALG.

El seguimiento de individuos con esta afección debe ser llevado a cabo por un equipo multidisciplinario, enfocándose especialmente en el compromiso hepático, renal y vascular, sistemas que presentan una mayor incidencia de morbimortalidad en esta enfermedad.

Responsabilidades Éticas

Protección de personas y animales: Los autores declaran que los procedimientos seguidos se conformaron a las normas éticas del comité de experimentación humana responsable y de acuerdo con la Asociación Médica Mundial y la Declaración de Helsinki.

Confidencialidad de los datos: Los autores declaran que han seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado: Los autores han obtenido el consentimiento informado de los pacientes y/o sujetos referidos en el artículo. Este documento obra en poder del autor de correspondencia.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Referencias

- Saleh M, Kamath BM, Chitayat D. Alagille syndrome: clinical perspectives. *Appl Clin Genet*. 2016;9:75-82. doi: 10.2147/TACG.S86420
- Mitchell E, Gilbert M, Loomes KM. Alagille Syndrome. *Clin Liver Dis*. 2018;22(4):625-41. doi: 10.1016/j.cld.2018.06.001
- Gilbert MA, Bauer RC, Rajagopalan R, et al. Alagille syndrome mutation update: Comprehensive overview of *JAG1* and NOTCH2 mutation frequencies and insight into missense variant classification. *Hum Mutat*. 2019;40(12):2197-220. doi: 10.1002/humu.23879
- Milad M, Novoa JM, Fabres J, et al. Recomendación sobre Curvas de Crecimiento Intrauterino. *Revista chilena de pediatría*. 2010; 81(3):264-74. <https://dx.doi.org/10.4067/S0370-41062010000300011>
- Subramaniam P, Knisely A, Portmann B, et al. Diagnosis of Alagille syndrome-25 years of experience at King's College Hospital. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2011;52(1):84-9. doi: 10.1097/MPG.0b013e3181f1572d
- Kamath BM, Yin W, Miller H, et al. Outcomes of liver transplantation for patients with Alagille syndrome: the studies of pediatric liver transplantation experience. *Liver Transpl*. 2012;18(8):940-8. doi: 10.1002/lt.23437
- Mouzaki M, Bass LM, Sokol RJ, et al. Early life predictive markers of liver disease outcome in an International, Multicentre Cohort of children with Alagille syndrome. *Liver Int*. 2016;36(5):755-60. doi: 10.1111/liv.12920.
- Tretter JT, McElhinney DB. (2018) Cardiac, Aortic, and Pulmonary Vascular Involvement in Alagille Syndrome. In: Kamath B., Loomes K. (eds) *Alagille Syndrome*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-94571-2_6
- Turnpenny PD, Ellard S. Alagille syndrome: pathogenesis, diagnosis and management. *Eur J Hum Genet*. 2012;20(3):251-7. doi: 10.1038/ejhg.2011.181
- Kamath BM, Podkameni G, Hutchinson AL, et al. Renal anomalies in Alagille

- syndrome: a disease-defining feature. *Am J Med Genet A*. 2012;158A(1):85-9. doi: 10.1002/ajmg.a.34369
11. Ayoub MD, Kamath BM. Alagille Syndrome: Diagnostic Challenges and Advances in Management. *Diagnostics (Basel)*. 2020;10(11):907. doi: 10.3390/diagnostics10110907
 12. Spinner NB, Gilbert MA, Loomes KM, et al. Alagille Syndrome. 2000 May 19 [Updated 2019 Dec 12]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2021. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1273/>
 13. Kamath BM, Baker A, Houwen R, Todorova L, Kerker N. Systematic Review: The Epidemiology, Natural History, and Burden of Alagille Syndrome. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2018;67(2):148-56. doi: 10.1097/MPG.0000000000001958
 14. Jesina D. Alagille Syndrome: An Overview. *Neonatal Netw*. 2017;36(6):343-7. doi: 10.1891/0730-0832.36.6.343
 15. Kamath BM, Schwarz KB, Hadzi N. Alagille syndrome and liver transplantation. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2010;50(1):11-5. doi: 10.1097/MPG.0b013e3181c1601f
 16. Kohut Taisa J, Gilbert M, Loomes KM. Alagille Syndrome: A focus review on clinical, features, genetics, and treatment. *Semin Liver Dis*. 2021;41:525-32.
 17. Lin HC, Le Hoang P, Hutchinson A, et al. Alagille syndrome in a Vietnamese cohort: mutation analysis and assessment of facial features. *Am J Med Genet A*. 2012;158A(5):1005-13. doi: 10.1002/ajmg.a.35255
 18. Ayoub MD, Kamath BM. Alagille Syndrome. Current Understanding of Pathogenesis, and Challenges in Diagnosis and Management. *Clin Liver Dis*. 2022;26(3):355-370. <https://doi.org/10.1016/j.cld.2022.03.002>
 19. Kamath BM, Thiel BD, Gai X, et al. SNP array mapping of chromosome 20p deletions: genotypes, phenotypes, and copy number variation. *Hum Mutat*. 2009;30(3):371-8. doi: 10.1002/humu.20863
 20. Riggs ER, Andersen EF, Cherry AM, et al. Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen) [published correction appears in *Genet Med*. 2021 Mar 17]. *Genet Med*. 2020;22(2):245-57. doi: 10.1038/s41436-019-0686-8
 21. Forsyth RL, Gunay-Aygun M. Bardet-Biedl Syndrome Overview. 2003 Jul 14 [Updated 2023 Mar 23]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2021. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1363/>
 22. Slavotinek AM. McKusick-Kaufman Syndrome. 2002 Sep 10 [Updated 2020 Dec 3]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2021. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1502/>
 23. Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015;17(5):405-24. doi: 10.1038/gim.2015.30
 24. Margarit, S. ¿Qué es el asesoramiento genético y cómo realizarlo en oncología?. *Rev. méd. Las Condes*. 2017; 28(4):524-30.
 25. Smith L, Malinowski J, Ceulemans S, Peck K, et al. Genetic testing and counseling for the unexplained epilepsies: An evidence-based practice guideline of the National Society of Genetic Counselors. *J Genet Couns*. 2022;00:1-15. <https://doi.org/10.1002/jgc4.1646>