

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Pediatría



TESIS DOCTORAL

Rendimiento de la técnica de "array" de hibridación genómica comparada aplicada al estudio de las discapacidades intelectuales y del desarrollo

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Victoria San Antonio Arce

Directores

Manuel Moro Serrano
Esther Aleo Luján

Madrid, 2017

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA



**Rendimiento de la técnica de *array* de hibridación
genómica comparada aplicada al estudio de las
discapacidades intelectuales y del desarrollo**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR:

Victoria San Antonio Arce

Directores:

Prof. Manuel Moro Serrano

Dra. Esther Aleo Luján

Madrid 2015


Departamento de Pediatría
Facultad de Medicina
Universidad Complutense de Madrid

El Prof. D. Manuel Moro Serrano, Catedrático Emérito del Departamento de Pediatría, y la Dra. D^a. Esther Aleo Luján, Profesora Asociada del Departamento de Pediatría,

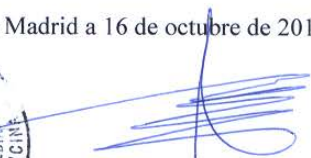
CERTIFICAN

Que la Tesis Doctoral “Rendimiento de la técnica de *array* de hibridación genómica comparada aplicada al estudio de las discapacidades intelectuales y del desarrollo”, de la que es autora Victoria San Antonio Arce, realizada bajo su dirección, está totalmente terminada y puede ser presentada en la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid para su defensa pública.

Y para que así conste, firman la presente certificación en Madrid a 16 de octubre de 2015.


Fdo.: Prof. D. Manuel Moro Serrano




Fdo.: Dra. D^a. Esther Aleo Luján



Informe del Director de la Tesis Doctoral

DATOS DE LA TESIS DOCTORAL	
Nombre del Doctorando	Doña Victoria San Antonio Arce
Título de la Tesis	Rendimiento de la técnica de array de hibridación genómica comparada aplicada al estudio de las discapacidades intelectuales y del desarrollo
Facultad o Centro	DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA. FACULTAD DE MEDICINA

DATOS DEL DIRECTOR DE LA TESIS DOCTORAL	
Nombre Completo	Manuel Moro Serrano
Centro al que pertenece y dirección	Departamento de Pediatría. Facultad de Medicina. UCM Servicio de Pediatría. Hospital Clínico San Carlos. c/Profesor Martín Lagos sn. 28040. Madrid
D.N.I./Pasaporte	02165108A
e-mail	mmoro@ucm.es

	VALORACIÓN DE LA TESIS			
	Muy Buena	Buena	Suficiente	Deficiente
Originalidad	x			
Definición Objetivos	x			
Metodología	x			
Relevancia Resultados	x			
Discusión / Conclusiones	x			

INFORME (en caso necesario se podrán añadir más hojas):

Objetivos: Están claramente definidos.

Material y métodos: Es un estudio descriptivo realizado en niños y adolescentes con discapacidad intelectual y del desarrollo valorados durante un periodo de 5 años en las consultas de Neuropediatría del Hospital Clínico San Carlos de Madrid. Se recoge de manera sistemática datos demográficos, clínicos y diagnósticos que se tratan con adecuada metodología estadística.

Resultados: Los resultados están correctamente expuestos.

Discusión: La interpretación de los hallazgos está estructurada y ordenada y pone de manifiesto el conocimiento de la doctoranda sobre el tema.

Conclusiones: Responden a los objetivos y tienen relevancia clínica en el ámbito de la Pediatría.

Bibliografía: La bibliografía es actual y adecuada y aparece correctamente citada.

Madrid, a 16/10/2015


Fdo.: Prof. D. Manuel Moro Serrano



Este impreso deberá entregarse al Departamento/Órgano responsable del Posgrado/ Comisión responsable del Programa de Doctorado, para su estudio y aprobación en la admisión a trámite de la tesis doctoral. Asimismo, deberá incluirse entre la documentación enviada a la Comisión de Doctorado para la designación del Tribunal y aprobación de la defensa de la Tesis Doctoral.



Informe del Director de la Tesis Doctoral

DATOS DE LA TESIS DOCTORAL	
Nombre del Doctorando	Doña Victoria San Antonio Arce
Título de la Tesis	Rendimiento de la técnica de array de hibridación genómica comparada aplicada al estudio de las discapacidades intelectuales y del desarrollo
Facultad o Centro	DEPARTAMENTO DE PEDIATRIA. FACULTAD DE MEDICINA

DATOS DEL DIRECTOR DE LA TESIS DOCTORAL	
Nombre Completo	Esther Aleo Luján
Centro al que pertenece y dirección	Departamento de Pediatría. Facultad de Medicina. UCM Servicio de Pediatría. Hospital Clínico San Carlos. c/Profesor Martín Lagos sn. 28040. Madrid
D.N.I./Pasaporte	22990225T
e-mail	esaleo@ucm.es

	VALORACIÓN DE LA TESIS			
	Muy Buena	Buena	Suficiente	Deficiente
Originalidad	x			
Definición Objetivos	x			
Metodología	x			
Relevancia Resultados	x			
Discusión / Conclusiones	x			

INFORME (en caso necesario se podrán añadir más hojas):

Objetivos: Están claramente definidos.

Material y métodos: Es un estudio descriptivo realizado en las consultas de Neuropediatría del Hospital Clínico San Carlos de Madrid, durante un periodo de 5 años, en niños y adolescentes con discapacidad intelectual y del desarrollo.

Resultados: Los resultados están detallados y son comprensibles.

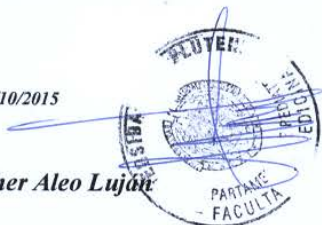
Discusión: La interpretación de los hallazgos que hace la doctoranda está estructurada y ordenada.

Conclusiones: Las conclusiones tienen relevancia clínica en el ámbito de la Neuropediatría.

Bibliografía: La bibliografía es actual y adecuada.

Madrid, a 16/10/2015

Fdo.: Esther Aleo Luján



Este impreso deberá entregarse al Departamento/Órgano responsable del Posgrado/ Comisión responsable del Programa de Doctorado, para su estudio y aprobación en la admisión a trámite de la tesis doctoral. Asimismo, deberá incluirse entre la documentación enviada a la Comisión de Doctorado para la designación del Tribunal y aprobación de la defensa de la Tesis Doctoral.

A mi familia

Desde estas líneas quiero expresar mi agradecimiento a todas aquellas personas que durante estos años de trabajo me han acompañado y han contribuido de una forma u otra a que esta tesis haya llegado a buen fin.

A mi Director de Tesis, el Prof. Manuel Moro Serrano, por haber confiado en mí y haberme permitido contar con su inestimable consejo y experiencia.

A mi Directora de Tesis, la Dra. Esther Aleo Luján, por su generosidad y su buena disposición para resolver dudas y ayudar a superar obstáculos.

Al Dr. Daniel Cuadras Pallejà del Servei d'Assessorament Metodològic i Estadístic a la Recerca del Hospital Sant Joan de Déu de Barcelona, por el asesoramiento estadístico.

A la Dra. María Fenollar Cortés, a la Dra. Raluca Oancea Ionescu, a la Dra. Carmen Cotarelo Pérez y a la Dra. María Jesús Lautre Ecenarro, de la Sección de Genética del Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Clínico San Carlos, por la colaboración tan estrecha y constructiva durante tantos años y por todo lo que me han enseñado.

A mi querido y admirado maestro y compañero el Dr. Jaime Campos Castelló, por brindarme la oportunidad de crecer como profesional a su lado, por introducirme en el mundo de la Neurología Pediátrica, por compartir conmigo su inestimable experiencia, por cuidarme y guiarme en lo profesional y en lo personal, por ser para mí como un padre.

A mi familia, por el tiempo robado, por la comprensión, por el apoyo impagable.

A los pacientes y sus familias, motor de nuestro trabajo.

ABREVIATURAS

AAIDD: del inglés *American Association on Intellectual and Developmental Disabilities*, Asociación Americana sobre Discapacidad Intelectual y del Desarrollo.

ADN: ácido desoxirribonucleico.

Array-CGH: *array* de hibridación genómica comparada.

BAC: del inglés *bacterial artificial chromosome*, cromosoma artificial bacteriano.

CGH: del inglés *comparative genomic hybridization*, hibridación genómica comparada.

CI: Cociente intelectual.

CNV: del inglés *copy number variant*, cambio en el número de copias de ADN.

DECIPHER: del inglés *DatabasE of genomC variation and Phenotype in Humans using Ensembl Resources*, base de datos de variación genómica y fenotipo en humanos usando recursos *Ensembl*.

DGV: del inglés *Database of Genomic Variants*, base de datos de variantes genómicas.

EEG: Electroencefalograma.

FISH: del inglés *fluorescence in situ hybridization*, hibridación *in situ* fluorescente.

Kb: Kilobases

Mb: Megabases

MLPA: del inglés *multiplex ligation-dependent probe amplification*, amplificación de sondas dependiente de ligandos múltiples.

NGS: del inglés *Next Generation Sequencing*, secuenciadores de nueva generación

OMIM: del inglés *Online Mendelian Inheritance in Man*, herencia mendelina en el hombre en línea.

ORL: Otorrinolaringológico.

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

RM: Resonancia magnética.

ÍNDICE

Pág.

RESUMEN.....	3
Introducción	3
Justificación del trabajo	3
Objetivos	4
Pacientes y métodos	4
Resultados	5
Discusión	7
Conclusiones	8
SUMMARY	11
Introduction	11
Rationale for this study	11
Objectives	12
Patients and methods	12
Results	13
Discussion	15
Conclusions	16
I. INTRODUCCIÓN.....	17
I.1. Definición de discapacidad intelectual y discapacidad del desarrollo	17
I.2. Epidemiología e impacto de las discapacidades intelectuales y del desarrollo	19
I.3. Causas de discapacidades intelectuales y discapacidades del desarrollo	21
I.4. El diagnóstico etiológico de las discapacidades intelectuales y del desarrollo	26
I.5. Los reordenamientos cromosómicos submicroscópicos como causa de discapacidad intelectual y del desarrollo. Aplicación de la técnica de <i>array</i> de hibridación genómica comparada al estudio de las discapacidades intelectuales y del desarrollo.	28
II. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO.....	35
III. HIPÓTESIS	37
III.1. Hipótesis del estudio	37
III.2. Hipótesis nulas	37

IV. OBJETIVOS	39
IV.1. Objetivo principal	39
IV.2. Objetivo secundario	39
V. PACIENTES Y MÉTODOS	41
V.1. Población estudiada	41
V.2. Métodos	42
V.3. Metodología estadística	46
VI. RESULTADOS	47
VI.1. Características de la población estudiada	47
VI.2. Resultados en la técnica de <i>array</i> -CGH	55
VI.2.a. Resultados positivos	57
VI.2.b. Resultados negativos	58
VI.3. Relación entre obtener un resultado positivo en la técnica de <i>array</i> -CGH y la presencia de datos clínicos	59
VII. DISCUSIÓN	63
VII.1. Características de la población estudiada	63
VII.2. Resultados en la técnica de <i>array</i> -CGH	66
VII.2.a. Resultados positivos	66
VII.2.b. Resultados negativos	72
VII.3. Relación entre obtener un resultado positivo en la técnica de <i>array</i> -CGH y la presencia de datos clínicos	73
VII.4. Utilidad de la técnica de <i>array</i> -CGH en el estudio de los pacientes con discapacidad intelectual o discapacidad del desarrollo	75
VIII. CONCLUSIONES	81
IX. BIBLIOGRAFÍA	83
X. ANEXOS	91
Anexo A. Consentimientos informados	93
Anexo B. Regiones y genes analizados en KaryoNIM® Autismo 180K	103
Anexo C. Informes de pacientes con resultado positivo en <i>array</i> -CGH	109

RESUMEN

Introducción

Las discapacidades intelectuales y del desarrollo tienen una prevalencia de entre 1 y 3% y suponen un impacto significativo en el funcionamiento del individuo que se prolonga a lo largo de toda su vida, así como elevados costes para los sistemas de salud y para la sociedad en su conjunto. En más del 50% de los casos la causa de la discapacidad intelectual y del desarrollo es desconocida, lo que impide indicar un tratamiento específico en caso de que lo hubiese, emitir un pronóstico, evitar exploraciones inútiles y llevar a cabo un consejo genético familiar y reproductivo. El desarrollo y la aplicación a la práctica clínica de técnicas moleculares de cribado genómico, en concreto del *array* de hibridación genómica comparada (*array*-CGH), que permite detectar pequeñas pérdidas y ganancias de material genético con una resolución de hasta miles de veces la correspondiente a un cariotipo convencional, han duplicado la tasa de diagnósticos de reordenamientos cromosómicos submicroscópicos como causa de discapacidad intelectual o del desarrollo, al detectarlos en alrededor del 15% de los casos.

Justificación del trabajo

Aunque hoy día se considera el *array*-CGH una prueba de primer nivel en el diagnóstico etiológico de las discapacidades intelectuales y las discapacidades del desarrollo sin causa aparente y sin una sospecha sindrómica clara, y a pesar de que su precio ha ido progresivamente disminuyendo, sigue siendo una técnica cara y de realización e interpretación costosa en términos de tiempo y personal. Por ese motivo, es importante establecer en nuestra población pediátrica el rendimiento de esta técnica en el estudio de las discapacidades intelectuales y del desarrollo. Demostrar en nuestra cohorte de pacientes un rendimiento al menos similar al reportado en otras poblaciones puede servir de argumento para salvar las limitaciones de acceso a este estudio que en la actualidad existen en nuestro país. Es interesante también analizar si en nuestra población se

encuentran subgrupos con datos clínicos determinados que se asocien con un resultado positivo en el estudio.

Objetivos

El objetivo principal de la presente tesis es evaluar el rendimiento de la técnica de *array*-CGH aplicada al estudio de las discapacidades intelectuales y del desarrollo en nuestra población. Partimos de la hipótesis de que este rendimiento será al menos similar a la media del encontrado en otras poblaciones, esto es, permitirá llegar a un diagnóstico etiológico en al menos 15% de casos con discapacidad intelectual o del desarrollo de causa no explicada.

Como objetivo secundario nos proponemos analizar si en nuestra población se encuentran subgrupos con datos clínicos determinados que se asocien con un resultado positivo en el estudio de *array*-CGH. Partimos de la hipótesis de que el rendimiento de la técnica de *array*-CGH aplicada al estudio de las discapacidades intelectuales y del desarrollo de causa no explicada será mayor en un subgrupo de nuestra población con unas ciertas características clínicas.

Pacientes y métodos

El presente trabajo es un estudio descriptivo en 52 niños y adolescentes (de 0 a 17 años) valorados de manera consecutiva en las consultas de Neuropediatría del Hospital Clínico San Carlos de Madrid durante un periodo de 5 años (desde octubre de 2007 a octubre de 2012) con discapacidad intelectual o del desarrollo como signo clínico principal asociado o no a rasgos del espectro autista, trastorno de conducta, epilepsia, retraso del crecimiento intrauterino y/o postnatal, micro- o macrocefalia, rasgos dismórficos y/o malformaciones, que no constituya un síndrome clínico definido y cuya causa no haya sido aclarada. Se recogieron de forma sistemática datos clínicos incluyendo antecedentes familiares, antecedentes personales, grado de discapacidad intelectual o del desarrollo y signos clínicos acompañantes. En todos los pacientes se realizó un cribado de alteraciones

cromosómicas incluyendo cariotipo de alta resolución y MLPA de regiones subteloméricas y de regiones asociadas a 21 síndromes de microdelección o microduplicación conocidos.

En todos los pacientes se llevó a cabo, previa consulta en Genética Clínica y consentimiento informado, un estudio de *array*-CGH de oligonucleótidos de 60K, 400K o 180K. La interpretación de los hallazgos se realizó utilizando las principales bases de datos disponibles (DECIPHER, DGV) y tomando como referencia las recomendaciones internacionales para la clasificación de las CNV (del inglés, *copy number variant*, cambio en el número de copias de DNA) en patogénicas o causales, benignas y de significado incierto. A efectos de este estudio, se consideró un caso con resultado positivo en el *array*-CGH cuando una CNV causal o patogénica fue encontrada y un caso con resultado negativo en el *array*-CGH cuando ninguna CNV causal o patogénica fue encontrada, esto es, en caso de encontrarse CNV benignas o CNV de significado incierto cuya causalidad o patogenicidad no ha podido ser demostrada.

Los análisis estadísticos fueron realizados con el programa SPSS 19.0 (Armonk, NY: IBM Corp.). En general se consideraron estadísticamente significativos los resultados de los test con p-valor menor que 0,05 (nivel de significación alfa del 5%).

Resultados

Un total de 52 pacientes, 23 (44,2%) varones, con una edad media de 9,56 años (rango 0,17-17,75), fueron incluidos en el estudio. En 8 (15,4%) casos había antecedentes de abortos espontáneos en los progenitores, y en 10 (19,2%) había casos de discapacidad intelectual o del desarrollo en la familia. En cuanto a los antecedentes personales, solo 1 paciente (1,9% del total) era fruto de un embarazo conseguido por técnicas de reproducción asistida, solo 7 (13,5%) habían sido prematuros y 13 (25%) habían presentado un retraso de crecimiento intrauterino. La discapacidad intelectual era marcada en más de la mitad de los casos (en 28 pacientes, 53,8%), extensa en menos de un tercio (en 15 pacientes, 28,8%) y generalizada solo en 9 (17,3%) pacientes. Respecto a

los signos clínicos asociados a la discapacidad intelectual, solo 2 pacientes (3,8%) no presentaban ninguno, mientras que lo más frecuente es que presentaran 3 (17 pacientes, 32,7%), 4 (11 pacientes, 21,2%), 1 (9 pacientes, 17,3%) ó 2 (8 pacientes, 15,4%). El signo clínico más frecuentemente asociado fue la presencia de rasgos dismórficos (41 pacientes, 78,8%) y el retraso de crecimiento postnatal (23 pacientes, 44,2%), y el más raramente asociado la macrocefalia (en solo 3 pacientes, 5,8%), mientras que el resto (la presencia de rasgos autistas, trastorno de conducta, epilepsia, microcefalia o malformaciones congénitas afectando a otros sistemas) estaba presente en entre un cuarto y un tercio de los pacientes.

Se encuentra un resultado positivo en la técnica de *array*-CGH, esto es, se desvela una CNV causal o patogénica que explica el cuadro clínico, en 9 (17,3%) de un total de 52 pacientes. En ninguno de los 9 se encuentra más de una CNV patogénica o causal. De las 9 CNV causales o patogénicas, 5 son deleciones, 3 duplicaciones y 1 es una duplicación combinada con una deleción. Seis de ellas afectan a autosomas, mientras que 3 afectan al cromosoma X, 1 en un varón y las otras 2 en mujeres. El tamaño varía entre 350 Kb y 23,28 Mb (mediana 4 Mb). La CNV patogénica o causal había sido previamente detectada en el cariotipo de alta resolución y en la MLPA en 1 (1,9%) paciente, y únicamente en la MLPA en otros 2 (3,8%) pacientes, no detectándose ni en cariotipo ni en MLPA en los 6 pacientes restantes.

En 43 pacientes (82,7% del total de 52) no se obtiene un resultado positivo en el *array*-CGH, es decir, no se encuentra una CNV patogénica o causal. En ninguno de ellos se había encontrado previamente alteraciones ni en el cariotipo ni en la MLPA.

Cuando se analiza la posible asociación entre obtener un resultado positivo en la técnica de *array*-CGH y la presencia de cada uno de los datos clínicos, se encuentra que es más frecuente obtener un resultado positivo en el *array*-CGH en pacientes de género masculino, cuando hay antecedentes familiares de discapacidad intelectual, cuando ha habido retraso del crecimiento intrauterino, o cuando hay trastorno de conducta,

macrocefalia o rasgos dismórficos asociados, si bien esta dependencia no es significativa. Entre estos, el antecedente de retraso intrauterino y la presencia de rasgos dismórficos son los que con mayor frecuencia se asocian a un resultado positivo en el *array*-CGH. Una regresión logística múltiple, realizada para ver si una combinación de estos signos podría ser un buen predictor de un resultado positivo en el *array*-CGH tampoco muestra resultados significativos.

Discusión

Nuestra población se compone de un número de pacientes comparable al de otros estudios que describen la utilidad de la técnica de *array*-CGH en otros centros, y en su selección se ha tratado de evitar sesgos incluyendo pacientes con cualquier grado de discapacidad, evitando excluir aquellos con grado de discapacidad leve o sin otros signos- como malformaciones congénitas o rasgos dismórficos- asociados.

El rendimiento de la técnica de *array*-CGH en nuestra población es de 17,3%, o de 12,2% si se cuenta únicamente las anomalías crípticas a cariotipo y MLPA. Este resultado confirma nuestra hipótesis de trabajo, y es muy similar al de los trabajos publicados que tienen criterios de inclusión de pacientes similares a los nuestros. Las técnicas empleadas son también comparables y no constituyen probablemente un sesgo significativo.

Nuestro trabajo confirma la utilidad de la técnica de *array*-CGH en el estudio de los pacientes con discapacidad intelectual o discapacidad del desarrollo de causa no explicada. La presencia de ciertas características clínicas asociadas, especialmente el antecedente de retraso del crecimiento intrauterino y la presencia de rasgos dismórficos, se asocia con mayor frecuencia a un resultado positivo en el *array*-CGH, así como la presencia de malformaciones congénitas, sobre todo cardíacas, en otros trabajos. Aunque el pequeño número de pacientes con resultado positivo en nuestro trabajo no permite obtener resultados estadísticamente significativos, estos hallazgos tienen relevancia clínica ya que abren el debate acerca de en qué pacientes debe indicarse la realización de esta prueba, como también lo hace el hecho de que se encuentre resultados positivos en el

array-CGH en pacientes con discapacidad intelectual con independencia del número de signos asociados y con independencia del grado de discapacidad.

En conclusión, nuestro trabajo confirma la utilidad de la técnica de *array*-CGH en el estudio etiológico de los pacientes con discapacidad intelectual o discapacidad del desarrollo de causa no explicada. Su incorporación a la práctica clínica ha duplicado el diagnóstico de CNV como causa de discapacidad intelectual y el coste de su realización no supera el del cariotipo más las 2 ó 3 MLPA que se realizan frecuentemente. Además, contribuye a entender los mecanismos genéticos responsables de la discapacidad intelectual. Por todo ello parece razonable que se realice un *array*-CGH, junto a un cariotipo de alta resolución, en todo niño o adolescente con discapacidad intelectual o discapacidad del desarrollo de causa no explicada tras valoración por neurólogo o psiquiatra infantil y genetista clínico, independientemente del grado de la discapacidad y de la presencia o ausencia de antecedentes o de otros signos clínicos asociados.

Conclusiones

1. El rendimiento de la técnica de *array*-CGH aplicada al estudio de las discapacidades intelectuales y del desarrollo de causa no explicada en nuestra población pediátrica es de 17,3%, esto es, mayor que la media del encontrado en otras poblaciones (15%).
2. En nuestra población es más frecuente obtener un resultado positivo en el *array*-CGH en pacientes de género masculino, con antecedentes familiares de discapacidad intelectual, con retraso del crecimiento intrauterino, o con trastorno de conducta, macrocefalia o rasgos dismórficos asociados.
3. En nuestra población se encuentra resultados positivos en el *array*-CGH en pacientes con discapacidad intelectual con independencia del número de signos asociados y del grado de discapacidad.

4. Estos hallazgos tienen relevancia clínica, a pesar de que el número de pacientes con resultado positivo de nuestro trabajo no permite obtener resultados estadísticamente significativos.

5. Por todo ello parece indicado realizar un estudio de *array*-CGH, junto a un cariotipo de alta resolución, en todo niño o adolescente con discapacidad intelectual o discapacidad del desarrollo de causa no explicada tras valoración por neurólogo o psiquiatra infantil y genetista clínico, independientemente del grado de la discapacidad y de la presencia o ausencia de antecedentes o de otros signos clínicos asociados.

SUMMARY

Introduction

The incidence of intellectual disability and developmental impairment (IDDI) is between 1 and 3 %. They significantly impact functional ability over an individual's entire lifetime and are also extremely costly for healthcare systems and for society as a whole. The cause of IDDI is unknown in more than 50 % of cases, making administering a specific treatment, where one exists, advancing a prognosis, averting pointless testing, and genetic counselling for family reproductive planning unfeasible. The development of molecular genetic screening methods and their application to clinical practice has doubled the diagnosis rate for submicroscopic chromosomal rearrangements – found to be present in around 15 % of cases – as the cause of IDDI. More specifically, the use of array comparative genomic hybridization (array CGH) has enabled the detection of small losses and gains in genetic material at resolutions that can be up to thousands of times greater than those of conventional karyotyping.

Rationale for this study

While array CGH is today regarded as a first-tier test for diagnosing the aetiology of IDDI having no apparent cause or any clearly suspect syndrome, and even though its cost has been falling gradually, it continues to be an expensive technique, costly to carry out and interpret in terms of both the time and manpower required. For this reason it is important to ascertain the diagnostic yield of this method in studying IDDI in our paediatric population. Demonstrating levels of diagnostic yield in our patient cohort that are at least similar to those reported for other populations could provide an argument for obviating the restrictions on obtaining access to this method currently encountered in our country. Another interesting aspect is to assess whether our population contains subgroups that have specific clinical factors associated with positive study results.

Objectives

The primary objective of this assessment is to evaluate the diagnostic yield achieved by array CGH in studying IDDI in our population. We postulate that the diagnostic yield would be at least similar to the mean recorded for other populations, that is, the method would yield a diagnosis as to cause in at least 15 % of cases of IDDI of unknown origin.

A secondary objective is to determine whether our population contained subgroups that have certain clinical characteristics associated with positive array CGH results. Our working hypothesis was that the diagnostic yield of array CGH in studying IDDI of unknown causes in our population would be greater for a subgroup having certain clinical attributes.

Patients and methods

The present paper contains a descriptive study of 52 children and teens (aged from 0 to 17 years) assessed consecutively on visits to our Paediatric Neurology Department at the Hospital Clínico San Carlos in Madrid over five years (from October 2007 to October 2012). The principal clinical sign of these children is IDDI of unknown aetiology not expressing a known clinical syndrome, irrespective of whether or not it was associated with autism spectrum characteristics, behavioural disorders, epilepsy, intrauterine and/or postnatal growth restriction, micro or macrocephaly, dysmorphic features and/or malformations. Clinical factors were collected systematically and included family history, personal history, degree of intellectual disability or developmental impairment, and accompanying clinical signs. All patients were screened for chromosomal abnormalities using high-resolution karyotyping and MLPA of subtelomeric regions and regions associated with 21 known microdeletion and microduplication syndromes.

60K, 180K, or 400K oligonucleotide array CGH was performed for all patients in consultation with the Clinical Genetics Department and with informed consent. Findings were interpreted using the usual available databases (DECIPHER, DGV) following

international recommendations on reference sequences for copy number variant (CNV) classification as pathogenic or causal, benign, and of uncertain significance. For the purposes of this study, array CGH was defined to have a positive result in those cases in which a causal or pathogenic CNV was detected and a negative result in those cases in which no causal or pathogenic CNV was found, that is, where the findings yielded benign CNVs or CNVs of uncertain significance without demonstrating causality or pathogenic status.

Statistical analysis was carried out using the SPSS software, version 19.0 (Armonk, NY: IBM Corp.). As a rule, test results having a p value of less than 0.05 were considered to be statistically significant [alpha (significance) level of 5 %].

Results

A total of 52 patients, 23 (44.2 %) male, with a mean age of 9.56 years (range: 0.17-17.75 years) were included in the study. In 8 cases (15.4 %) the parents had a family history of miscarriage, and in 10 cases (19.2 %) there was a family history of IDDI. In terms of personal history, only 1 patient (1.9 % of the total) was the result of a pregnancy achieved using assisted reproductive technology, only 7 (13.5 %) had been born prematurely, and 13 (25 %) had exhibited intrauterine growth restriction. Intellectual disability was severe in more than half the cases (in 28 patients, 53.8 %), moderate in fewer than one-third (in 15 patients, 28.8 %), and general in only 9 patients (17.3 %). As for the clinical signs associated with the intellectual disability, only 2 patients (3.8 %) did not present any sign, whereas more commonly patients presented 3 (17 cases, 32.7 %), 4 (11 cases, 21.2 %), 1 (9 cases, 17.3 %) or 2 (8 cases, 15.4 %). The most frequently associated clinical signs were the existence of dysmorphic features (41 patients, 78.8 %) and postnatal growth restriction (23 patients, 44.2 %), and the sign least commonly associated was macrocephaly (in only 3 patients, 5.8 %), with the remaining signs (autism spectrum characteristics, behavioural disorders, epilepsy, microcephaly, and congenital

malformations of other systems) being present in between one-fourth and one-third of the patients.

Array CGH yielded a positive result, that is, it revealed a causal or pathogenic CNV accounting for the clinical picture in 9 (17.3 %) out of the total of 52 patients. Only a single causal or pathogenic CNV was disclosed in each of these 9 cases. Of the 9 causal or pathogenic CNVs, 5 were deletions, 3 were duplications, and 1 was a combined duplication and deletion. Six of these involved autosomes and the other 3 involved the X chromosome (1 in a male patient and the other 2 in female patients). Size ranged from 350 Kb to 23.28 Mb (median: 4 Mb). The causal or pathogenic CNV had previously been disclosed by high-resolution karyotyping and MLPA in 1 patient (1.9 %) and solely by MLPA in another 2 patients (3.8 %). In the remaining 6 patients both karyotyping and MLPA had failed to detect any aberrations.

Array CGH failed to yield a positive result in 43 patients (82.7 % of the total of 52), that is, no causal or pathogenic CNV was detected. Karyotyping and MLPA had not previously disclosed any abnormalities in any of these patients.

The analysis of a possible association between obtaining a positive array CGH result and each of the clinical factors revealed that a positive array CGH result was more frequent for male patients when there was a family history of intellectual disability, when there had been intrauterine growth restriction, or when associated behavioural disorders, macrocephaly, or dysmorphic features were present, though the relationship was not significant. Of these clinical findings, a history of intrauterine growth restriction and the presence of dysmorphic features were most frequently associated with a positive array CGH result. Multiple logistic regression was run to ascertain whether a combination of these clinical factors might be a good predictor of a positive array CGH result, but it too failed to yield any significant results.

Discussion

The number of patients in our population was comparable to that of other studies dealing with the usefulness of array CGH carried out at other institutions. An effort was made to avoid patient selection bias by including patients irrespective of the degree of disability and by not excluding patients with mild disability or without such other signs as associated congenital malformations or dysmorphic features.

The diagnostic yield of the array CGH in our population was 17.3 %, or 12.2 % counting only abnormalities undetected by karyotyping and MLPA. This finding was quite similar to the results published for other studies carried out using patient selection criteria similar to ours, thus bearing out our working hypothesis. The methodologies employed were also comparable and hence were likely not a source of significant bias.

Our findings confirm the usefulness of array CGH studies in patients with IDDI of unknown origin. The presence of certain clinical findings, particularly a history of intrauterine growth restriction and the presence of dysmorphic features, was associated with a higher frequency of positive array CGH results, along with the presence of congenital malformations, especially cardiac malformations, in other studies. Although the small number of patients for whom there was a positive result in our study hampered analysis and prevented us from obtaining statistically significant results, these findings are of clinical relevance as they open debate as to the patients for whom this test is indicated, as it does the fact that array CGH yielded positive results in IDDI patients irrespective of the number of associated signs and irrespective of the degree of disability.

Our study therefore confirms that array CGH is useful in aetiological studies in patients with IDDI of unknown aetiology. Implementing this method in clinical practice has doubled the diagnosis of CNVs as a cause of intellectual disability and the cost of performing the test is not more than that of karyotyping plus the 2 or 3 MLPAs that are commonly performed. In addition, it helps elucidate the genetic mechanisms responsible for intellectual disability. For all these reasons it seems reasonable to perform array CGH

and high-resolution karyotyping in all children or teens with IDDI of unknown origin after examination by a child neurologist or psychiatrist and by a clinical geneticist, irrespective of the degree of disability and of the presence or absence of family and personal history factors and other associated clinical signs.

Conclusions

1. The diagnostic yield of array CGH used to study IDDI of unknown aetiology in our paediatric population was 17.3 %, that is, higher than the mean reported for other populations (15 %).
2. Positive array CGH results were more frequent in our population for male patients with a family history of intellectual disability, intrauterine growth restriction, or with associated behavioural disorders, macrocephaly, or dysmorphic features.
3. Positive array CGH results were achieved in our population of patients with intellectual disability irrespective of the number of associated signs and of the degree of disability.
4. These findings are clinically relevant even though the number of patients in our study for whom positive results were achieved was not sufficient to yield statistically significant results.
5. For all these reasons, carrying out array CGH in conjunction with high-resolution karyotyping would appear to be indicated in all children or adolescents with IDDI of unknown causes following examination by a child neurologist or psychiatrist and by a clinical geneticist, irrespective of the degree of disability and of the presence or absence of family and personal history factors and other associated clinical signs.

I. INTRODUCCIÓN

I.1. Definición de discapacidad intelectual y discapacidad del desarrollo

Según la Asociación Americana sobre Discapacidad Intelectual y del Desarrollo (AAIDD, antigua Asociación Americana sobre Retraso Mental AAMR), la discapacidad intelectual se caracteriza por una limitación significativa en el funcionamiento intelectual y/o en la conducta adaptativa, de inicio en la edad del desarrollo [Schalock *et al.* 2010]:

- El funcionamiento intelectual, también llamado inteligencia, se refiere a la capacidad mental general para procesos tales como el aprendizaje, el razonamiento o la resolución de problemas, entre otros. Una forma de medir el funcionamiento intelectual es mediante test que calculan el cociente intelectual (CI), el más frecuentemente utilizado es la *Wechsler Intelligence Scale for Children®* (WISC). Un CI por debajo de 70-75 indica una limitación en el funcionamiento intelectual.
- La conducta adaptativa es el conjunto de habilidades conceptuales, sociales y prácticas que son aprendidas y utilizadas por las personas en su vida cotidiana. Como habilidades conceptuales destacan el lenguaje y la alfabetización; los conceptos de dinero, tiempo y los conceptos numéricos. Como habilidades sociales, las habilidades para las relaciones interpersonales, la responsabilidad social, la cautela, la resolución de problemas sociales, y la capacidad de seguir las reglas y/u obedecer las leyes. Las habilidades prácticas se utilizan en las actividades de la vida diaria e incluyen las necesarias para el cuidado personal, las competencias profesionales, salud, viajes / transporte, horarios / rutinas, seguridad, uso del dinero, uso del teléfono. Existen test estandarizados que ayudan a identificar limitaciones en la conducta adaptativa, como el *Adaptive Behavior*

Assessment System® (ABAS) o la recientemente desarrollada por la AAIDD *Diagnostic Adaptive Behavior Scale*® (DABS).

La discapacidad intelectual es un tipo de discapacidad del desarrollo, ya que por definición debe existir evidencia de la discapacidad desde la edad de desarrollo (por motivos operativos el límite fijado es antes de los 18 años). Las discapacidades del desarrollo hacen referencia a aquellas discapacidades que tienen su inicio en la época del desarrollo, y engloban la discapacidad intelectual, los trastornos del espectro autista, la parálisis cerebral y otras condiciones estrechamente ligadas con la discapacidad intelectual o que requieren un proceso de apoyo similar al requerido por personas con discapacidad intelectual.

La AAIDD subraya que, en la definición y la evaluación de la discapacidad intelectual, deben ser tomados en cuenta factores como el entorno social en que vive la persona así como la diversidad lingüística y las diferencias culturales que influyen en la forma de comunicarse, moverse y comportarse. Además, debe tenerse en cuenta que las limitaciones en los individuos a menudo coexisten con fortalezas, y el nivel de funcionamiento de la vida de una persona va a mejorar si se le proporcionan durante un tiempo suficiente los apoyos personalizados apropiados. El diagnóstico de discapacidad intelectual debe estar dirigido a identificar y proporcionar estos apoyos.

Las categorías en que puede ser dividida esta condición son, también según la AAIDD:

1. Discapacidad intelectual marcada (“marked”)
2. Discapacidad intelectual extensa (“extensive”)
3. Discapacidad intelectual generalizada (“pervasive”)
4. Discapacidad intelectual, otra (“other”)

Esta nueva categorización pretende sustituir a la anterior que incluía 4 categorías en vez de 3: leve, moderada, severa y profunda. Dicha categorización, basada únicamente en el

cálculo del CI y su distribución normal (leve si CI 55-70, esto es, entre -2 y -3 desviaciones estándar; moderada si CI 40-55 ó entre -3 y -4 desviaciones estándar; severa si CI 25-40 ó entre -4 y -5 desviaciones estándar, y profunda si CI<25 ó por debajo de -5 desviaciones estándar), y mantenida todavía por los principales sistemas de clasificación de las enfermedades (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders DSM5* y *Clasificación internacional de enfermedades CIE10*), llevaba asociados, según la AAIDD, varios problemas. Por un lado, la dificultad para obtener ayudas apropiadas cuando la discapacidad de una persona es categorizada como “leve” y aun como “moderada”, lo que no se corresponde con las limitaciones reales en la vida diaria de estas personas, que además constituyen el grupo más numeroso. Por otro lado, la escasa utilidad de la división entre “severa” y “profunda”, unidas ahora en una sola categoría (generalizada); la AAIDD considera que no hay ninguna razón científica ni validez psicométrica para mantener esta división: reunir a todos los individuos con CI menor de 40 en una única categoría tiene más sentido que tratar de imponer una clasificación basada en la división en cinco desviaciones estándar por debajo de media de la población. La existencia de herramientas como el WISC que permiten cuantificar el funcionamiento intelectual no confiere fiabilidad o validez al hecho de distinguir varios grupos entre los individuos con CI por debajo de 40. Por todo ello se justifica la categorización en solo tres categorías (marcada, extensa y generalizada). La cuarta categoría (otra) debe ser reservada como diagnóstico provisional cuando una clasificación en las 3 categorías anteriores no es posible por motivos de edad, por la presencia de dificultades sensoriales, físicas o conductuales, o porque no es posible llevar a cabo una evaluación más detallada.

I.2. Epidemiología e impacto de las discapacidades intelectuales y del desarrollo

La prevalencia de la discapacidad intelectual es de entre 1 y 3%, y es mayor en países de ingresos medios y bajos que en países de ingresos altos [Maulik *et al.* 2011]. En un estudio reciente realizado en 16 países en desarrollo, se detectaron discapacidades del

desarrollo que afectaban a aspectos cognitivos en el 2,5-5% de la población pediátrica estudiada, siendo más frecuentes en países con peores condiciones de vida [Borstein and Hendricks 2013]. Existe una relación entre discapacidades y pobreza: las discapacidades aumentan el riesgo de pobreza, y la pobreza aumenta el riesgo de discapacidades. Esto atañe especialmente a la población pediátrica, si tenemos en cuenta que el 90% de los niños del mundo vive en países de ingresos medios y bajos. El informe de UNICEF sobre el Estado Mundial de la Infancia de 2013, dedicado a los niños y niñas con discapacidad, describe cómo estos niños y niñas son frecuentemente excluidos de la participación en los asuntos cívicos, sociales y culturales de sus comunidades, quedan excluidos de muchos programas de salud y son más frecuentemente víctimas de violencia.

El impacto de la discapacidad intelectual en países de ingresos altos es también importante. Las discapacidades intelectuales entrañan un impacto significativo en el funcionamiento del individuo que se prolonga a lo largo de su vida. Esto se complica por el hecho de que existe una elevada comorbilidad con trastornos psiquiátricos [Cooper *et al.* 2007]. Las discapacidades intelectuales implican costes muy elevados para los sistemas de salud y para la sociedad en su conjunto. Un estudio reciente realizado en Australia [Doran *et al.* 2012] estima en cerca de 15.000 millones de dólares anuales los costes totales, de los que la mayor parte recae directa o indirectamente en las familias, cuyos gastos superan las ayudas compensatorias que reciben. En un estudio realizado en España por la Confederación Española de Organizaciones en favor de las Personas con Discapacidad Intelectual (2009) se obtuvo datos similares: los costes de la discapacidad intelectual, incluyendo costes por tiempo, costes por ejecución y costes por oportunidad, que recaen esencialmente en la familia, alcanzaban como media algo más de 45.000 euros por persona y por año, mientras que las medidas compensatorias concedidas a las familias alcanzaban como media algo más de 13.600 euros al año, por lo que el sobreesfuerzo económico medio asumido por una familia española con un integrante con discapacidad intelectual fue en 2008 de más de 31.000 euros al año. Este sobreesfuerzo contribuye

significativamente a la disminución de la calidad de vida que presentan las familias con un integrante con discapacidad intelectual.

I.3. Causas de discapacidades intelectuales y discapacidades del desarrollo

Desde la perspectiva actual, la etiología de la discapacidad intelectual se entiende como multifactorial, resultado de la interacción de cuatro categorías de factores de riesgo, biomédicos, sociales, conductuales y educativos, que actúan -e interactúan entre sí- en el tiempo, tanto directamente en la vida del individuo como a través de las generaciones. Así por ejemplo, la elevada edad parental es un factor de riesgo biomédico para discapacidad en el niño. Aspectos sociales como la pobreza o el deficiente acceso a la atención médica son factores de riesgo que pueden actuar tanto en los padres o como en diferentes momentos de la vida del niño. Son factores de riesgo conductuales, por ejemplo, el consumo de tóxicos por parte de los padres o de los niños, el maltrato o la falta de estimulación. Y son factores de riesgo educativo, por ejemplo, el inadecuado acceso a los servicios de intervención temprana.

Centrándonos en las causas biomédicas de discapacidad intelectual, clásicamente se ha considerado que un 30% son de origen genético (cromosómico, monogénico o multifactorial) y un 15% de origen ambiental (como la asfixia neonatal y las infecciones). En el resto de casos (más del 50%) la causa era desconocida [Yeargin-Allsopp *et al.* 1997]. Sin embargo, el desarrollo y la aplicación a la práctica clínica de técnicas como la MLPA (del inglés *multiplex ligation-dependent probe amplification*, amplificación de sondas dependiente de ligandos múltiples) y sobre todo los *array* de hibridación genómica comparada (*array*-CGH) y más recientemente la secuenciación masiva, han hecho aumentar de forma exponencial las publicaciones que reportan nuevas anomalías genéticas como causa de discapacidad intelectual o del desarrollo [Moeschler 2008, Hochstenbach *et al.* 2011, de Ligt *et al.* 2012, Rauch *et al.* 2012].

Los diferentes tipos de anomalías genéticas que pueden ser causa de discapacidad intelectual o del desarrollo pueden agruparse en cuatro grandes grupos: anomalías cromosómicas, discapacidad intelectual ligada a X, enfermedades monogénicas de herencia autosómica dominante y enfermedades monogénicas de herencia autosómica recesiva:

1. Anomalías cromosómicas.

Las anomalías cromosómicas detectables al microscopio se encuentran entre las causas genéticas más frecuentes de discapacidad intelectual o del desarrollo. Mayoritariamente esporádicas, las anomalías cromosómicas, además de originar discapacidad intelectual o del desarrollo a menudo grave, se asocian frecuentemente a problemas en el crecimiento, a rasgos dismórficos, y a otras malformaciones estructurales de diferentes sistemas como cardíaco, urogenital y músculo-esquelético. No obstante, algunas anomalías cromosómicas también pueden identificarse en pacientes con discapacidad intelectual leve y con un fenotipo dismórfico mínimo. Actualmente está bien establecido que se debe realizar un cariotipo, a ser posible de alta resolución (nivel de bandas G de mínimo 550), de forma sistemática en todo paciente con discapacidad intelectual o del desarrollo sin otras causas obvias. Las anomalías pueden afectar a prácticamente todos los cromosomas, y pueden ser, entre otras, pérdidas o más frecuentemente ganancias de cromosomas enteros (aneuploidías), pérdidas o ganancias de cromosomas parciales o de solo una banda cromosómica (deleciones o duplicaciones), así como intercambios de fragmentos de un cromosoma con otro (traslocaciones) de forma desequilibrada. Cuando el genoma se analiza mediante la citogenética estándar con una resolución de 400-500 bandas cromosómicas se encuentran anomalías hasta en un 40% de los pacientes, si se incluyen las aneuploidias autosómicas. De todas las anomalías cromosómicas, la trisomía 21, responsable del Síndrome de Down, es la principal causa de discapacidad intelectual, si bien en países de ingresos altos su prevalencia ha disminuido hasta

un tercio como consecuencia del impacto del diagnóstico prenatal. Por este motivo, en las series actuales de pacientes pediátricos con discapacidad intelectual o del desarrollo en países de ingresos altos predominan las aneuploidías de los gonosomas, las deleciones y duplicaciones terminales e intersticiales, los cromosomas marcadores extras y las traslocaciones desequilibradas. El rendimiento diagnóstico del cariotipo en estas series va del 4 al 13% [van Karnebeek *et al.* 2005].

Muchos síndromes clínicamente bien definidos están causados por deleciones y más raramente por duplicaciones no apreciables al microscopio o submicroscópicas: es el caso del síndrome de DiGeorge / velocardiofacial (del 22q11.2), el síndrome de Angelman / Prader-Willi (del 15q11.2-13), el síndrome de Williams (del 7q11.23), el síndrome de Sotos (del 5q35.3), el síndrome de Smith-Magenis (del 17p11.2), el síndrome de Wolf-Hirschhorn (del 4p16.3) o el síndrome del maullido de gato (del 5p15.2). Durante mucho tiempo la demostración de estas microdeleciones o microduplicaciones se hacía por la técnica de hibridación *in situ* fluorescente (FISH) mediante sondas comerciales que marcaban la región de interés y permitían su visualización, para lo que era esencial la sospecha clínica del síndrome concreto para elegir la sonda específica.

La aplicación de técnicas moleculares ha permitido detectar anomalías cromosómicas submicroscópicas de manera más sencilla en estos síndromes bien definidos, pero también en muchos otros casos. A principio de los años 2.000, se describieron los reordenamientos subteloméricos como causa de un 5% de los casos de discapacidad intelectual o del desarrollo [de Vries *et al.* 2003]. Su estudio fue posible inicialmente gracias a la FISH multisonda, que incluía sondas de varias regiones subteloméricas críticas permitiendo la identificación de deleciones y traslocaciones desequilibradas y equilibradas, y en menor medida duplicaciones; pero sobre todo gracias a la MLPA, técnica más rápida y menos costosa que, mediante una sonda específica para cada subtelómero y en una única reacción en

cadena de la polimerasa (PCR), identifica deleciones y duplicaciones de todas las regiones subteloméricas, y evidencia un mayor número de duplicaciones que la FISH multisonda, aunque tiene como inconvenientes que no detecta reordenamientos equilibrados y que todas las alteraciones detectadas se deben confirmar mediante FISH.

Más recientemente, las técnicas moleculares de cribado genómico, como el *array-CGH*, han permitido describir numerosos reordenamientos submicroscópicos, tanto subteloméricos como intersticiales, como causas frecuentes de discapacidad intelectual y discapacidad del desarrollo no explicadas.

2. Discapacidad intelectual ligada a X.

Las anomalías en el cromosoma X juegan un papel importante en la etiología de la discapacidad intelectual: de hecho, hay un exceso de varones afectados y se ha identificado un patrón de herencia ligada a X en un gran número de familias. Hasta la fecha se han encontrado muchos más genes relacionados con la discapacidad intelectual en el cromosoma X que en cualquier otro autosoma.

Las discapacidades intelectuales ligadas a X se han dividido clásicamente en sindrómicas -cuando es posible reconocer un cuadro clínico característico- e inespecíficas, aunque la identificación de alteraciones genéticas que pueden estar en el origen tanto de unas como de otras pone en cuestión dicha clasificación.

La más característica de las discapacidades ligadas a X sindrómicas es el síndrome X frágil. Es la causa más frecuente de discapacidad intelectual hereditaria y explica hasta el 20% de los casos de discapacidad intelectual ligada a X. Su frecuencia es de 1/4.500 varones y de 1/9.000 mujeres, con una penetrancia de cerca de 100% y 50% en hombres y mujeres, respectivamente. Inicialmente asociado con una alteración citogenética a nivel de Xq28, hoy se considera una enfermedad monogénica originada por la ausencia de la proteína FMRP, causada a

su vez por la hipermetilación que acompaña a la expansión de la secuencia repetida CGG del gen *FMRI* (Xq27.3). Individuos con una secuencia repetida de entre 5 y 55 copias se encuentran en la población normal. Expansiones del triplete CGG entre 55 y 200 repeticiones se denominan “premutación” y pueden presentarse tanto en hombres como en mujeres normales, mientras que expansiones por encima de las 200 repeticiones van a constituir la “mutación completa”, ya que se acompañan de la metilación de la isla CpG adyacente, lo que inhibe la expresión del gen *FMRI*. Algunos casos de Síndrome X frágil son debidos a deleciones y mutaciones puntuales en la secuencia codificante del gen *FMRI*. Algunos de los síntomas característicos del Síndrome X frágil son de presentación pospuberal, pero la discapacidad intelectual o la discapacidad del desarrollo se manifiesta desde los primeros años de vida. Por este motivo, y por su gran incidencia, su estudio, mediante el análisis del número de repeticiones CGG del exón 1 del gen *FMRI*, está indicado en todos los casos de discapacidad intelectual no explicada en la población pediátrica.

Por otro lado, existen casos de discapacidad intelectual ligada a X no específica, esto es, sin rasgos específicos que permitan definir un síndrome concreto. Se estima que estos casos representan al menos la mitad del total de casos de discapacidad intelectual ligada a X. Se han descrito numerosos genes relacionados con la discapacidad intelectual ligada a X, lo que justificó el desarrollo de sondas comerciales de MLPA que permitían el cribado de deleciones y duplicaciones en las regiones que los contienen. Más recientemente, la aplicación de técnicas moleculares de cribado genómico, como el *array*-CGH, ha permitido describir numerosos reordenamientos submicroscópicos como causa de discapacidad intelectual y del desarrollo ligada a X.

3. Enfermedades monogénicas de herencia autosómica dominante que presentan, entre otras manifestaciones, discapacidad intelectual o discapacidad del desarrollo. Son enfermedades que presentan discapacidad intelectual o del desarrollo en el

contexto de una afectación multisistémica característica, clave para el diagnóstico clínico, que precede a la confirmación genética. Pertenecen a este grupo entidades como la neurofibromatosis tipo 1, la esclerosis tuberosa y la distrofia miotónica de Steinert.

4. Enfermedades monogénicas de herencia autosómica recesiva que presentan, entre otras manifestaciones, discapacidad intelectual o discapacidad del desarrollo. El ejemplo más característico de este grupo lo constituyen la mayoría de los errores congénitos del metabolismo, responsables de muchos casos de discapacidad intelectual o del desarrollo, acompañada también de forma característica de la afectación de otros órganos o sistemas. El diagnóstico suele ser bioquímico, en la mayoría de casos es posible la confirmación genética.

I.4. El diagnóstico etiológico de las discapacidades intelectuales y del desarrollo

En nuestro medio, como en otros países de ingresos altos, la sospecha de una discapacidad intelectual o una discapacidad del desarrollo en un niño es motivo frecuente de consulta en el especialista en Neurología Infantil. Las expectativas de las familias al acudir a dicha consulta incluyen la objetivación y, en la medida de lo posible, cuantificación de dicha discapacidad, pero también y sobre todo la obtención de información sobre la evolución y el pronóstico, las medidas que los pueden modificar y, en casi todos los casos, sobre las causas que han provocado la discapacidad. Por parte del profesional consultado, el poder colmar estas expectativas pasa por hacer un diagnóstico etiológico: el diagnóstico etiológico permite en algunos casos un tratamiento específico capaz de modificar la evolución, y en muchos el diagnóstico y el manejo precoz de una serie de problemas, por ejemplo la posible afectación de otros órganos y sistemas, que se sabe pueden ocurrir en un momento determinado de la evolución de una entidad concreta; por otro lado, permite prescindir de la realización de exámenes que se sabe no aportarán nuevos datos ni beneficio alguno al paciente, permitiendo a este ahorrarse técnicas

molestas o dolorosas, en ocasiones no exentas de riesgo (hay que tener en cuenta que en la población pediátrica la realización de, por ejemplo, pruebas de imagen requiere a menudo sedación e incluso anestesia general), a la familia la angustia y las expectativas que a menudo generan la realización de nuevos exámenes, y al sistema un gasto innecesario. Por último, y en el caso de las anomalías genéticas como causa de discapacidad intelectual o del desarrollo, el diagnóstico etiológico permite llevar a cabo un consejo genético familiar y reproductivo, esencial en la prevención de la ocurrencia de nuevos casos.

De acuerdo con la mayoría de guías clínicas (Shevell *et al.* 2003, Michelson *et al.* 2011), la evaluación del paciente pediátrico con discapacidad intelectual o discapacidad del desarrollo incluye, en todos los casos, la recogida de la historia clínica completa con especial atención a la posible presencia de antecedentes familiares o de antecedentes personales por ejemplo perinatales o infecciosos que puedan tener una relación causal con la discapacidad; una exploración física general y neurológica con especial atención a la presencia de signos que orienten el diagnóstico a una etiología concreta: la presencia de signos de focalidad neurológica, como por ejemplo una hemiparesia, pueden apuntar a una causa cerebral estructural, bien congénita, como una malformación cerebral, o adquirida, como una secuela de un accidente vascular o una infección; alteraciones cutáneas como las manchas hipocrómicas o las manchas café-con-leche deben hacer pensar en una enfermedad neurocutánea; la presencia de determinados rasgos dismórficos asociados a determinadas malformaciones congénitas pueden conducir directamente al diagnóstico clínico de un síndrome genético específico como el Síndrome de Down u otros menos frecuentes. Paralelamente, la evaluación debe incluir una exploración neuropsicológica encaminada a la objetivación y caracterización de la discapacidad y a la puesta en marcha de una serie de medidas de rehabilitación y/o apoyo a la funcionalidad. El estudio etiológico requiere de la realización de, en prácticamente todos los casos, una prueba de imagen cerebral – de elección una resonancia magnética cerebral- que permitirá un diagnóstico etiológico en casos por ejemplo de daño cerebral adquirido o de sospecha

en algunas entidades como enfermedades neurocutáneas y algunos errores congénitos del metabolismo. Un *screening* de errores congénitos del metabolismo asociados a discapacidad intelectual deberá ser realizado en caso de discapacidad intelectual o del desarrollo sin causa obvia, mientras que un examen bioquímico específico puede dar el diagnóstico en caso de sospecha clínica de una metabolopatía concreta. De igual manera, en los casos en que la historia y la exploración física, y en algunos casos otros exámenes complementarios, hagan sospechar una enfermedad monogénica concreta, se realizará el test genético específico que permita poner en evidencia la alteración responsable de esta enfermedad; sin embargo, en casos inespecíficos de discapacidad intelectual o del desarrollo sin causa obvia, estará indicado un *screening* que generalmente incluye cariotipo, análisis del número de repeticiones CGG del exón 1 del gen *FMRI*, MLPA de regiones subteloméricas y de regiones asociadas a síndromes de microdelección/microduplicación conocidos, y/o *array*-CGH, en un orden determinado que se ha ido modificando en los últimos años.

I.5. Los reordenamientos cromosómicos submicroscópicos como causa de discapacidad intelectual y del desarrollo. Aplicación de la técnica de *array* de hibridación genómica comparada al estudio de las discapacidades intelectuales y del desarrollo.

Como se decía en apartados anteriores, el desarrollo y la aplicación a la práctica clínica de técnicas moleculares de cribado genómico, como los *array*-CGH, que permite detectar pequeñas pérdidas y ganancias de material genético con una elevada resolución, han permitido describir numerosos reordenamientos cromosómicos submicroscópicos como causa de discapacidad intelectual y del desarrollo.

En los años 90 se empezó a aplicar en clínica la técnica de hibridación genómica comparada (CGH, por sus siglas en inglés de *comparative genomic hybridization*) que permitía la detección de cambios en el número de copias de ADN (CNV, por las siglas en

inglés de *copy number variants*) presentes en una muestra problema a lo largo de todo el genoma. La CGH, basada en la hibridación competitiva de dos ADN - el ADN problema y un ADN control normal- que se mezclaban en cantidades equimolares marcados con distintos fluorocromos (tradicionalmente verde el ADN problema, rojo el control), detectaba esos cambios al realizar una hibridación *in situ* sobre cromosomas normales que se utilizaban como molde. En condiciones normales, en caso de un ADN problema sin alteraciones genéticas, como la cantidad de ADN marcado en rojo y verde era la misma, el resultado final eran cromosomas marcados en color amarillo por contener una mezcla en proporción 1:1 de ambos fluorocromos (rojo + verde = amarillo). En condiciones patológicas, si el caso problema contenía una duplicación (ganancia cromosómica), la cantidad de ADN para hibridar era mayor, y la hibridación de esa zona resultaría en una mayor proporción de fluorocromo del ADN problema (verde); si el caso problema contenía una deleción (pérdida), la región delecionada aparecería en rojo, ya que habría más cantidad de ADN normal para hibridar en esa región cromosómica. La CGH permitía, por tanto, la detección de ganancias y pérdidas de regiones cromosómicas en todo el genoma del caso problema por la comparación de las intensidades de las señales de hibridación. Sin embargo, la CGH tenía su mayor limitación en su capacidad de resolución, al no ser capaz de detectar deleciones o duplicaciones de tamaño inferior a 3-5 megabases (Mb). La solución a este problema vino de la tecnología genómica con la incorporación de los *microarray* a los laboratorios de citogenética molecular: en vez de sobre cromosomas enteros, la hibridación del DNA problema se hace en una matriz en la que, en unos pocos centímetros, se sitúan cientos de sondas (fragmentos de DNA de tamaño mucho menor que un cromosoma) alineadas en filas y en columnas, cada una de ellas con una secuencia específica del DNA conocida y una ubicación precisa. Esto permite aumentar la resolución hasta miles de veces la correspondiente a un cariotipo convencional. La hibridación se visualiza mediante el uso de sustancias fluorescentes, y existen programas informáticos que ayudan a la representación y el análisis de los resultados. Inicialmente, antes de su desarrollo y comercialización por diferentes empresas, las matrices eran elaboradas en los propios laboratorios, utilizando para ello

sondas basadas en cromosomas artificiales bacterianos (BAC, del inglés *bacterial artificial chromosome*). Las primeras descripciones de esta técnica las hicieron Solinas-Toldo *et al.* en 1997, que la llamaron CGH basada en matriz, y Pinkel *et al* en 1998, que la llamaron *array*-CGH. A principio de los 2.000, y pese a ser una técnica aún no industrializada, aparecen las primeras publicaciones sobre su posible utilidad clínica. Coincidiendo con la descripción de los reordenamientos subteloméricos como causa importante de discapacidad intelectual, Veltman *et al.* (2002) aplican la técnica de *array*-CGH para el estudio de estas regiones subteloméricas en DNA de 20 pacientes con alteraciones conocidas en estas regiones descritas por otras técnicas citogenéticas, y no solo detectan las deleciones y duplicaciones conocidas, sino otras adicionales, que no habían sido detectadas con las otras técnicas, en 3 de los 20 pacientes; los autores destacan la rapidez y la sensibilidad de una técnica que les permite analizar en una sola reacción 77 sondas subteloméricas, y preconizan su uso en la práctica clínica para el diagnóstico y el consejo genético de pacientes con discapacidad intelectual. Más tarde, Schoumans *et al.* (2004), para confirmar la robustez de la técnica, la utilizan para demostrar 10 casos de alteraciones cromosómicas crípticas al cariotipo previamente diagnosticadas por FISH; emplean *array* de BAC con una resolución de 1 Mb y concluyen que la incorporación de esta técnica a la práctica clínica permitiría el diagnóstico de nuevos reordenamientos y la descripción de nuevos síndromes, si bien indican que para poder detectar alteraciones más pequeñas sería necesario mejorar los *array*. Shaw-Smith *et al.* (2004) aplican la misma técnica para el estudio de 50 pacientes con discapacidad intelectual y rasgos dismórficos de causa desconocida, encontrando reorganizaciones submicroscópicas en 12 (24%) de los pacientes, 7 (14%) de ellas *de novo*. En 2005 aparece el primer *array*-CGH comercial de oligonucleótidos que realizaba una cobertura completa del genoma con 44.000 (44K) sondas con una resolución media de aproximadamente 45 kilobases (Kb), desarrollado por la compañía Agilent [Barret *et al.* 2004], y que supone pasar de una técnica artesanal, con elaboración propia de las matrices y protocolos poco definidos, a una producción altamente tecnológica con un protocolo sencillo y estandarizado y criterios de calidad validados internacionalmente.

Desde entonces, diversos estudios han mostrado la utilidad de esta técnica en el diagnóstico de las discapacidades intelectuales y las discapacidades del desarrollo. Una revisión de 2008 [Moeschler 2008] concluye que la introducción de la técnica de *array*-CGH ha duplicado la tasa de diagnósticos de pacientes con CNV como causa de su discapacidad de intelectual o del desarrollo, dato apoyado por otra revisión de 2011 [Hochstenbach *et al.* 2011], que encuentra que la técnica de *array*-CGH encuentra CNV causales en 14-18% de los casos de discapacidad intelectual o del desarrollo no explicada. Un estudio reciente en 256 pacientes niños y adultos con discapacidad intelectual o discapacidad del desarrollo encuentra CNV patogénicas en 41 (16%) pacientes y potencialmente patogénicas en 15 (5,9%) pacientes [Bartnik *et al.* 2014a]. El mismo equipo [Bartnik *et al.* 2014b] encuentra CNV patogénicas en 24 (21,4%) de 112 niños con discapacidad intelectual o discapacidad del desarrollo, de los que en 10 (8,9%) estas reorganizaciones eran crípticas para el cariotipo. Otro estudio en 349 niños con discapacidad intelectual o discapacidad del desarrollo no explicadas y rasgos dismórficos encuentra CNV consideradas causales en 57 (16%) de ellos [Battaglia *et al.* 2013]. En España, un estudio en 200 pacientes encuentra CNV patogénicas en 30 (15%) [Rodríguez-Revenga *et al.* 2013]. Resultados comparables se han obtenido en cohortes de pacientes pediátricos en Suecia [Wincent *et al.* 2011], Japón [Hayashi *et al.* 2011], Grecia [Tzetzis *et al.* 2012], Irán [Behjati *et al.* 2013], Corea del Sur [Lee *et al.* 2013, Byeon *et al.* 2014], Rusia [Iourov *et al.* 2012, Kashevarova *et al.* 2014], Brasil [Pereira *et al.* 2014], China [Chong *et al.* 2014, Tao *et al.* 2014], Líbano [Choucair *et al.* 2015], Ruanda [Uwineza *et al.* 2014] y Francia [Coutton *et al.* 2015]. Otros estudios tratan de establecer un fenotipo clínico en que el *array*-CGH tendría mayor tasa de resultados positivos. Marano *et al.* (2013) revisan retrospectivamente datos de 200 niños con discapacidad intelectual o discapacidad del desarrollo en los que por *array*-CGH se detectan CNV patogénicas en 34 (17%), y encuentran que este rendimiento es mayor (25%) en los pacientes que asocian 2 ó más hallazgos clínicos de los siguientes: historia de crisis epilépticas, rasgos autistas, rasgos dismórficos, hipotonía y retraso de crecimiento. Shoukier *et al.* (2013) revisan retrospectivamente datos de 342 niños con discapacidad

intelectual o discapacidad del desarrollo no explicadas, y encuentran que en el grupo en que por *array*-CGH se detectan CNV patogénicas (13,2% del total) son más frecuentes la presencia de malformaciones congénitas, especialmente cardíacas, microcefalia primaria y retraso del crecimiento. Caramaschi *et al.* (2014) revisan datos de 116 niños, y encuentran una asociación estadísticamente significativa entre un resultado positivo en el *array*-CGH - encuentran CNV patogénicas en 23,3% del total- y la presencia de malformaciones congénitas y/o rasgos dismórficos acompañando a la discapacidad intelectual o discapacidad del desarrollo. La técnica de *array*-CGH es así considerada por la mayoría de autores como de primer nivel en la evaluación de niños con discapacidad intelectual o discapacidad del desarrollo sin causa explicada, en especial cuando se acompaña de malformaciones congénitas y/o rasgos dismórficos. El rendimiento del *array*-CGH reportado en la mayoría de estudios supera al de otros exámenes realizados prácticamente de rutina en el diagnóstico etiológico de las discapacidades intelectuales y las discapacidades del desarrollo como las técnicas de neuroimagen (que conllevan el hallazgo de anomalías hasta en el 30% de casos, pero conducen a un diagnóstico etiológico en menos del 4%) y los *screening* metabólicos (que tienen una rentabilidad de alrededor de 1%) [van Karnebeek *et al.* 2005], y su uso en práctica clínica prácticamente ha duplicado la tasa de diagnósticos de reordenamientos cromosómicos submicroscópicos como causa de discapacidad intelectual o del desarrollo. Por estos motivos, algunos autores recomiendan incluso su realización como primer estudio genético, en vez del cariotipo, en la evaluación de niños con discapacidad intelectual o discapacidad del desarrollo sin causa explicada [Miller *et al.* 2012].

A pesar de sus numerosas ventajas, el *array*-CGH tiene algunos inconvenientes importantes. Hay que recordar que solo detecta cambios de dosis génica (ganancia, es decir duplicaciones, o pérdida, esto es, deleciones), y no detecta traslocaciones cromosómicas u otros reordenamientos equilibrados como inversiones. Además no detecta poliploidías, ya que son cambios globales de material genético, indetectables mediante sistemas de normalización de sondas. Otra limitación del *array*-CGH son los

casos de mosaicismo, en que en la misma muestra coexisten poblaciones celulares de diferente composición genómica: el *array*-CGH no es capaz de detectar los diferentes clones celulares, sino que proporciona un valor medio de ganancias y pérdidas; para que los cambios sean detectables, la población clonal debe suponer, al menos, un 20-30% de la población total. Por todos estos motivos la realización del *array*-CGH no puede sustituir al cariotipo convencional. Por otra parte, salvo que incluya SNP-*array* (del inglés *single nucleotide polymorphism*), la técnica de *array*-CGH no es capaz de detectar disomías uniparentales. Además, a la resolución habitualmente utilizada en clínica, el *array*-CGH no es capaz de detectar mutaciones puntuales, producidas por cambios en un solo o un número reducido de nucleótidos, para lo que es necesario utilizar técnicas de secuenciación. Por último, un inconveniente importante del *array*-CGH es que ha permitido poner de manifiesto un gran número de CNV previamente no descritas de significado clínico desconocido, lo que ha complicado el análisis y/o la interpretación de los resultados. Así, las CNV encontradas en un individuo se clasifican en benignas -esto es, simples polimorfismos presentes en individuos sanos y sin relación con la clínica-, patogénicas o causales - responsables del cuadro clínico- y de significado incierto:

1. Las CNV patogénicas o causales se presentan en la mayoría de ocasiones *de novo*, esto es, no están presentes en los progenitores; más raramente son heredadas, porque un progenitor tiene un reordenamiento cromosómico asintomático, como una traslocación equilibrada o más raramente una inserción asintomática.
2. Un porcentaje importante de las CNV benignas o de significado incierto detectadas son heredadas, esto es, están presentes en un progenitor. En los casos familiares con una delección/duplicación heredada del progenitor, este en general no presenta clínica o presenta clínica más leve que su hijo; en el primer caso los cambios detectados suelen corresponder a polimorfismos benignos sin ninguna relación causal, en el segundo el cambio puede ser patogénico asociado a penetrancia incompleta en el progenitor o a un efecto de impronta genómica.

Así pues, salvo en los casos de CNV patogénicas o benignas ya descritas o de CNV que por su tamaño y contenido en genes tienen pocas probabilidades de ser patogénicas, la correcta interpretación del estudio de *array*-CGH requiere el estudio de los progenitores. Este apoya la hipótesis de benignidad o patogenicidad en caso de CNV de significado incierto. En el caso de CNV patogénicas, puede ser también necesario, junto con otros estudios como MLPA o FISH, para discernir si son *de novo* o heredadas y poder dar un consejo genético familiar y reproductivo.

Asimismo, para la interpretación de la información obtenida son de gran ayuda varias bases de datos, disponibles *online*, que catalogan las reorganizaciones cromosómicas submicroscópicas benignas descritas en población sana y recogen información clínica sobre reorganizaciones cromosómicas submicroscópicas patogénicas o potencialmente patogénicas, con el fin de compartir e incrementar los conocimientos médicos y científicos sobre estas alteraciones, mejorar la atención médica y el consejo genético a las personas/familias y facilitar la investigación de los genes que afectan al desarrollo humano y la salud. Las principales son DECIPHER (del inglés *Database of genomic variation and Phenotype in Humans using Ensembl Resources*, <http://decipher.sanger.ac.uk>) [Firth *et al.* 2009]; DGV (de *Database of Genomic Variants*, <http://dgv.tcag.ca>) [MacDonald *et al.* 2014]; GeneCards (<http://www.genecards.org>) [Safran *et al.* 2010]; y ClinGen (<http://clinicalgenome.org>) [Rehm *et al.* 2015].

II. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO

En el diagnóstico etiológico de las discapacidades intelectuales y las discapacidades del desarrollo el *array*-CGH se recomienda en la práctica clínica en los casos sin causa aparente y sin una sospecha sindrómica clara. Estudios en cohortes de pacientes de diferentes países muestran que el uso de *array*-CGH incrementa en una media de un 15% la capacidad de detección de alteraciones genéticas causales en los niños y adolescentes con discapacidad intelectual o del desarrollo de causa no explicada y cariotipo normal. En países de ingresos altos la cuestión que se plantea es si el *array*-CGH en estos casos debe realizarse en primera línea, en lugar de otras técnicas como cariotipo, FISH o MLPA, puesto que muchas de las alteraciones detectadas por estas técnicas se detectan también por *array*-CGH y, en cuanto a tiempo y dinero, no es más costoso realizar un *array*-CGH que realizar un cariotipo sumado a dos o tres diagnósticos complementarios específicos de *locus* (como MLPA o FISH). En España sin embargo cada solicitud de estudio por *array*-CGH debe ser todavía justificada y aprobada individualmente. Aunque el precio de este estudio ha ido progresivamente disminuyendo, sigue siendo una técnica cara y de realización e interpretación costosa en términos de tiempo y personal. Por ese motivo, es importante establecer en nuestra población el rendimiento de la técnica de *array*-CGH en el estudio de las discapacidades intelectuales y del desarrollo. Demostrar en nuestra cohorte de pacientes un rendimiento al menos similar al reportado en otras poblaciones puede servir de argumento para salvar las limitaciones de acceso a este estudio que aún hoy existen en nuestro país. En este contexto, y aunque no es el objetivo principal de esta tesis, es interesante también analizar si en nuestra población se encuentran subgrupos con datos clínicos determinados que se asocien con un resultado positivo en el estudio.

III. HIPÓTESIS

III.1. Hipótesis del estudio

1. El rendimiento de la técnica de *array*-CGH aplicada al estudio de las discapacidades intelectuales y del desarrollo de causa no explicada en nuestra población es igual o mayor a la media del encontrado en otras poblaciones ($\% \geq 15$).
2. El rendimiento de la técnica de *array*-CGH aplicada al estudio de las discapacidades intelectuales y del desarrollo de causa no explicada es mayor en un subgrupo de nuestra población con unas características clínicas determinadas.

III.2. Hipótesis nulas

1. El rendimiento de la técnica de *array*-CGH aplicada al estudio de las discapacidades intelectuales y del desarrollo de causa no explicada en nuestra población es menor a la media del encontrado en otras poblaciones ($\% < 15$).
2. El rendimiento de la técnica de *array*-CGH aplicada al estudio de las discapacidades intelectuales y del desarrollo de causa no explicada no es mayor en ningún subgrupo de nuestra población.

IV. OBJETIVOS

IV.1. Objetivo principal

El objetivo principal de la presente tesis es evaluar el rendimiento de la técnica de *array*-CGH aplicada al estudio de las discapacidades intelectuales y del desarrollo en nuestra población, con el fin de comprobar si este rendimiento es al menos similar a la media del encontrado en otros estudios, permitiendo llegar a un diagnóstico etiológico en al menos 15% de casos con discapacidad intelectual o del desarrollo de causa no explicada.

IV.2. Objetivo secundario

Como objetivo secundario nos proponemos analizar si en nuestra población se encuentran subgrupos con datos clínicos determinados que se asocien con un resultado positivo en el estudio *array*-CGH.

V. PACIENTES Y MÉTODOS

V.1. Población estudiada

El presente trabajo es un estudio descriptivo en 52 pacientes.

Se incluyeron niños y adolescentes (de 0 a 17 años) valorados de manera consecutiva en las consultas de Neuropediatría del Hospital Clínico San Carlos de Madrid durante un periodo de 5 años (desde octubre de 2007 a octubre de 2012) con discapacidad intelectual o del desarrollo como signo clínico principal asociado o no a rasgos del espectro autista, trastorno de conducta, epilepsia, retraso del crecimiento intrauterino y/o postnatal, micro- o macrocefalia, rasgos dismórficos y/o malformaciones, que no constituya un síndrome clínico definido y cuya causa no haya sido aclarada.

Se recogieron de forma sistemática y retrospectiva datos clínicos incluyendo:

- Antecedentes familiares: historia de discapacidad intelectual o del desarrollo en la familia, historia de abortos espontáneos previos.
- Antecedentes personales: antecedente de gestación conseguida por técnicas de reproducción asistida, antecedente de retraso de crecimiento intrauterino, antecedente de parto pretérmino.
- Grado de discapacidad intelectual o del desarrollo según la propuesta más reciente de la AAIDD: marcada, extensa o generalizada.
- Signos clínicos acompañantes: rasgos autistas, trastorno de conducta, epilepsia, retraso de crecimiento postnatal, microcefalia o macrocefalia, rasgos dismórficos, malformaciones congénitas afectando a otros sistemas.

En todos los pacientes se realizó un estudio etiológico previo incluyendo historia clínica, exploración física general y neurológica, RM cerebral, +/- otros exámenes como estudio metabólico, EEG, exploración ORL, exploración oftalmológica u otros como estudios genéticos en caso de sospecha clínica de un síndrome bien definido. Un resultado positivo en estos estudios etiológicos fue considerado criterio de exclusión.

En todos los pacientes, tal y como se venía realizando antes de la aprobación del uso clínico del *array*-CHG en el centro, previa consulta en Genética Clínica y firma de consentimiento informado, se realizó un cribado de alteraciones genéticas incluyendo cariotipo de alta resolución (550-850 bandas G), análisis del número de repeticiones CGG del exón 1 del gen *FMRI* y MLPA de regiones subteloméricas (SALSAs P036-E1 y P070-B2 MRC-Holland) y de regiones asociadas a 21 síndromes de microdeleción o microduplicación conocidos (SALSA P245-A2 MRC-Holland).

Se excluyeron los pacientes con discapacidad intelectual o del desarrollo en relación con una lesión estructural cerebral congénita o adquirida clara o con una causa genética en forma de síndrome bien definido, como las trisomías 21, 18 o 13 u otros; asimismo se excluyeron los pacientes con discapacidad intelectual o del desarrollo en contexto de enfermedades metabólicas y en contexto de enfermedades autosómicas dominantes también clínicamente bien definidas como la neurofibromatosis, la esclerosis tuberosa o la distrofia miotónica de Steinert.

Los pacientes con malformaciones sin discapacidad intelectual o del desarrollo tampoco se incluyeron al no ser objeto de estudio de esta tesis.

V.2. Métodos

En todos los pacientes se llevó a cabo entre marzo de 2011 (momento en que se autorizó la realización de estudios de *array*-CGH en el centro) y marzo de 2015 un estudio de *array*-CGH de oligonucleótidos comercializado por NIMGenetics S.L. (CIF B-

85332138), empresa biomédica privada española ubicada en Madrid especializada en el diseño y comercialización de productos y servicios de diagnóstico clínico genético. Para ello, los pacientes fueron derivados a la consulta de Genética Clínica del Hospital Clínico San Carlos de Madrid y sus responsables legales firmaron un consentimiento informado validado por el comité de ética asistencial de este centro en tres versiones (la primera correspondiente al periodo hasta febrero de 2012, la segunda al periodo febrero de 2012 a febrero de 2014 y la tercera a partir de marzo 2014, ver al final de este apartado), así como un consentimiento informado requerido por NIMGenetics (ver copias en anexo A). Tras la firma de los consentimientos informados, se obtuvo muestra de sangre periférica de los pacientes por punción venosa, enviándose directamente una muestra de esta o del DNA extraído al laboratorio de NIMGenetics.

Durante los años 2011, 2012 y 2013 se utilizó el *array*-CGH de oligonucleóticos comercializado por NIMGenetics llamado KaryoNIM® 400K, una plataforma de muy alta densidad con 400.000 nucleótidos distribuidos a lo largo de todo el genoma (Agilent Technologies) y una resolución mínima de detección de aproximadamente 25 Kb. Solo en un paciente en este periodo se utilizó excepcionalmente el KaryoNIM® 60K, una plataforma de 60.000 nucleótidos distribuidos a lo largo de todo el genoma y una resolución mínima de aproximadamente 200 Kb. Para el análisis bioinformático, NIMGenetics utilizó el estadístico ADAM-2 (ventana 0,5Mb, A=6) como parámetro de análisis del número de copias de ADN presentes para las diferentes sondas, aceptando como alteración en el número de copias del ADN aquellas que tuviesen como mínimo cinco sondas consecutivas. El análisis incluyó la elaboración de un informe detallando las CNV detectadas, su localización (citobanda y coordenadas genómicas en el constructo genómico NCBI37), su tamaño y los genes OMIM contenidos en ellas, así como una imagen del ideograma con el genoma completo y un resumen e interpretación de los hallazgos, para lo que se NIMGenetics utilizó las principales bases de datos disponibles (DECIPHER, DGV) y tomó como referencia de benignidad/patogenicidad los criterios propuestos por Sahoo *et al.* (2009):

- CNV causal. Se le atribuye una relación de causalidad a una CNV cuando: (i) existe asociación científica documentada entre un fenotipo claro e identificado y una CNV que segrega con la familia y/o (ii) el tamaño de la alteración es tan grande que es improbable que no tenga fenotipo.

- CNV benigna. Se le atribuye un carácter benigno a una CNV cuando: (i) está descrita de forma no ambigua y con el mismo tamaño en las bases de datos de polimorfismos y/o (ii) el progenitor fenotípicamente normal es portador de la misma CNV. En ambas situaciones es necesario definir muy bien los límites y comprobar su coincidencia, ya que las diferencias entre los puntos de rotura de las CNV entre el/la probando y los progenitores podrían ser responsables de la ausencia o presencia de fenotipo.

- CNV de significado incierto. CNV que no aparece identificada en los progenitores en el momento del análisis, no está descrita como polimorfismo genético y no está descrita su asociación con el fenotipo específico observado en el paciente.

A partir de septiembre de 2013 NIMGenetics tomó como referencia para la interpretación de los hallazgos los criterios propuestos por el Consenso para la Implementación de los Arrays [CGH y SNP-arrays] en la Genética Clínica [Cigudosa *et al.* 2012] y Vermeesch *et al.* (2012):

- CNV patogénica. Variante con asociación clara a un fenotipo claro e identificado.

- CNV benigna. Variante presente en población sana y descrita como tal en bases de datos.

- CNV de significado incierto. CNV que no aparece identificada claramente como benigna o patogénica en el momento del análisis. Puede ser: a) probablemente patogénica, si implica genes cuya función podría explicar un evento patológico; b)

probablemente benigna, si está heredada de un progenitor sano y no existe referencia patológica o afecta parcialmente a una región típicamente polimórfica; c) de significado incierto, si no existe evidencia médica que indique una de las anteriores.

Por motivos clínicos – un exceso de hallazgos de significado incierto con el KaryoNIM® 400K - a partir de 2014 se utilizó el *array*-CGH de oligonucleóticos comercializado por NIMGenetics llamado KaryoNIM® Autismo 180K, una plataforma con 180.000 nucleótidos (Agilent Technologies) especialmente diseñada para el estudio de alteraciones que se sabe confieren susceptibilidad a la discapacidad intelectual y del desarrollo incluyendo los trastornos de espectro autista, para lo que cubre 45 regiones críticas así como 115 genes a altísima resolución (menos de 20 Kb), y para el resto del genoma se cuenta con una resolución de 80 Kb. Las regiones y los genes cubiertos por el estudio se detallan en documento adjunto (anexo B).

Los costes facturados por NIMGenetics para la realización e interpretación de estos estudios fueron de 750 euros por unidad para el KaryoNIM® 400K y de 600 euros por unidad para KaryoNIM® Autismo 180K.

El informe completo de cada caso fue remitido por NIMGenetics a la sección de Genética Clínica del Hospital Clínico San Carlos donde un facultativo especialista los interpretó en conjunto con el resto de datos clínicos y exámenes previos realizados al paciente y elaboró un informe final y un consejo genético familiar y reproductivo que comunicó a cada familia en consulta de Genética Clínica.

A efectos de este estudio, se consideró un caso con resultado positivo en el *array*-CGH cuando una CNV causal o patogénica fue encontrada y un caso con resultado negativo en el *array*-CGH cuando ninguna CNV causal o patogénica fue encontrada, esto es, en caso de encontrarse CNV benignas o CNV de significado incierto cuya causalidad o patogenicidad no ha podido ser demostrada.

V.3. Metodología estadística

Para la estadística descriptiva, las variables cuantitativas se resumieron mediante estadísticos descriptivos básicos (media, desviación típica) y el gráfico histograma de frecuencias.

La posible asociación entre cada factor de riesgo categórico y obtener un resultado positivo en la técnica de *array*-CGH se contrastó mediante su tabla de contingencias asociada y el test chi-cuadrado o el exacto de Fisher sobre la hipótesis de dependencia entre ellos. Las diferencias entre los pacientes con resultado positivo y negativo en el *array*-CGH respecto a una variable numérica se contrastaron mediante el test no-paramétrico U de Mann-Whitney de comparación de distribuciones, dado el tamaño muestral reducido del grupo con resultado positivo.

Aquellos factores que mostraron tener una relación más importante con obtener un resultado positivo en el *array*-CGH se agruparon en un mismo modelo de regresión logística múltiple para comprobar si de manera conjunta podrían ser un buen predictor de positividad.

Los análisis estadísticos fueron realizados con el programa SPSS 19.0 (Armonk, NY: IBM Corp.). En general se consideraron estadísticamente significativos los resultados de los test con p-valor menor que 0,05 (nivel de significación alfa del 5%).

VI. RESULTADOS

VI.1. Características de la población estudiada

Un total de 52 pacientes, 23 (44,2%) varones, con una edad media de 9,56 años (rango 0,17-17,75, figura 1), fueron incluidos en el estudio.

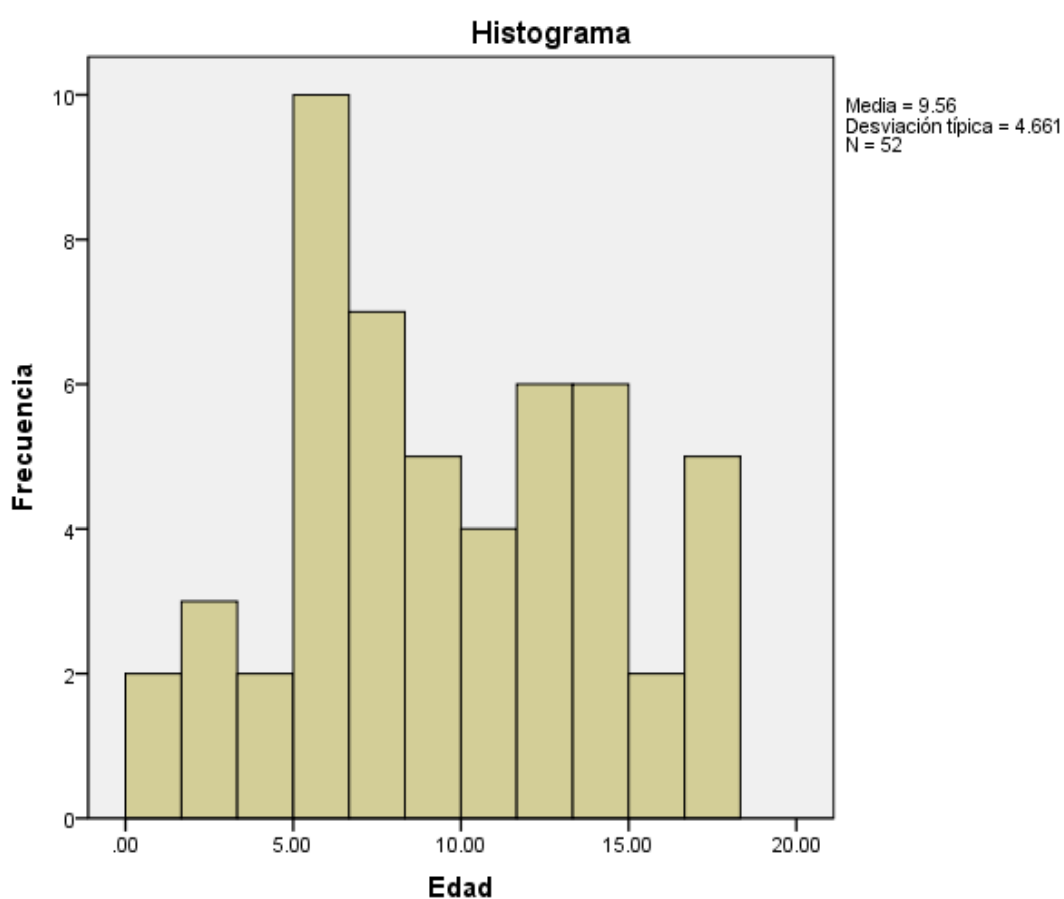


Figura 1. Distribución por edades (en años) de los pacientes estudiados

En 8 (15,4%) casos había antecedentes de abortos espontáneos en los progenitores, y en 10 (19,2%) había casos de discapacidad intelectual o del desarrollo en la familia.

En cuanto a los antecedentes personales, solo 1 paciente (1,9% del total) era fruto de un embarazo conseguido por técnicas de reproducción asistida, solo 7 (13,5%) habían sido prematuros y 13 (25%) habían presentado un retraso de crecimiento intrauterino.

La discapacidad intelectual era marcada en 28 (53,8%) pacientes, extensa en 15 (28,8%), y generalizada en 9 (17,3%).

Respecto a los signos clínicos asociados a la discapacidad intelectual, se observan, en orden decreciente de frecuencia:

- rasgos dismórficos en 41 pacientes (78,8%)
- retraso de crecimiento postnatal en 23 pacientes (44,2%)
- microcefalia en 18 pacientes (34,6%)
- malformaciones congénitas en otros sistemas en 18 pacientes (34,6%)
- rasgos autistas en 16 pacientes (30,8%)
- trastorno de conducta en 15 pacientes (28,8%)
- epilepsia en 13 pacientes (25%)
- macrocefalia en 3 pacientes (5,8%)

La distribución de nuestra población según el número de signos clínicos asociados por paciente se representa en la figura 2.

La relación de los datos clínicos de cada paciente se presenta en la Tabla I.

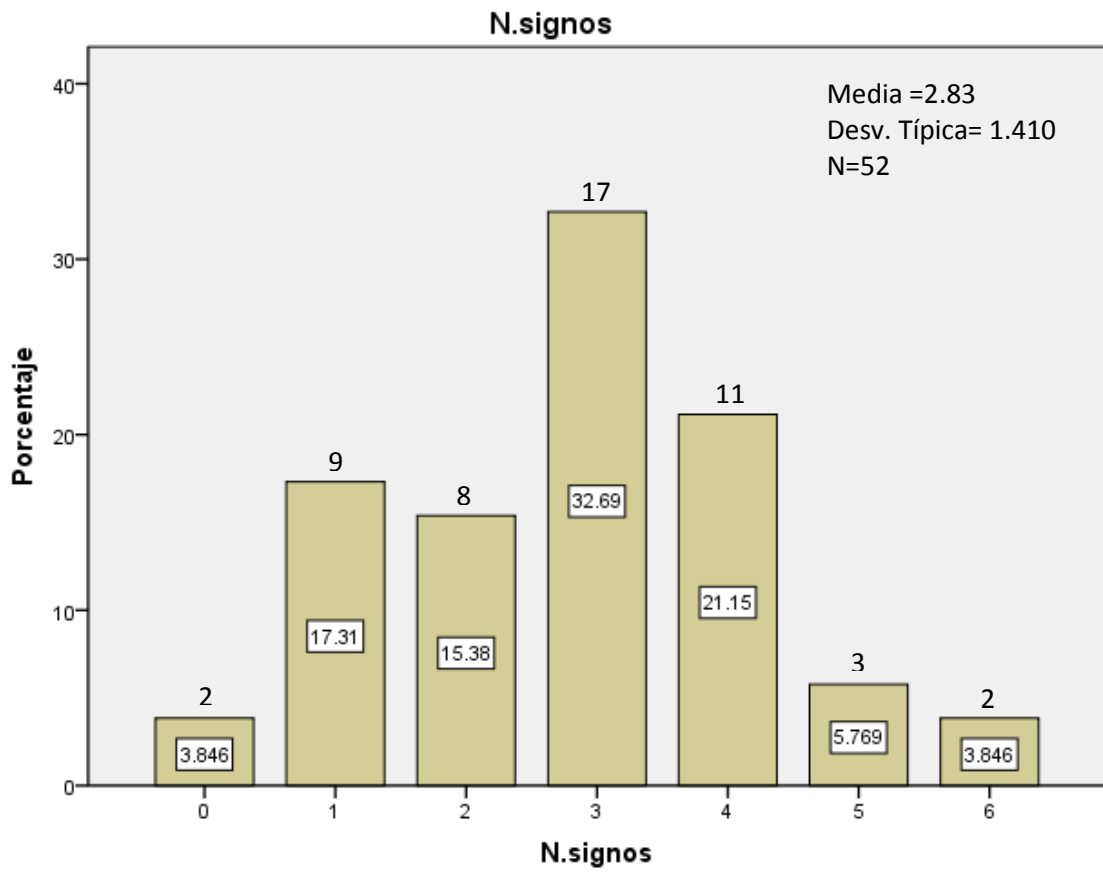


Figura 2. Distribución por número de signos clínicos asociados por paciente

Tabla I. Datos clínicos de los pacientes estudiados

Paciente	Género	Edad (años)	Historia de abortos espontáneos previos	Antecedentes de discapacidad intelectual o del desarrollo en la familia	Tipo de discapacidad intelectual o del desarrollo en la familia
1	masculino	2	NO	NO	
2	masculino	12,25	SI	NO	
3	masculino	7,33	NO	NO	
4	femenino	6	NO	NO	
5	masculino	13,92	NO	NO	
6	masculino	14,08	SI	NO	
7	femenino	11,67	NO	NO	
8	femenino	17,5	NO	NO	
9	masculino	6,08	NO	SI	Cuadro similar al paciente en primo (rama materna)
10	masculino	9,83	NO	NO	
11	masculino	7,5	NO	NO	
12	masculino	4,5	NO	NO	
13	femenino	12,25	NO	NO	
14	masculino	6,5	NO	SI	Abuelos (rama materna) primos hermanos. Discapacidad intelectual de causa no aclarada en 3 tíos (rama materna).
15	femenino	5	NO	NO	
16	femenino	4,25	SI	NO	
17	femenino	17,58	NO	NO	
18	femenino	8,58	NO	NO	
19	femenino	2,17	NO	NO	
20	femenino	6,33	NO	NO	
21	masculino	7,17	SI	NO	
22	masculino	3,17	NO	NO	
23	femenino	15,92	NO	NO	
24	femenino	0,17	NO	NO	
25	masculino	1,17	NO	SI	Síndrome de Down en tío (rama materna)
26	femenino	13,17	NO	NO	
27	masculino	7,25	NO	NO	
28	masculino	10,75	NO	NO	
29	femenino	15	NO	SI	Discapacidad intelectual de causa no aclarada en tío (rama materna)
30	masculino	6,25	NO	NO	
31	femenino	6,58	NO	NO	
32	masculino	7,75	NO	NO	
33	femenino	10,92	SI	NO	
34	masculino	13,33	NO	NO	
35	femenino	9,83	NO	NO	
36	femenino	7,17	NO	NO	
37	masculino	6	NO	NO	
38	masculino	12,75	NO	NO	
39	masculino	9,75	NO	SI	Discapacidad intelectual de causa no aclarada en varios tíos y primos (ambas ramas)
40	masculino	10,83	SI	NO	
41	femenino	16,92	SI	SI	Cuadro similar al paciente en hermano varón.
42	masculino	5,58	NO	NO	
43	masculino	14,08	NO	SI	Cuadro similar al paciente en hermana mujer.
44	femenino	9,17	NO	SI	Discapacidad intelectual de causa no aclarada en tía (rama materna)
45	femenino	17,25	NO	NO	
46	masculino	14,58	NO	SI	Cuadro similar al paciente en hermano varón.
47	masculino	14,5	NO	NO	
48	femenino	10,33	NO	NO	
49	masculino	17,75	NO	SI	Síndrome de Down en tío (rama materna)
50	masculino	5,08	SI	NO	
51	masculino	7,25	NO	NO	
52	femenino	14,5	NO	NO	

Paciente	Embarazo conseguido por técnicas de reproducción asistida	Prematuridad	Retraso de crecimiento intrauterino
1	SI	SI	NO
2	NO	NO	NO
3	NO	NO	NO
4	NO	NO	NO
5	NO	NO	SI
6	NO	NO	SI
7	NO	SI	NO
8	NO	NO	SI
9	NO	SI	NO
10	NO	NO	NO
11	NO	NO	NO
12	NO	NO	NO
13	NO	NO	NO
14	NO	NO	NO
15	NO	NO	NO
16	NO	NO	SI
17	NO	NO	NO
18	NO	NO	NO
19	NO	NO	NO
20	NO	NO	SI
21	NO	NO	SI
22	NO	NO	NO
23	NO	NO	NO
24	NO	NO	NO
25	NO	NO	NO
26	NO	NO	NO
27	NO	SI	NO
28	NO	NO	SI
29	NO	NO	SI
30	NO	NO	SI
31	NO	NO	NO
32	NO	NO	NO
33	NO	NO	SI
34	NO	NO	NO
35	NO	NO	SI
36	NO	NO	NO
37	NO	SI	NO
38	NO	NO	NO
39	NO	NO	NO
40	NO	NO	NO
41	NO	NO	NO
42	NO	NO	NO
43	NO	NO	NO
44	NO	NO	NO
45	NO	NO	NO
46	NO	NO	NO
47	NO	NO	NO
48	NO	NO	SI
49	NO	NO	NO
50	NO	SI	SI
51	NO	SI	NO
52	NO	NO	NO

Paciente	Grado discapacidad (marcada: 1; extensa: 2; generalizada:3)	Rasgos autistas	Trastorno de conducta	Descripción trastorno de conducta	Epilepsia
1	2	NO	NO		NO
2	2	NO	NO		NO
3	1	NO	NO		NO
4	3	NO	NO		SI
5	1	NO	NO		NO
6	3	NO	SI	Auto y heteroagresividad	SI
7	3	NO	NO		NO
8	3	NO	NO		SI
9	2	NO	SI	Auto y heteroagresividad, hiperfagia y obesidad, coprofagia	NO
10	2	NO	NO		NO
11	2	SI	NO		NO
12	2	SI	NO		NO
13	3	NO	NO		NO
14	1	SI	NO		NO
15	1	NO	SI	Hiperactividad	NO
16	2	SI	NO		NO
17	2	SI	NO		SI
18	3	SI	NO		SI
19	2	NO	NO		NO
20	1	NO	SI	Hiperfagia con obesidad, hiperactividad	NO
21	3	SI	NO		SI
22	1	SI	NO		NO
23	3	SI	NO		NO
24	2	NO	NO		NO
25	3	SI	NO		NO
26	2	SI	NO		SI
27	1	NO	SI	Hiperactividad	SI
28	2	SI	NO		SI
29	1	NO	SI	Hiperfagia con obesidad, hiperactividad	NO
30	1	NO	SI	Hiperfagia con obesidad	NO
31	1	NO	NO		SI
32	1	NO	NO		NO
33	1	NO	NO		NO
34	1	NO	SI	Hiperfagia con obesidad, hiperactividad	NO
35	1	NO	SI	Hiperactividad	NO
36	1	NO	SI	Hiperactividad	SI
37	2	SI	NO		NO
38	1	NO	SI	Hiperactividad	NO
39	1	NO	SI	Retraimiento, hiperfagia con obesidad	NO
40	1	SI	NO		NO
41	1	NO	SI	Hiperactividad	SI
42	1	SI	NO		NO
43	1	NO	NO		NO
44	1	NO	SI	Hiperfagia con obesidad, hiperactividad	NO
45	2	NO	SI	Trastorno obsesivo-compulsivo	NO
46	1	NO	NO		NO
47	1	NO	NO		NO
48	1	NO	NO		NO
49	1	NO	NO		NO
50	1	NO	NO		NO
51	1	NO	NO		NO
52	2	SI	NO		SI

Paciente	Retraso de crecimiento postnatal	Microcefalia	Macrocefalia	Rasgos dismórficos	Malformaciones congénitas afectando a otros sistemas	Descripción malformaciones congénitas afectando a otros sistemas
1	SI	NO	NO	NO	NO	
2	SI	NO	NO	SI	SI	Renal (atrofia renal izquierda)
3	NO	NO	SI	SI	SI	Cardíaco (vena cava superior izquierda persistente y ausencia de vena cava superior derecha)
4	NO	SI	NO	SI	NO	
5	SI	NO	NO	SI	NO	
6	SI	SI	NO	SI	SI	Cardíaco (engrosamiento válvula mitral, calcificaciones miocárdicas), renal (ectasia piélica grado II)
7	SI	NO	NO	SI	SI	Arteria umbilical única, cardíaco (válvula aórtica tricomisural)
8	NO	SI	NO	SI	NO	
9	NO	NO	NO	SI	NO	
10	NO	NO	NO	SI	SI	Músculo-esquelético (artrogriposis)
11	SI	SI	NO	SI	NO	
12	NO	SI	NO	SI	SI	Cutáneo (mosaicismo)
13	SI	SI	NO	SI	SI	Digestivo (atresia anal, fístula recto-vaginal, craneo-facial (paladar hendido, agenesia cuerpo calloso), cardíaco (estenosis pulmonar, ductus arterioso persistente), músculo-esquelético (artrogriposis de MMII)
14	NO	NO	NO	SI	NO	
15	SI	SI	NO	SI	NO	
16	NO	NO	NO	NO	NO	
17	NO	SI	NO	NO	NO	
18	SI	SI	NO	SI	NO	
19	SI	SI	NO	SI	NO	
20	SI	NO	NO	SI	SI	Oftalmológico (coloboma congénito)
21	SI	SI	NO	SI	SI	Genito-urinario (criptorquidia bilateral)
22	NO	NO	NO	NO	NO	
23	NO	NO	NO	SI	NO	
24	NO	NO	SI	SI	SI	Arteria umbilical única, cardíaco (CIA y CIV)
25	NO	SI	NO	SI	SI	Cardíaco (ductus arterioso persistente), genito-urinario (criptorquidia)
26	NO	SI	NO	SI	NO	
27	NO	SI	NO	SI	NO	
28	SI	SI	NO	SI	NO	
29	NO	NO	NO	NO	NO	
30	SI	NO	NO	SI	SI	Cardíaco (CIV)
31	SI	NO	NO	SI	NO	
32	NO	NO	NO	SI	NO	
33	SI	SI	NO	SI	SI	Digestivo (atresia de colon), músculo-esquelético (artrogriposis)
34	NO	NO	NO	NO	NO	
35	NO	NO	NO	NO	NO	
36	NO	NO	NO	SI	NO	
37	SI	NO	NO	SI	NO	
38	SI	NO	SI	SI	SI	Oftalmológico (coloboma congénito), genito-urinario (criptorquidia bilateral), craneo-facial (craneosinostosis)
39	NO	NO	NO	SI	NO	
40	SI	NO	NO	SI	NO	
41	NO	NO	NO	SI	NO	
42	NO	NO	NO	SI	NO	
43	NO	NO	NO	NO	NO	
44	NO	NO	NO	SI	NO	
45	NO	SI	NO	SI	NO	
46	NO	NO	NO	NO	NO	
47	SI	NO	NO	NO	NO	
48	SI	NO	NO	SI	SI	Arteria umbilical única
49	NO	SI	NO	SI	SI	Genito-urinario (criptorquidia bilateral), craneo-facial (craneosinostosis)
50	SI	NO	NO	NO	NO	
51	SI	NO	NO	SI	SI	Músculo-esquelético (sindactilia dedos 2-3 ambos pies)
52	NO	NO	NO	SI	SI	Músculo-esquelético (atrofia distal MMSS y MMII)

VI.2. Resultados en la técnica de *array*-CGH

La relación de resultados obtenidos en cada paciente se presenta en la tabla II.

Tabla II. Resultados en la técnica de *array*-CGH

Paciente	Resultados positivos en estudios genéticos previos	Descripción de resultados positivos en estudios genéticos previos	Resolución <i>array</i> -CGH	Resultados positivos en <i>array</i> -CGH	Descripción de resultado de <i>array</i> -CGH
1	NO		400K	NO	17 CNV benignas (8 duplicaciones, 9 deleciones)
2	NO		400K	NO	26 CNV benignas (10 duplicaciones, 16 deleciones)
3	NO		400K	NO	23 CNV benignas (7 duplicaciones, 17 deleciones)
4	NO		400K	NO	20 CNV benignas (12 duplicaciones, 8 deleciones)
5	NO		60K	SI	Deleción causal 13q12.3q13.1 de 2,814 Mb que contiene 7 genes OMIM; 22 CNV benignas (13 duplicaciones, 9 deleciones)
6	NO		400K	NO	11 CNV benignas (2 duplicaciones, 9 deleciones)
7	NO		400K	NO	Duplicación 5p15.2 de 140 Kb que afecta a exón 1 y parte del intrón 1-2 del gen <i>CTNND2</i> heredada de padre asintomático, luego benigna; 12 CNV benignas (4 duplicaciones, 8 deleciones)
8	SI	Duplicación Xq28 detectada en MLPA y confirmada por FISH, <i>de novo</i> , insertada en cromosoma 21, críptica al cariotipo	400K	SI	Duplicación causal Xq28 de 6,14 Mb con 89 genes OMIM incluidos <i>MECP2</i> y <i>GCI1</i> ; Deleción de significado incierto 4q32.3 de 450 Kb que no contiene genes OMIM, probable polimorfismo; 13 CNV benignas (7 duplicaciones, 6 deleciones)
9	NO		400K	SI	Duplicación causal Xp11.4p11.3 de 4,5 Mb que contiene 13 genes OMIM, heredada de la madre; Duplicación de significado incierto en 6p25.1 de 383 Kb, heredada de la madre, probable polimorfismo; 17 CNV benignas (6 duplicaciones y 11 deleciones).
10	NO		400K	NO	Deleción de significado incierto 11q22.3 de 260 Kb que implica deleción parcial del gen <i>DYNC2H1</i> exones 33 a 87, significado incierto; 9 CNV benignas (4 duplicaciones, 5 deleciones)
11	NO		400K	NO	Deleción de significado incierto 2q24.3 de 60 Kb que incluye el gen <i>SCN9A</i> exones 5 a 18 (de 27), significado incierto; Deleción de significado incierto 20p12.1 de 90 Kb que incluye intrón 3-4 del gen <i>MACROD2</i> , probable polimorfismo; 13 CNV benignas (5 duplicaciones, 8 deleciones)
12	SI*	Duplicación 16qter detectada en MLPA y comprobada por FISH, <i>de novo</i> , críptica al cariotipo *DELECIÓN CAUSAL CRÍPTICA A CARIOTIPO Y MLPA	400K	SI	Deleción causal 3q22.1q22.3 de 4 Mb que contiene 12 genes OMIM; Deleción de significado incierto 6q24.1 de 128 Kb que incluye el gen <i>VTA1</i> , significado incierto; Duplicación de significado incierto 16q24.3 de 640 Kb que contiene 17 genes OMIM, <i>de novo</i> (comprobado por MLPA); 9 CNV benignas (1 duplicación y 8 deleciones).
13	NO		400K	NO	14 CNV benignas (7 duplicaciones y 7 deleciones)
14	NO		400K	NO	12 CNV benignas (5 duplicaciones y 7 deleciones)
15	NO		400K	NO	Duplicación de significado incierto 3q22.3 de 670 Kb que contiene 2 genes OMIM, probable polimorfismo; 16 CNV benignas (10 duplicaciones y 6 deleciones)
16	NO		400K	NO	Deleción de significado incierto 2q32.1 de 70 Kb que no contiene genes conocidos, probable polimorfismo; Deleción de significado incierto 4p15.3 de 350 Kb que no contiene ningún gen, probable polimorfismo; Deleción 16p13.3 de 45 Kb que afecta al exón 3 del gen <i>CREBBP</i> , heredada de madre asintomática (comprobado por MLPA), luego benigna; 21 CNV benignas (9 duplicaciones y 12 deleciones)

Paciente	Resultados positivos en estudios genéticos previos	Descripción de resultados positivos en estudios genéticos previos	Resolución array-CGH	Resultados positivos en array-CGH	Descripción de resultado de array-CGH
17	NO		400K	NO	5 CNV benignas (1 duplicación y 4 deleciones)
18	NO		400K	NO	Duplicación de significado incierto 12q24.13 de 140 Kb que contiene 3 genes OMIM (<i>ACAD10</i> , <i>ALDH2</i> , <i>MAPKAPK5</i>) que no asocian clínica, se ha descrito en progenitores sanos, probablemente polimorfismo; 12 CNV benignas (2 duplicaciones y 10 deleciones)
19	NO		400K	NO	15 CNV benignas (6 duplicaciones y 9 deleciones)
20	NO		400K	NO	Duplicación de significado incierto 1p31.1 de 60 Kb que incluye intrón 1-2 del gen <i>NEGR1</i> , significado incierto; Duplicación de significado incierto 1q24.3 de 180 Kb que contiene el gen <i>GPR137B</i> , significado incierto; Duplicación de significado incierto 1q43 de 180 Kb que no contiene ningún gen OMIM, probable polimorfismo; 17 CNV benignas (9 duplicaciones y 8 deleciones)
21	NO		400K	NO	18 CNV benignas (8 duplicaciones y 10 deleciones)
22	NO		400K	NO	Delección de significado incierto en 14q32.12 de 80 Kb que afecta a exones 12-19 del gen <i>CATSPERB</i> , probablemente polimorfismo; Delección de significado incierto en 16p13.3 de 70 Kb que afecta al intrón 3-4 del gen <i>RBFOX1</i> , significado incierto; 20 CNV benignas (14 duplicaciones y 6 deleciones)
23	NO		400K	NO	Duplicación de significado incierto en 5q35.1 de 280 Kb que incluye los genes <i>RANBP17</i> , <i>USP12P1</i> , <i>TLX3</i> , <i>NPM1</i> y <i>FGF18</i> , significado incierto; 15 CNV benignas (8 duplicaciones y 7 deleciones)
24	SI	Cariotipo 46,XX con cromosoma 7 patológico: brazo q duplicado, comprobado por MLPA y FISH, <i>de novo</i>	400K	SI	Duplicación causal 7q33q36.3 de 23,28 Mb que incluye 112 genes OMIM; Delección causal 7q36.3 de 410 Kb que incluye el gen <i>VIPR2</i> ; 13 CNV benignas (4 duplicaciones y 9 deleciones)
25	NO		400K	NO	Duplicación de significado incierto en 2q33.1q33.2 de 160 Kb que incluye el gen <i>BMPR2</i> , significado incierto; 26 CNV benignas (10 duplicaciones y 16 deleciones)
26	NO		400K	NO	8 CNV benignas (5 duplicaciones y 3 deleciones)
27	NO		400K	NO	8 CNV benignas (2 duplicaciones y 6 deleciones)
28	NO		400K	NO	13 CNV benignas (2 duplicaciones y 11 deleciones)
29	NO		400K	NO	CNV benignas
30	NO		400K	NO	Duplicación de significado incierto en Yq11.221 de 243 Kb que no contiene genes conocidos, probable polimorfismo; CNV benignas
31	NO		400K	NO	CNV benignas
32	NO		400K	NO	CNV benignas
33	NO		400K	NO	CNV benignas
34	NO		400K	NO	CNV benignas
35	SI	Duplicación Xq28 detectada por MLPA que incluye el gen <i>MECP2</i> entero y parte de <i>IRAK1</i> y <i>FLNA</i> , comprobada por FISH, <i>de novo</i> , CRÍPTICA AL CARIOTIPO	400K	SI	Duplicación causal de Xq28 de 350 Kb que contiene 8 genes OMIM, desde <i>IRAK1</i> exón 13 hasta <i>RPLA10</i> , incluido el gen <i>MECP2</i> ; CNV benignas.
36	NO		400K	NO	Duplicación de significado incierto en 9q31.1 de 80 Kb que contiene el gen <i>COL15A1</i> , de significado incierto; CNV benignas.
37	NO		400K	NO	Duplicación de significado incierto 3q26.31 de 250 Kb que afecta a exones 12 a 14 del gen <i>NAALADL2</i> , probable polimorfismo; Delección de significado incierto 16q21 de 60 kb que no contiene genes conocidos, probable polimorfismo.
38	NO		400K	NO	CNV benignas

Paciente	Resultados positivos en estudios genéticos previos	Descripción de resultados positivos en estudios genéticos previos	Resolución <i>array</i> -CGH	Resultados positivos en <i>array</i> -CGH	Descripción de resultado de <i>array</i> -CGH
39	NO		400K	SI	Deleción causal 22q11.21 de 2,51 Mb que afecta a 39 genes OMIM, incluido el gen <i>TBX1</i> ; CNV benignas.
40	NO		400K	NO	Deleción de significado incierto en 22q12.3 de 30 Kb que afecta a intrón 2-3 del gen <i>LARGE</i> , probable polimorfismo; CNV benignas.
41	NO		400K	NO	CNV benignas
42	NO		400K	NO	CNV benignas
43	NO		180K	NO	CNV benignas
44	NO			SI	Deleción causal 2p25.3 de 2,3 Mb que contiene 7 genes OMIM, incluido el gen <i>MYTL1</i> ; CNV benignas.
45	NO		180K	NO	CNV benignas
46	NO		180K	NO	CNV benignas
47	NO		180K	NO	CNV benignas
48	NO		180K	SI	Deleción causal 17p13.3 de 2,1 Mb que contiene 33 genes OMIM, incluido el gen <i>YWHAE</i> ; CNV benignas.
49	NO		180K	NO	Duplicación de significado incierto 6q27 de 670 Kb de significado incierto que incluye 2 genes OMIM, significado incierto; Duplicación 16p13.2 de 40 Kb que afecta a intrón 4-5 del gen <i>RBFOX1</i> , probable polimorfismo.
50	NO		180K	NO	CNV benignas
51	NO		180K	NO	CNV benignas
52	NO		180K	NO	CNV benignas

VI.2.a. Resultados positivos

En 9 pacientes (pacientes 5, 8, 9, 12, 24, 35, 39, 44 y 48, 17,3% del total de 52) se obtiene un resultado positivo en el *array*-CGH, es decir, se encuentra una CNV patogénica o causal. Esta CNV patogénica o causal había sido previamente detectada en el cariotipo de alta resolución y en la MLPA en 1 (1,9%) paciente, y únicamente en la MLPA en otros 2 (3,8%) pacientes, no detectándose ni en cariotipo ni en MLPA en los 6 pacientes restantes.

La descripción detallada de los hallazgos en cada paciente con resultado positivo en la técnica de *array*-CGH se recoge en los informes adjuntos (anexo C).

VI.2.b. Resultados negativos

En 43 pacientes (82,7% del total de 52) no se obtiene un resultado positivo en el *array*-CGH, es decir, no se encuentra una CNV patogénica o causal. En ninguno de ellos se había encontrado previamente alteraciones ni en el cariotipo ni en la MLPA.

De ellos, en 27 pacientes sólo se encuentran CNV benignas.

En los 16 restantes se encuentran además CNV de significado incierto. En 8 de ellos, considerados probables polimorfismos o CNV benignas presentes en progenitores asintomáticos (pacientes 7, 8, 15, 16, 18, 30, 37, 40); en los 8 restantes, de benignidad o patogenicidad no comprobada, en 5 de ellos (pacientes 10, 15, 20, 36 y 49) por baja probabilidad de patogenicidad y en 3 (pacientes 11, 22 y 23) por falta de consentimiento familiar.

VI.3. Relación entre obtener un resultado positivo en la técnica de *array*-CGH y la presencia de datos clínicos

Se compara las características clínicas del grupo de pacientes con resultado positivo en el *array*-CGH con las del grupo de pacientes con resultado negativo (Tabla III).

Tabla III. Características clínicas de los grupos con resultado positivo y negativo en el *array*-CGH.

	Positivo en <i>array</i> -CGH				OR	p (Fisher)
	No (43)		Sí (9)			
	N	%	N	%		
Género (femenino)	25	58,14%	4	44,44%	0,576	0,486
Historia de aborto espontáneo previo	8	18,60%	0	0,00%	0,000	0,323
Antecedentes familiares de discapacidad intelectual	7	16,28%	3	33,33%	2,271	0,349
Embarazo asistido	1	2,33%	0	0,00%	0,000	1,000
Prematuridad	6	13,95%	1	11,11%	0,771	1,000
Retraso crecimiento intrauterino	9	20,93%	4	44,44%	3,022	0,203
Rasgos autistas	15	34,88%	1	11,11%	0,233	0,245
Trastorno conducta	11	25,58%	4	44,44%	2,327	0,419
Epilepsia	12	27,91%	1	11,11%	0,323	0,420
Retraso crecimiento postnatal	21	48,84%	2	22,22%	0,299	0,268
Microcefalia	16	37,21%	2	22,22%	0,470	0,482
Macrocefalia	2	4,65%	1	11,11%	2,563	0,442
Rasgos dismórficos	33	76,74%	8	88,89%	2,424	0,664
Malformaciones congénitas otros sistemas	15	34,88%	3	33,33%	0,933	1,000
Discapacidad	marcada	23	53,49%	5	55,56%	1,000
	extensa	12	27,91%	3	33,33%	
	severa	8	18,60%	1	11,11%	

	Positivo en <i>array</i> -CGH				p (Mann-Whitney)
	No (43)		Sí (9)		
	Media	Desv. típica	Media	Desv. típica	
Edad	9,67	4,63	9,03	5,08	0,699
Número signos clínicos asociados	2,91	1,49	2,44	0,88	0,280

Se realiza una regresión logística múltiple (tablas IV, V y VI) que tiene como variable dependiente el obtener un resultado positivo en el *array*-CGH, y como independientes los datos clínicos que aparentemente más influyen en obtener un resultado positivo en el *array*-CGH, para ver si una combinación de ellos podría ser un buen predictor de ser positivo, aceptando que debido al escaso tamaño muestral, el resultado podría no ser replicable.

Tabla IV. Modelo completo incluyendo al mismo tiempo todos datos clínicos que aparentemente más influyen en obtener un resultado positivo en el *array*-CGH

		Variables en la ecuación					I.C. 95% para OR		
		B	E.T.	Wald	gl	Sig.	OR	Inferior	Superior
Paso 1 ^a	Genero=Fem	-.729	.838	.757	1	.384	.482	.093	2.492
	Antecedentes.fam	2.075	1.147	3.276	1	.070	7.966	.842	75.359
	Retr.crec.intrauter	2.085	1.036	4.048	1	.044	8.043	1.055	61.296
	Trast.conducta	.209	.877	.057	1	.811	1.233	.221	6.872
	Macrocefalia	2.092	1.488	1.978	1	.160	8.104	.439	149.603
	Rasgos.dismorf	1.798	1.436	1.568	1	.210	6.039	.362	100.715
	Constante	-4.182	1.718	5.926	1	.015	.015		

a. Variable(s) introducida(s) en el paso 1: Género, Antecedentes.fam, Retr.crec.intrauter, Trast.conducta, Macrocefalia, Rasgos.dismorf.

Tabla V. Modelo simplificado 1, eliminando los datos menos significativos del modelo completo

		Variables en la ecuación						I.C. 95% para OR	
		B	E.T.	Wald	gl	Sig.	OR	Inferior	Superior
Paso 1 ^a	Antecedentes.fam	2.023	1.055	3.679	1	.055	7.559	.957	59.718
	Retr.crec.intrauter	2.124	1.012	4.410	1	.036	8.368	1.152	60.766
	Macrocefalia	2.003	1.465	1.871	1	.171	7.414	.420	130.850
	Rasgos.dismorf	1.631	1.325	1.516	1	.218	5.109	.381	68.531
	Constante	-4.328	1.615	7.182	1	.007	.013		

a. Variable(s) introducida(s) en el paso 1: Antecedentes.fam, Retr.crec.intrauter, Macrocefalia, Rasgos.dismorf.

Tabla VI. Modelo simplificado 2, eliminando los datos menos significativos del modelo simplificado 1

		Variables en la ecuación						I.C. 95% para OR	
		B	E.T.	Wald	gl	Sig.	OR	Inferior	Superior
Paso 1 ^a	Antecedentes.fam	1.342	.902	2.212	1	.137	3.825	.653	22.413
	Retr.crec.intrauter	1.426	.841	2.873	1	.090	4.160	.800	21.627
	Constante	-2.354	.624	14.246	1	.000	.095		

a. Variable(s) introducida(s) en el paso 1: Antecedentes.fam, Retr.crec.intrauter.

VII. DISCUSIÓN

VII.1. Características de la población estudiada

Un total de 52 pacientes, 23 (44,2%) varones, con una edad media de 9,56 años (rango 0,17-17,75), fueron incluidos en el estudio. En 8 (15,4%) casos había antecedentes de abortos espontáneos en los progenitores, y en 10 (19,2%) había casos de discapacidad intelectual o del desarrollo en la familia. En cuanto a los antecedentes personales, solo 1 paciente (1,9% del total) era fruto de un embarazo conseguido por técnicas de reproducción asistida, solo 7 (13,5%) habían sido prematuros y 13 (25%) habían presentado un retraso de crecimiento intrauterino. La discapacidad intelectual era marcada en más de la mitad de los casos (en 28 pacientes, 53,8%), extensa en menos de un tercio (en 15 pacientes, 28,8%) y generalizada solo en 9 (17,3%) pacientes. Respecto a los signos clínicos asociados a la discapacidad intelectual, solo 2 pacientes (3,8%) no presentaban ninguno, mientras que lo más frecuente es que presentaran 3 (17 pacientes, 32,7%), 4 (11 pacientes, 21,2%), 1 (9 pacientes, 17,3%) ó 2 (8 pacientes, 15,4%). El signo clínico más frecuentemente asociado fue la presencia de rasgos dismórficos (41 pacientes, 78,8%) y el retraso de crecimiento postnatal (23 pacientes, 44,2%), y el más raramente asociado la macrocefalia (en solo 3 pacientes, 5,8%), mientras que el resto (la presencia de rasgos autistas, trastorno de conducta, epilepsia, microcefalia o malformaciones congénitas afectando a otros sistemas) estaba presente en entre un cuarto y un tercio de los pacientes.

El número de pacientes incluidos en los diferentes estudios publicados sobre la utilidad de la técnica de *array*-CGH en el estudio de la discapacidad intelectual y del desarrollo varía ente 32-87 [Iourov *et al.* 2012, Behjati *et al.* 2013, Byeon *et al.* 2014, Kashevarova *et al.* 2014, Pereira *et al.* 2014, Uwineza *et al.* 2014, Coutton *et al.* 2015] y más de 100 y hasta más de 500 sobre todo en cohortes multicéntricas o de laboratorios de genética de referencia [Hayashi *et al.* 2011, Wincent *et al.* 2011, Tzetis *et al.* 2012, Battaglia *et al.*

2013, Marano *et al.* 2013, Lee *et al.* 2013, Rodríguez-Revenga *et al.* 2013, Shoukier *et al.* 2013, Bartnik *et al.* 2014a, Bartnik *et al.* 2014b, Caramaschi *et al.* 2014, Chong *et al.* 2014, Tao *et al.* 2014, Choucair *et al.* 2015]. La selección de los pacientes es una de las diferencias más importantes entre los diferentes estudios publicados, que influirá a la hora de comparar la rentabilidad de la técnica de *array*-CGH. La mayoría, al igual que el presente estudio, solo incluye pacientes en edad pediátrica [Hayashi *et al.* 2011, Iourov *et al.* 2012, Tzetis *et al.* 2012, Behjati *et al.* 2013, Battaglia *et al.* 2013, Shoukier *et al.* 2013, Bartnik *et al.* 2014b, Byeon *et al.* 2014, Caramaschi *et al.* 2014, Chong *et al.* 2014, Kashevarova *et al.* 2014, Pereira *et al.* 2014, Tao *et al.* 2014, Uwineza *et al.* 2014, Choucair *et al.* 2015, Coutton *et al.* 2015], mientras que otros incluyen también adultos [Wincent *et al.* 2011, Lee *et al.* 2013, Rodríguez-Revenga *et al.* 2013, Bartnik *et al.* 2014a]. Pero el principal punto diferenciador, que dificulta la comparación entre los diferentes estudios, es si estos incluyen solo pacientes con discapacidad intelectual o también pacientes con malformaciones congénitas sin discapacidad intelectual asociada, excluidos en nuestro estudio [Wincent *et al.* 2011, Tzetis *et al.* 2012, Rodríguez-Revenga *et al.* 2013, Byeon *et al.* 2014, Tao *et al.* 2014]; y entre los estudios que incluyen solo pacientes con discapacidad intelectual, si esta debe ir obligatoriamente asociada con malformaciones congénitas [Chong *et al.* 2014, Hayashi *et al.* 2011, Iourov *et al.* 2012, Caramaschi *et al.* 2014, Kashevarova *et al.* 2014, Uwineza *et al.* 2014] o rasgos dismórficos [Battaglia *et al.* 2013, Behjati *et al.* 2013, Caramaschi *et al.* 2014] o epilepsia [Caramaschi *et al.* 2014], o si incluyen también, como el presente estudio, pacientes con discapacidad intelectual sin otros hallazgos asociados [Lee *et al.* 2013, Shoukier *et al.* 2013, Bartnik *et al.* 2014b, Bartnik *et al.* 2014a, Pereira *et al.* 2014, Choucair *et al.* 2015, Coutton *et al.* 2015]. De la misma manera, es importante destacar que algunos estudios, como el nuestro, excluyen a pacientes con aneuploidías u otros síndromes genéticos bien definidos [Hayashi *et al.* 2011, Wincent *et al.* 2011, Tzetis *et al.* 2012, Behjati *et al.* 2013, Shoukier *et al.* 2013, Bartnik *et al.* 2014a, Bartnik *et al.* 2014b, Battaglia *et al.* 2013, Rodríguez-Revenga *et al.* 2013, Caramaschi *et al.* 2014, Pereira *et al.* 2014, Tao *et al.* 2014, Uwineza *et al.* 2014, Choucair *et al.* 2015, Coutton *et al.* 2015], mientras que otros

no [Iourov *et al.* 2012, Lee *et al.* 2013, Byeon *et al.* 2014, Chong *et al.* 2014, Kashevarova *et al.* 2014]. De los que excluyen como el nuestro a pacientes con aneuploidías u otros síndromes genéticos bien definidos, algunos estudios excluyen además a los pacientes con otras alteraciones en el cariotipo o en la MLPA [Hayashi *et al.* 2011, Tzetis *et al.* 2012, Behjati *et al.* 2013, Rodríguez-Revenga *et al.* 2013, Shoukier *et al.* 2013, Pereira *et al.* 2014, Choucair *et al.* 2015, Coutton *et al.* 2015] mientras que otros, como el nuestro, no [Wincent *et al.* 2011, Battaglia *et al.* 2013, Lee *et al.* 2013, Bartnik *et al.* 2014a, Bartnik *et al.* 2014b, Caramaschi *et al.* 2014, Tao *et al.* 2014, Uwineza *et al.* 2014]. Pocos trabajos especifican un grado concreto de discapacidad intelectual en los criterios de inclusión: en un estudio [Choucair *et al.* 2015] se incluye solo pacientes con discapacidad intelectual moderada a severa, y en otro, al contrario, se incluye solo pacientes con discapacidad intelectual leve [Coutton *et al.* 2015]; en el resto, como en el presente trabajo, el grado de discapacidad no constituye una limitación para la inclusión y se supone que se incluye pacientes con cualquier grado, si bien raramente se especifica: únicamente los trabajos de Wincent *et al.* (2011) y de Uwineza *et al.* (2014) detallan que incluyen, respectivamente, 43,6% y 16,7% pacientes con discapacidad intelectual de grado leve, 22,6% y 30,5% de grado moderado, y 33,8% y 52,8% de grado severo o profundo, distribución –sobre todo la de Uwineza *et al.* (2014)- diferente la que encontramos en nuestra población, en la que la discapacidad marcada (equivalente a la leve) supone más de la mitad de los casos y la extensa (equivalente a la moderada) casi un tercio, siendo los más escasos los casos de discapacidad generalizada (equivalente a moderada y severa). Esta diferencia seguramente radica, como hemos explicado, en los diferentes criterios de inclusión de los distintos trabajos, que hace difícil compararlos: así, en el trabajo de Uwineza *et al.* (2014), a diferencia del nuestro, se incluye solo pacientes con discapacidad intelectual que asocian malformaciones congénitas, grupo que es posible que asocie un grado mayor de discapacidad intelectual. La distribución del grado de discapacidad en nuestra cohorte es probablemente poco sesgada y bastante representativa de la población con discapacidad intelectual de causa genética si se excluyen las aneuploidías y los síndromes genéticos bien definidos, en la que serían más

frecuentes, al igual que en la población con discapacidad intelectual por cualquier causa, los casos de grado leve, siendo los de grado moderado o severo los más raros. En cuanto a la descripción del resto de características clínicas de los paciente incluidos en las diferentes muestras, frecuentemente no se detallan, describiéndose tan solo los de los pacientes con un resultado positivo o incierto en el *array*-CGH. En nuestro trabajo, una descripción clínica detallada de todos los pacientes incluidos en el estudio es esencial para analizar si la presencia de signos clínicos se relaciona con una mayor probabilidad de encontrar un resultado positivo en el *array*-CGH, como hacen también los ya citados trabajos de Marano *et al.* 2013, Shoukier *et al.* 2013 y Caramaschi *et al.* 2014.

En conclusión, nuestra muestra se compone de un número de pacientes comparable al de otros estudios que describen la utilidad de la técnica de *array*-CGH en otros centros, y en su selección se ha tratado de evitar sesgos incluyendo pacientes con cualquier grado de discapacidad, evitando excluir aquellos con grado de discapacidad leve o sin otros signos- como malformaciones congénitas o rasgos dismórficos- asociados. El resultado es una muestra probablemente representativa de la población con discapacidad intelectual de causa genética si se excluyen las aneuploidías y los síndromes genéticos bien definidos. Además se detallan las características clínicas de todos los pacientes con el fin de, como objetivo secundario, analizar si la presencia de signos clínicos se relaciona con una mayor probabilidad de encontrar un resultado positivo en el *array*-CGH.

VII.2. Resultados en la técnica de *array*-CGH

VII.2.a. Resultados positivos

En el presente trabajo se encuentra un resultado positivo en la técnica de *array*-CGH, esto es, se desvela una CNV causal o patogénica que explica el cuadro clínico, en 9 (17,3%) de un total de 52 niños y adolescentes con discapacidad intelectual o del desarrollo como signo clínico principal asociado o no a rasgos del espectro autista,

trastorno de conducta, epilepsia, retraso del crecimiento intrauterino y/o postnatal, micro- o macrocefalia, rasgos dismórficos y/o malformaciones, que no constituya un síndrome clínico definido y cuya causa no haya sido aclarada.

En ninguno de los 9 pacientes con un resultado positivo en el *array*-CGH se encuentra más de una CNV patogénica o causal. De las 9 CNV causales o patogénicas encontradas en los 9 pacientes, 5 son deleciones (55,6%, pacientes 5, 12, 39, 44 y 48), 3 duplicaciones (33,3%, pacientes 8, 9 y 35), y 1 (11,1%, paciente 24) es una duplicación combinada con una deleción. Seis (66,7%) de ellas afectan a autosomas, mientras que 3 (33,3%) afectan al cromosoma X, 1 en un varón (paciente 9), las otras dos en mujeres (pacientes 8 y 35). El tamaño de las CNV patogénicas o causales encontradas varía entre 350 Kb en el paciente 35 y 23,28 Mb en el paciente 24 (mediana 4 Mb). El tamaño de la menor de las CNV patogénicas encontradas cuatriplica la resolución mínima de la plataforma KaryoNIM® Autismo 180K, la de menor resolución de las dos empleadas, lo que apoya la decisión clínica de cambiar de la de mayor resolución (KaryoNIM® 400K) a esta de menor resolución para disminuir el número de resultados de significado incierto que complican la interpretación y encarecen el estudio sin aumentar la rentabilidad diagnóstica. Solo en el paciente con la CNV de mayor tamaño (paciente 24, 23,28 Mb), esta había sido detectada previamente en el cariotipo de alta resolución. Esta y otras 2 CNV patogénicas (en pacientes 8 y 35), así como 1 CNV de significado incierto en el paciente 12, habían sido previamente detectadas en el estudio de MLPA. El *array*-CGH se consideró indicado en estos casos bien para delimitar el tamaño de la alteración, los genes incluidos y los puntos de rotura, informaciones clave para la comprensión del cuadro, bien porque la anomalía encontrada no explicaba el cuadro clínico (en paciente 12). Por tanto, en 6 pacientes la CNV patogénica no había sido detectada ni en el cariotipo ni en la MLPA, bien por el pequeño tamaño de la alteración, bien por la falta de cobertura de la sonda empleada: así, el paciente 39 con una deleción 22q11.2 fue un falso negativo en la MLPA por la SALSA utilizada (P245-A2), que se habría detectado con la P245-B2.

De los 9 pacientes con CNV patogénica, solo 1, el paciente 39, presentaba un síndrome bien definido, el síndrome de microdelección 22q11.2 (OMIM #611867), que se caracteriza por una afectación menos severa que las dos expresiones fenotípicas más conocidas de esta alteración, el síndrome de DiGeorge (OMIM #188400) y el síndrome velo-cardio-facial (OMIM #192430), con los que comparte algunas características: antecedentes de prematuridad y retraso de crecimiento intrauterino, discapacidad intelectual leve o ausente, síntomas psiquiátricos, incluidos psicóticos, frecuentes, retraso del crecimiento postnatal, anomalías esqueléticas leves y solo en ocasiones malformaciones cardíacas o anomalías en paladar, sin anomalías paratiroideas o ni déficits inmunitarios ni otras malformaciones asociadas [Ben-Shachar *et al.* 2008]. En el caso del paciente 39 de nuestra cohorte, el fenotipo era aún más leve e inespecífico, ya que si bien sí presentaba antecedentes de discapacidad intelectual y problemas psiquiátricos en la familia, no tenía sin embargo antecedentes de prematuridad ni de retraso de crecimiento intrauterino, y presentaba una discapacidad intelectual leve asociada a dismorfia leve y a un trastorno de conducta con tendencia al retraimiento e hiperfagia con obesidad, no asociada a retraso de crecimiento ni a malformaciones congénitas. Por este motivo no fue identificado como síndrome genético bien definido. Además, como ya se ha comentado, la SALSA de MLPA empleada no permitió poner de manifiesto la delección 22q11.2, y al no haber una alta sospecha clínica no se realizó MLPA con otra SALSA, por lo que solo el *array*-CGH permitió llegar al diagnóstico. Otras 2 pacientes mujeres de la cohorte (pacientes 8 y 35) presentan una duplicación Xq28 que incluye el gen *MECP2*, que en varones constituye un síndrome bien definido (síndrome de Lubs, OMIM #300260) con una penetrancia del 100% que se caracteriza por discapacidad intelectual generalizada asociada a rasgos dismórficos leves, rasgos autistas, epilepsia, infecciones recurrentes, ataxia y espasticidad progresiva [Ramocki *et al.* 2010]; las mujeres portadoras se pensaba que no estaban afectas por un mecanismo de inactivación sesgada con inactivación preferencial del cromosoma X afecto; sin embargo, en los últimos años se han descrito casos de mujeres afectas, bien por inserción del material duplicado en un autosoma, como es el caso de nuestra paciente 8,

bien por inactivación aleatoria del cromosoma X, como se cree es el caso de la paciente 35 [San Antonio-Arce *et al.* in press]. Estas 2 pacientes ilustran el amplio espectro fenotípico de las microduplicaciones de Xq28 incluyendo *MECP2* en mujeres: la paciente 8 presenta una discapacidad intelectual generalizada con ausencia de lenguaje, asociada a rasgos dismórficos, microcefalia y epilepsia, mientras que la paciente 35 presenta únicamente una discapacidad intelectual leve con mayor afectación del lenguaje asociada a un trastorno de conducta con hiperactividad pero sin otros signos asociados. Estos son ejemplos de la dificultad de delinear claramente los síndromes genéticos que están poniendo de manifiesto los estudios de *array*-CGH en la práctica clínica y de la importancia de indicar estos exámenes, como en el presente estudio, no solo en casos con mayor afectación (mayor grado de discapacidad y mayor número de signos asociados) sino también en casos más leves. Esto tiene relevancia no solo para ayudar a la delimitación fenotípica de las diferentes alteraciones genéticas, sino también, en práctica clínica, para poder dar un adecuado consejo genético familiar: las pacientes como nuestra paciente 35, afectas de un cuadro leve por duplicación de *MECP2*, tienen un 25% de probabilidades de tener una hija mujer portadora o afectada de un cuadro de menor o mayor severidad pero, lo que es más importante, tienen un 25% de probabilidades de tener un hijo varón afectado del gravísimo síndrome de Lubs.

El número de resultados positivos de nuestro estudio supone un rendimiento de la técnica de *array*-CGH de 17,3% en nuestra población, o del 12,2% si se cuenta únicamente las anomalías crípticas a cariotipo y MLPA. Este resultado confirma nuestra hipótesis de trabajo, de que el rendimiento en nuestra población sería al menos similar al publicado en otras poblaciones. Así, este resultado es muy similar al de los trabajos publicados que tienen criterios de inclusión de pacientes similares a los nuestros, que encuentran un rendimiento del 21,4% [Bartnik *et al.* 2014b], o del 8,9% al 12% si solo cuentan los casos crípticos al cariotipo y a la MLPA [Shoukier *et al.* 2013, Bartnik *et al.* 2014b, Choucair *et al.* 2015]. Las mayores cifras de pacientes con resultado positivo en el estudio de *array*-CGH se encuentran en trabajos en los que se incluye también

pacientes con malformaciones congénitas sin discapacidad intelectual asociada (25,15% en el trabajo de Tzetis *et al.* 2012 o 24,4% en el de Byeon *et al.* 2014) y en los que no se excluye pacientes con aneuploidías u otros síndromes genéticos bien definidos (27,8% en la cohorte de Iourov *et al.* 2012, 24,4% en la ya citada de Byeon *et al.* 2014, 28% en la de Kashevarova *et al.* 2014). Asimismo, se encuentran cifras mayores de resultados positivos en los trabajos en que se incluye solo pacientes con discapacidad intelectual con otros signos asociados (23% en el de Caramaschi *et al.* 2014, 26% en el de Uwineza *et al.* 2014), evocando la posibilidad de una mayor probabilidad de obtener un resultado positivo en el *array*-CGH en relación con la presencia de determinadas características clínicas, posibilidad que tratan de comprobar los trabajos de Marano *et al.* 2013, Shoukier *et al.* 2013 y Caramaschi *et al.* 2014, al igual que el nuestro como objetivo secundario. En el lado contrario, cabe destacar el estudio de Coutton *et al.* (2015), que no solo incluye pacientes con independencia de que asocien o no otros signos clínicos, sino que además todos presentan un grado leve de discapacidad intelectual, y aun así encuentra CNV patogénicas en el 12%, lo que apoya una vez más la conveniencia de haber incluido en nuestro estudio pacientes con cualquier grado de discapacidad con o sin otros signos asociados. Aparte de los criterios de inclusión, otras diferencias entre los distintos estudios pueden haber influido los diferentes resultados, aunque probablemente en menor grado. Obviamente, las técnicas utilizadas para realizar el *array*-CGH, con plataformas de BAC o, como en nuestro trabajo, de oligonucleótidos y, en especial, la resolución de estas pueden suponer un factor limitante a la hora de detectar CNV patogénicas. De hecho, el tamaño de las diferentes CNV patogénicas descritas es, como en nuestro estudio, muy variable, y aunque en principio a mayor tamaño mayor probabilidad de contener genes relevantes y por tanto de ser patogénica, se han descrito CNV patogénicas de tamaño menor de 100 Kb. De hecho, Rodríguez-Reventa *et al.* (2013), que emplean en su trabajo 2 *array*-CGH de 44K y 244K, encuentran que 17 (54,8%) de las 31 CNV patogénicas en su muestra miden menos de 1 Mb; sin embargo, todas excepto 1 son detectables con los 2 *array*-CGH de 44K y 244K, dando en cambio el de 244K muchos más resultados de significado incierto que

complican la interpretación. De los trabajos citados que estudian la utilidad del *array*-CGH en el estudio de pacientes con discapacidad intelectual, solo uno emplea una plataforma basada en BAC de 2,5 Mb de resolución [Lee *et al.* 2013], el resto emplea plataformas de resolución mínima de 1 Mb (desde 40K hasta 2,7M, mediana 135K), por lo que en principio la técnica empleada no constituye probablemente, ni en estos ni en nuestro estudio, un sesgo significativo.

En 3 de los 9 pacientes con CNV patogénicas o causales se encuentran además 4 CNV de significado incierto: 1 deleción de 450 Kb en la paciente 8, que por su tamaño y contenido en genes se considera probable polimorfismo; 1 duplicación de 383 Kb en el paciente 9, heredada de la madre asintomática; y 1 deleción de 128 Kb y una duplicación *de novo* de 630 Kb previamente detectada por MLPA, ambas de significado incierto, en el paciente 12. En estos pacientes se había empleado el *array*-CGH KaryoNIM® 400K, pero por su tamaño estas CNV habrían sido detectadas también por el KaryoNIM® Autismo 180K.

En los 9 pacientes con CNV patogénicas se encuentran además múltiples CNV benignas cuyo tamaño y localización no se especifica.

En conclusión, el rendimiento de la técnica de *array*-CGH en nuestra población es de 17,3%, o de 12,2% si se cuenta únicamente las anomalías crípticas a cariotipo y MLPA. Este resultado confirma nuestra hipótesis de trabajo, y es muy similar al de los trabajos publicados que tienen criterios de inclusión de pacientes similares a los nuestros. Las técnicas empleadas son también comparables y no constituyen probablemente un sesgo significativo.

Es importante decir que el presente estudio, al igual que otros estudios publicados, trata de determinar la utilidad de la técnica de *array*-CGH en el estudio etiológico de los pacientes con discapacidad intelectual o del desarrollo. No trata de demostrar la validez de esta prueba, que no puede ser demostrada al no existir *gold-standard* para la detección e interpretación de las CNV, cuyo conocimiento se ha ido ampliando con el

empleo de esta misma técnica. La información que se va adquiriendo y vertiendo en bases de datos es lo que va permitiendo resolver el reto originado con el propio nacimiento de la técnica: el saber qué CNV son benignas y cuáles patogénicas o causales. Asimismo, como se ha visto, la aplicación de la técnica en la práctica clínica y en poblaciones menos seleccionadas va permitiendo delinear el espectro fenotípico, en ocasiones amplio, de las CNV patogénicas.

VII.2.b. Resultados negativos

En 43 pacientes (82,7% del total de 52) no se obtiene un resultado positivo en el *array*-CGH, es decir, no se encuentra una CNV patogénica o causal. En ninguno de ellos se había encontrado previamente alteraciones ni en el cariotipo ni en la MLPA.

En todos ellos se encontró múltiples CNV benignas y en 27 (51,9% del total de 52) únicamente CNV benignas. En los 16 restantes se encuentran además 23 CNV de significado incierto, 13 duplicaciones y 10 deleciones, de tamaños entre 30 y 670 Kb (mediana 140 Kb), que si se suman a las 4 CNV de significado incierto encontradas en 3 pacientes con un *array*-CGH positivo dan un total de 27 CNV de resultado incierto (15 duplicaciones y 12 deleciones, de tamaños entre 30 y 670 Kb, mediana 140 Kb) en 20 (38,5%) de 52 pacientes, de las que solo 2 duplicaciones en 1 paciente fueron detectadas por el KaryoNIM® Autismo 180K, que no habría sido capaz de detectar 8 de las detectadas por CGH KaryoNIM® 400K. Esto confirma que el cambio de la técnica de mayor a menor resolución en nuestro estudio no solo como ya se ha visto probablemente no disminuye el rendimiento, sino que además probablemente disminuye la complejidad de la interpretación, al pasar de 25 CNV de significado incierto en 17 (41,5%) de 41 pacientes con CGH KaryoNIM® 400K, a 1 en 1 (10%) de 10 pacientes con KaryoNIM® Autismo 180K.

De los 16 pacientes con resultado negativo en el *array*-CGH en los que se encontró CNV de significado incierto, en 8 estas fueron consideradas probables polimorfismos o CNV benignas presentes en progenitores asintomáticos (pacientes 7, 8, 15, 16, 18, 30, 37 y 40); en los 8 restantes, se consideran de benignidad o patogenicidad no comprobada, en 5 de ellos (pacientes 10, 15, 20, 36 y 49) por baja probabilidad de patogenicidad y en 3 (pacientes 11, 22 y 23) por falta de consentimiento familiar.

VII.3. Relación entre obtener un resultado positivo en la técnica de *array*-CGH y la presencia de datos clínicos

Como objetivo secundario el presente trabajo analiza la posible asociación entre obtener un resultado positivo en la técnica de *array*-CGH y la presencia de determinados datos clínicos, aceptando que con solo 9 pacientes con resultado positivo es difícil obtener resultados significativos.

Cuando se analiza la posible asociación entre obtener un resultado positivo en la técnica de *array*-CGH y la presencia de cada uno de los datos clínicos, se encuentra que es más frecuente obtener un resultado positivo en el *array*-CGH en pacientes de género masculino, cuando hay antecedentes familiares de discapacidad intelectual, cuando ha habido retraso del crecimiento intrauterino, o cuando hay trastorno de conducta, macrocefalia o rasgos dismórficos asociados, si bien esta dependencia no es significativa. Entre estos, el antecedente de retraso intrauterino y la presencia de rasgos dismórficos son los que con mayor frecuencia se asocian a un resultado positivo en el *array*-CGH. Una regresión logística múltiple, realizada para ver si una combinación de estos signos podría ser un buen predictor de un resultado positivo en el *array*-CGH tampoco muestra resultados significativos. Para otros factores, como la edad del paciente, el antecedente de prematuridad, la presencia de malformaciones congénitas en otros sistemas o el número de signos clínicos asociados no se observa ninguna dependencia. Y para otros paradójicamente se observa una dependencia negativa, si bien tampoco significativa: es

más frecuente obtener un resultado positivo en el *array*-CGH cuando no hay historia de abortos espontáneos previos en los progenitores y cuando no hay rasgos autistas, epilepsia, retraso del crecimiento postnatal ni microcefalia asociados. También paradójicamente, es más frecuente obtener un resultado positivo en el *array*-CGH cuando la discapacidad es marcada o extensa que cuando es generalizada, aunque tampoco en este caso la diferencia es significativa.

Marano *et al.* (2013) revisan retrospectivamente datos de 200 niños con discapacidad intelectual o del desarrollo en los que por *array*-CGH se detectan CNV patogénicas en 34 (17%), y encuentran que este rendimiento es mayor (25%) en los pacientes con discapacidad intelectual o discapacidad del desarrollo que asocian 2 ó más de los siguientes hallazgos clínicos: historia de crisis epilépticas, rasgos autistas, rasgos dismórficos, hipotonía y retraso de crecimiento, si bien este resultado no es estadísticamente significativo.

Lee *et al.* 2013 encuentran en su cohorte de 190 pacientes que las anomalías faciales y el retraso de crecimiento intrauterino son significativamente más frecuentes en el grupo con resultado positivo en el *array*-CGH. Los autores concluyen que en estos pacientes el resultado del *array*-CGH tiene más probabilidades de ser positivo. Sin embargo hay que decir que este trabajo puede no ser comparable al nuestro por tener criterios de selección de pacientes diferentes, ya que no se excluye pacientes con síndromes genéticos bien definidos, lo que puede influir en el resultado.

Caramaschi *et al.* (2014) revisan datos de 116 niños con discapacidad intelectual o del desarrollo, y encuentran una asociación estadísticamente significativa entre un resultado positivo en el *array*-CGH y la presencia de malformaciones congénitas y/o rasgos dismórficos asociados. Los criterios de inclusión en este trabajo difieren también de los nuestros, al no permitir la inclusión de pacientes con discapacidad intelectual sin otros signos asociados.

Cuando comparamos con estudios con criterios de selección de pacientes similares a los nuestros, solo el trabajo de Shoukier *et al.* (2013) encuentra resultados estadísticamente significativos: revisan retrospectivamente datos de 342 niños con discapacidad intelectual o discapacidad del desarrollo no explicadas, y encuentran que las malformaciones congénitas, especialmente cardíacas, son significativamente más frecuentes en el grupo con resultado positivo en el *array*-CGH que en el grupo con resultado negativo; la presencia de microcefalia primaria y retraso del crecimiento son también más frecuentes en el grupo con resultado positivo, aunque esta diferencia no es estadísticamente significativa.

Un hallazgo destacable de nuestro trabajo es que los resultados positivos en el *array*-CGH no se encuentran más frecuentemente en los pacientes con grado más severo de discapacidad intelectual. Resultados similares encuentran Wincent *et al.* 2011 en su cohorte que incluye 133 pacientes con discapacidad intelectual o del desarrollo bien catalogada (58% leve, 22,6% moderada y 33,8% severa), con tasas de rendimiento del *array*-CGH similares en los pacientes de los 3 grupos (13,8%, 13,3% y 13,6% respectivamente). Y hallazgo que por otro lado apoyan los resultados del trabajo de Coutton *et al.* 2015, que encuentra en pacientes con discapacidad de grado leve tasas de rendimiento del *array*-CGH del 12%, cercanas a las de otros trabajos que incluyen pacientes con cualquier grado de discapacidad.

VII.4. Utilidad de la técnica de *array*-CGH en el estudio de los pacientes con discapacidad intelectual o discapacidad del desarrollo

Nuestro trabajo confirma la utilidad de la técnica de *array*-CGH en el estudio de los pacientes con discapacidad intelectual o discapacidad del desarrollo de causa no explicada. La presencia de ciertas características clínicas asociadas, especialmente el antecedente de retraso del crecimiento intrauterino y la presencia de rasgos dismórficos, se asocia con mayor frecuencia a un resultado positivo en el *array*-CGH, así como la

presencia de malformaciones congénitas, sobre todo cardíacas, en otros trabajos. Aunque el pequeño número de pacientes con resultado positivo en nuestro trabajo no permite obtener resultados estadísticamente significativos, estos hallazgos tienen relevancia clínica ya que abren el debate acerca de en qué pacientes debe indicarse la realización de esta prueba, como también lo hace el hecho de que se encuentre resultados positivos en el *array*-CGH en pacientes con discapacidad intelectual con independencia del número de signos asociados y con independencia del grado de discapacidad. Si se establece un mínimo grado de discapacidad intelectual o del desarrollo y/o un mínimo número de signos clínicos asociados para indicar la realización del *array*-CGH en un paciente, se corre el riesgo de dejar sin diagnóstico etiológico y sin consejo genético a pacientes como la paciente 35 de nuestra muestra, afecta de una alteración cromosómica submicroscópica similar a la de la paciente 8 pero con una expresión fenotípica mucho más leve y, a pesar de ello, con idéntica probabilidad de transmitirla a sus descendientes y de originar en varones un cuadro de altísima gravedad. Llegar a un diagnóstico etiológico en estos casos no permite, hoy por hoy, un tratamiento específico capaz de modificar la evolución, pero sí contribuye a un mayor conocimiento y delimitación fenotípica de los diferentes cuadros clínicos causados por CNV gracias al intercambio de información en bases de datos a nivel internacional, posibilitando cada vez en más casos el diagnóstico y el manejo precoz de posibles complicaciones asociadas. Y, muy importante, llegar a un diagnóstico etiológico en estos casos permite prescindir de la realización de otros exámenes que se sabe no aportarán nuevos datos ni beneficio alguno al paciente, permitiendo a este ahorrarse técnicas molestas o dolorosas, en ocasiones no exentas de riesgo, a la familia la angustia y las expectativas que a menudo generan la realización de nuevos exámenes, y al sistema un gasto innecesario. Exámenes cuya indicación no se cuestiona, a pesar de su coste, comparable en ocasiones al del *array*-CGH, y a pesar de haber mostrado en ocasiones un rendimiento menor al del *array*-CGH en el estudio etiológico de los pacientes con discapacidad intelectual. Así, con un precio medio de 600 euros por paciente para una resolución más que aceptable, el *array*-CGH ha demostrado un rendimiento diagnóstico superior al de otros exámenes realizados de rutina en el

diagnóstico etiológico de las discapacidades intelectuales y las discapacidades del desarrollo como las técnicas de neuroimagen (que conllevan el hallazgo de anomalías hasta en el 30% de casos, pero conducen a un diagnóstico etiológico en menos del 4%) y los *screening* metabólicos (que tienen una rentabilidad de alrededor de 1%) [van Karnebeek *et al.* 2005], y su aplicación a la práctica clínica prácticamente ha duplicado el número de diagnósticos de CNV como causa de discapacidad intelectual. Por estos motivos, la incorporación del *array*-CGH a la práctica clínica ha supuesto una revolución técnica comparable a la incorporación de la espectrometría de masas en tándem al cribado de los errores congénitos del metabolismo en época neonatal y hoy día prácticamente nadie cuestiona que el *array*-CGH es una prueba diagnóstica de primer nivel en el estudio etiológico de los niños y adolescentes con discapacidad intelectual o discapacidad del desarrollo sin causa explicada. En otros países de ingresos altos la cuestión que se plantea es si el *array*-CGH en estos casos debe realizarse en primera línea, en lugar de otras técnicas como cariotipo, FISH o MLPA, puesto que muchas de las alteraciones detectadas por estas técnicas se detectan también por *array*-CGH y, en cuanto a tiempo y dinero, no es más costoso realizar un *array*-CGH que realizar un cariotipo de alta resolución (con un precio medio de 150 euros) sumado a dos o tres diagnósticos complementarios específicos de *locus* (como MLPA o FISH, con un precio medio de 250-300 euros) [Miller *et al.* 2012]. En nuestro país, en el Consenso para la Implementación de los *Arrays* [CGH y SNP-*arrays*] en la Genética Clínica [Cigudosa *et al.* 2012] se acepta también que se debe realizar un *array*-CGH en todo paciente con discapacidad intelectual o del desarrollo de causa no aclarada tras un proceso diagnóstico guiado por un especialista en neurología pediátrica o psiquiatría infantil que incluya todas aquellas pruebas necesarias para excluir causas no genéticas y síndromes genéticos bien definidos, y tras evaluación por un genetista clínico. Si a algunos de estos pacientes se les debería realizar en primer lugar un *array*-CGH en vez de un cariotipo queda a juicio del genetista, que valorará la indicación caso a caso. No hay que olvidar que el *array*-CGH solo detecta cambios de dosis génica, y no detecta traslocaciones cromosómicas u otros reordenamientos equilibrados como inversiones. Además no detecta poliploidías, y puede

no detectar mosaicismos cuando la población clonal no supone más del 20-30% de la población celular total. En todos esos casos el resultado del *array*-CGH podría ser negativo, y por eso la realización del *array*-CGH no puede sustituir al cariotipo convencional en el estudio del paciente con discapacidad intelectual. Además, ante un resultado positivo en el *array*-CGH, hay que comprobar la localización real de la deleción/duplicación y descartar que un progenitor sea portador de una traslocación equilibrada - lo que podría ser causa de recurrencias-, bien mediante un cariotipo, si la deleción/duplicación es de tamaño mayor a 3-5 Mb, bien mediante una FISH. De la misma manera, ante un resultado positivo en un cariotipo convencional y/o en una MLPA, está indicado realizar un *array*-CGH para definir el tamaño y los genes contenidos en la deleción/duplicación así como los puntos de rotura, información necesaria para comprensión del cuadro y de las relaciones genotipo-fenotipo. Además, el *array*-CGH puede poner de manifiesto, además de las detectadas por cariotipo y/o MLPA, otras CNV cuyo papel en el cuadro puede ser relevante, tanto más cuando recientes estudios muestran que la expresión fenotípica podría depender de la alteración concomitante de diferentes genes, lo que contribuiría a explicar la variabilidad fenotípica observada en algunas CNV de tamaño, contenido en genes y puntos de rotura similares [Carvalho *et al.* 2014, Iyer and Girirajan 2015]. Por todos estos motivos, parece razonable que el estudio del paciente con discapacidad intelectual o del desarrollo de causa no explicada tras valoración conjunta de neurólogo infantil y genetista clínico incluya como estudios de primer nivel en todos los casos un cariotipo de alta resolución (nivel de bandas G de mínimo 550) y un *array*-CGH de una resolución mínima de 20-50 Kb en las regiones críticas y de 400 Kb en el resto del genoma [Cigudosa *et al.* 2012], en lugar de la práctica actual más frecuente de un cariotipo de alta resolución y 2 ó 3 MLPA.

A la resolución habitualmente utilizada en clínica, el *array*-CGH no es capaz de detectar mutaciones puntuales, producidas por cambios en un solo o un número reducido de nucleótidos, para lo que es necesario utilizar técnicas de secuenciación. Una revolución comparable a la de la introducción del *array*-CGH en la práctica clínica está suponiendo

la introducción de las nuevas técnicas de secuenciación masiva que permiten secuenciar masivamente un gran número de genes, incluso todo el exoma o todo el genoma, por un coste equivalente a lo que costaría secuenciar varios genes por métodos convencionales. La inmensa cantidad de información generada origina, como ya ocurrió con la implantación del *array*-CGH, problemas de interpretación. Esto, junto con los problemas éticos derivados del hallazgo de alteraciones genéticas no relacionadas con el cuadro clínico por el que se indicó el estudio, ha hecho que en práctica clínica se utilicen paneles en los que se secuencian únicamente los genes relacionados con el cuadro clínico, a un precio que se ha ido abaratando y que en la actualidad oscila entre los 1.000 y los 3.000 euros, dependiendo de la cantidad y el tamaño de los genes. Los rápidos avances tecnológicos han permitido el desarrollo de los secuenciadores de nueva generación (NGS de *Next Generation Sequencing*) capaces de detectar todos los tipos de variación genómica en un único experimento, incluyendo variantes de nucleótido único o mutaciones puntuales, pequeñas inserciones y deleciones, y también variantes estructurales tanto equilibradas (inversiones y traslocaciones) como desequilibradas (deleciones o duplicaciones) [Sun *et al.* 2015]. El abaratamiento de los costes, la resolución de los problemas de interpretación de la información obtenida y la aplicación a la práctica clínica de esta tecnología sin duda modificarán los protocolos de estudio etiológico del paciente con discapacidad intelectual o del desarrollo en los próximos años.

En conclusión, nuestro trabajo, al igual que otros trabajos publicados, confirma la utilidad de la técnica de *array*-CGH en el estudio etiológico de los pacientes con discapacidad intelectual o discapacidad del desarrollo de causa no explicada. Su incorporación a la práctica clínica ha duplicado el diagnóstico de CNV como causa de discapacidad intelectual y el coste de su realización no supera el del cariotipo más las 2 ó 3 MLPA que se realizan frecuentemente. Además, contribuye a entender los mecanismos genéticos responsables de la discapacidad intelectual. Por todo ello parece razonable indicar la realización de un *array*-CGH, junto a un cariotipo de alta resolución, en todo niño o adolescente con discapacidad intelectual o discapacidad del desarrollo de causa no

explicada tras valoración por neurólogo o psiquiatra infantil y genetista clínico, independientemente del grado de la discapacidad y de la presencia o ausencia de antecedentes o de otros signos clínicos asociados.

VIII. CONCLUSIONES

1. El rendimiento de la técnica de *array*-CGH aplicada al estudio de las discapacidades intelectuales y del desarrollo de causa no explicada en nuestra población pediátrica es de 17,3%, esto es, mayor que la media del encontrado en otras poblaciones (15%).
2. En nuestra población es más frecuente obtener un resultado positivo en el *array*-CGH en pacientes de género masculino, con antecedentes familiares de discapacidad intelectual, con retraso del crecimiento intrauterino, o con trastorno de conducta, macrocefalia o rasgos dismórficos asociados.
3. En nuestra población se encuentra resultados positivos en el *array*-CGH en pacientes con discapacidad intelectual con independencia del número de signos asociados y del grado de discapacidad.
4. Estos hallazgos tienen relevancia clínica, a pesar de que el número de pacientes con resultado positivo de nuestro trabajo no permite obtener resultados estadísticamente significativos.
5. Por todo ello parece indicado realizar un estudio de *array*-CGH, junto a un cariotipo de alta resolución, en todo niño o adolescente con discapacidad intelectual o discapacidad del desarrollo de causa no explicada tras valoración por neurólogo o psiquiatra infantil y genetista clínico, independientemente del grado de la discapacidad y de la presencia o ausencia de antecedentes o de otros signos clínicos asociados.

IX. BIBLIOGRAFÍA

- Barrett MT, Scheffer A, Ben-Dor A, Sampas N, Lipson D, Kincaid R, *et al.* (2004). Comparative genomic hybridization using oligonucleotide microarrays and total genomic DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 101(51): 17765-70.
- Bartnik M, Nowakowska B, Derwińska K, Wiśniowiecka-Kowalnik B, Kędzior M, Bernaciak J, *et al.* (2014a). Application of array comparative genomic hybridization in 256 patients with developmental delay or intellectual disability. *J Appl Genet* 55(1): 125-44.
- Bartnik M, Wiśniowiecka-Kowalnik B, Nowakowska B, Smyk M, Kędzior M, Sobecka K, *et al.* (2014b). The usefulness of array comparative genomic hybridization in clinical diagnostics of intellectual disability in children. *Dev Period Med* 18(3): 307-17.
- Battaglia A, Doccini V, Bernardini L, Novelli A, Loddo S, Capalbo A, *et al.* (2013). Confirmation of chromosomal microarray as a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental delay, intellectual disability, autism spectrum disorders and dysmorphic features. *Eur J Paediatr Neurol* 17(6): 589-99.
- Behjati F, Firouzabadi SG, Kariminejad R, Vameghi R, Sajedi F, Shafaghati Y, *et al.* (2013). Genomic characterization of some Iranian children with idiopathic mental retardation using array comparative genomic hybridization. *Indian J Hum Genet* 19(4): 443-8.
- Ben-Shachar S, Ou Z, Shaw CA, Belmont JW, Patel MS, Hummel M, *et al.* (2008). 22q11.2 distal deletion: a recurrent genomic disorder distinct from DiGeorge syndrome and velocardiofacial syndrome. *Am J Hum Genet* 82: 214-21.

- Byeon JH, Shin E, Kim GH, Lee K, Hong YS, Lee JW, *et al.* (2014). Application of array-based comparative genomic hybridization to pediatric neurologic diseases. *Yonsei Med J* 55(1): 30-6.
- Caramaschi E, Stanghellini I, Magini P, Giuffrida MG, Scullin S, Giuva T, *et al.* (2014). Predictive diagnostic value for the clinical features accompanying intellectual disability in children with pathogenic copy number variations: a multivariate analysis. *Ital J Pediatr* 40:39.
- Carvalho CM, Vasanth S, Shinawi M, Russell C, Ramocki MB, Brown CW, *et al.* (2014). Dosage changes of a segment at 17p13.1 lead to intellectual disability and microcephaly as a result of complex genetic interaction of multiple genes. *Am J Hum Genet* 95(5): 565-78.
- Chong WW, Lo IF, Lam ST, Wang CC, Luk HM, Leung TY, *et al.* (2014). Performance of chromosomal microarray for patients with intellectual disabilities/developmental delay, autism, and multiple congenital anomalies in a Chinese cohort. *Mol Cytogenet* 7: 34.
- Choucair N, Ghoch JA, Corbani S, Cacciagli P, Mignon-Ravix C, Salem N, *et al.* (2015). Contribution of copy number variants (CNVs) to congenital, unexplained intellectual and developmental disabilities in Lebanese patients. *Mol Cytogenet* 8: 26.
- Cigudosa JC, Lapunzina P, Coords., Consenso para la Implementación de los Arrays [CGH y SNP-arrays] en la Genética Clínica [Internet]. Madrid: Instituto Roche [updated 2012 April 13]. Available from: <http://www.institutoroche.es/publicaciones/158/>

Confederación Española de Organizaciones en favor de las Personas con Discapacidad Intelectual. Estudio del sobreesfuerzo económico que la discapacidad intelectual ocasiona en la familia en España-2008 [Internet]. Madrid: Confederación Española de Organizaciones en favor de las Personas con Discapacidad Intelectual [updated 2009 April 15]. Available from: <http://www.feaps.org/>

Cooper SA, Smiley E, Morrison J *et al.* (2007) Mental ill-health in adults with intellectual disabilities: prevalence and associated factors. *Br J Psychiatry* 190: 27-35.

Coutton C, Dieterich K, Satre V, Vieville G, Amblard F, David M, *et al.* (2015). Array-CGH in children with mild intellectual disability: a population-based study. *Eur J Pediatr* 174(1): 75-83.

De Ligt J, Willemsen MH, van Bon BW, Kleefstra T, Yntema HG, Kroes T, *et al.* (2012). Diagnostic exome sequencing in persons with severe intellectual disability. *N Engl J Med* 367(20): 1921-9.

De Vries BB, Winter R, Schinzel A, Van Ravenswaaij-Arts C. (2003). Telomeres: a diagnosis at the end of the chromosomes. *J Med Genet* 40: 385-98.

Doran CM, Einfeld SL, Madden RH, Otim M, Horstead SK, Ellis LA, *et al.* (2012). How much does intellectual disability really cost? First estimates for Australia. *J Intellect Dev Disabil* 37(1): 42-9.

Firth HV, Richards SM, Bevan AP, Clayton S, Corpas M, Rajan D, *et al.* (2009). DECIPHER: Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans Using Ensembl Resources. *Am J Hum Genet* 84(4): 524-33.

Hayashi S, Imoto I, Aizu Y, Okamoto N, Mizuno S, Kurosawa K, *et al.* (2011). Clinical application of array-based comparative genomic hybridization by two-stage screening for 536 patients with mental retardation and multiple congenital anomalies. *J Hum Genet* 56(2): 110-24.

- Hochstenbach R, Buizer-Voskamp JE, Vorstman JA, Ophoff RA. (2011). Genome arrays for the detection of copy number variations in idiopathic mental retardation, idiopathic generalized epilepsy and neuropsychiatric disorders: lessons for diagnostic workflow and research. *Cytogenet Genome Res* 135(3-4): 174-202.
- Iourov IY, Vorsanova SG, Kurinnaia OS, Zelenova MA, Silvanovich AP, Yurov YB. (2012). Molecular karyotyping by array CGH in a Russian cohort of children with intellectual disability, autism, epilepsy and congenital anomalies. *Mol Cytogenet* 5(1): 46.
- Iyer J, Girirajan S. (2015). Gene discovery and functional assessment of rare copy-number variants in neurodevelopmental disorders. *Brief Funct Genomics* 14(5): 315-28.
- Kashevarova AA, Nazarenko LP, Skryabin NA, Salyukova OA, Chechetkina NN, Tolmacheva EN, *et al.* (2014). Array CGH analysis of a cohort of Russian patients with intellectual disability. *Gene* 536(1): 145-50.
- Lee CG, Park SJ, Yun JN, Ko JM, Kim HJ, Yim SY, *et al.* (2013). Array-based comparative genomic hybridization in 190 Korean patients with developmental delay and/or intellectual disability: a single tertiary care university center study. *Yonsei Med J* 54(6): 1463-70.
- MacDonald JR, Ziman R, Yuen RK, Feuk L, Scherer SW. (2014). The Database of Genomic Variants: a curated collection of structural variation in the human genome. *Nucleic Acids Res* 42(Database issue): D986-92.
- Marano RM, Mercurio L, Kanter R, Doyle R, Abuelo D, Morrow EM, *et al.* (2013). Risk assessment models in genetics clinic for array comparative genomic hybridization: clinical information can be used to predict the likelihood of an abnormal result in patients. *J Pediatr Genet* 2(1): 25-32.

- Maulik PK, Mascarenhas MN, Mathers CD, Dua T, Saxena S. (2011). Prevalence of intellectual disability: a meta-analysis of population-based studies. *Res Dev Disabil* 32(2): 419-36.
- Michelson DJ, Shevell MI, Sherr EH, Moeschler JB, Gropman AL, Ashwal S. (2011). Evidence report: Genetic and metabolic testing on children with global developmental delay: report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and the Practice Committee of the Child Neurology Society. *Neurology* 77(17): 1629-35.
- Miller DT, Adam MP, Aradhya S, Biesecker LG, Brothman AR, Carter NP, *et al.* (2010). Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet* 86(5):749-64.
- Moeschler JB. (2008). Medical genetics diagnostic evaluation of the child with global developmental delay or intellectual disability. *Curr Opin Neurol* 21(2): 117-22.
- Pereira RR, Pinto IP, Minasi LB, de Melo AV, da Cruz e Cunha DM, Cruz AS, *et al.* (2014). Screening for intellectual disability using high-resolution CMA technology in a retrospective cohort from Central Brazil. *PLoS One* 9(7): e103117.
- Pinkel D, Se Graves R, Sudar D, Clark S, Poole I, Kowbel D, *et al.* (1998). High resolution analysis of DNA copy number variation using comparative genomic hybridization to microarrays. *Nat Genet* 20(2): 207-11.
- Ramocki MB, Tavyev YJ, Peters SU. (2010). The *MECP2* Duplication Syndrome. *Am J Med Genet A*; 152A(5): 1079-1088.
- Rauch A, Wieczorek D, Graf E, Wieland T, Ende S, Schwarzmayr T, *et al.* (2012). Range of genetic mutations associated with severe non-syndromic sporadic intellectual disability: an exome sequencing study. *Lancet* 380(9854): 1674-82.

- Rehm HL, Berg JS, Brooks LD, Bustamante CD, Evans JP, Landrum MJ, *et al.* (2015). ClinGen--the Clinical Genome Resource. *N Engl J Med* 372(23): 2235-42.
- Safran M, Dalah I, Alexander J, Rosen N, Iny Stein T, Shmoish M, *et al.* (2010). GeneCards Version 3: the human gene integrator. *Database (Oxford)* 2010: baq020.
- Sagoo GS, Butterworth AS, Sanderson S, Shaw-Smith C, Higgins JP, Burton H. (2009). Array CGH in patients with learning disability (mental retardation) and congenital anomalies: updated systematic review and meta-analysis of 19 studies and 13,926 subjects. *Genet Med* 11(3): 139-46.
- San Antonio-Arce V, Fenollar Cortés M, Cotarelo Pérez MC, Oancea Ionescu R, DeSantos-Moreno T, Gallego-Merlo J, *et al.* (in press). *MECP2* duplications in symptomatic females: report on 3 patients showing the broad phenotypic spectrum. *Child Neurology Open*.
- Schalock RL, Borthwick-Duffy SA, Bradley VJ, Buntinx WHE, Coulter DL, Craig EM, *et al.* (2010). Intellectual disability: Definition, classification, and system of supports (11th Edition). Washington, DC: American Association on Intellectual and Developmental Disabilities.
- Schoumans J, Anderlid BM, Blennow E, Teh BT, Nordenskjöld M. (2004). The performance of CGH array for the detection of cryptic constitutional chromosome imbalances. *J Med Genet* 41(3): 198-202.
- Shaw-Smith C, Redon R, Rickman L, Rio M, Willatt L, Fiegler H, *et al.* (2004). Microarray based comparative genomic hybridisation (array-CGH) detects submicroscopic chromosomal deletions and duplications in patients with learning disability/mental retardation and dysmorphic features. *J Med Genet* 41: 241-8.

- Shevell M, Ashwal S, Donley D, Flint J, Gingold M, Hirtz D, *et al.* (2003). Practice parameter: evaluation of the child with global developmental delay: report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and The Practice Committee of the Child Neurology Society. *Neurology* 60(3): 367-80.
- Solinas-Toldo S, Lampel S, Stilgenbauer S, Nickolenko J, Benner A, Döhner H, *et al.* (1997). Matrix-based comparative genomic hybridization: biochips to screen for genomic imbalances. *Genes Chromosomes Cancer* 20(4): 399-407.
- Sun Y, Ruivenkamp CA, Hoffer MJ, Vrijenhoek T, Kriek M, van Asperen CJ, *et al.* (2015). Next-generation diagnostics: gene panel, exome, or whole genome? *Hum Mutat* 36(6): 648-55.
- Tao VQ, Chan KY, Chu YW, Mok GT, Tan TY, Yang W, *et al.* (2014). The clinical impact of chromosomal microarray on paediatric care in Hong Kong. *PLoS One* 9(10): e109629.
- Tzetis M, Kitsiou-Tzeli S, Frysira H, Xaidara A, Kanavakis E. (2012). The clinical utility of molecular karyotyping using high-resolution array-comparative genomic hybridization. *Expert Rev Mol Diagn* 12(5): 449-57.
- United Nations Children's Fund. The state of the world's children 2013 [Internet]. New York: United Nations Children's Fund [updated 2013 May]. Available from: <http://www.unicef.org/sowc2013/report.html>
- Uwineza A, Caberg JH, Hitayezu J, Hellin AC, Jamar M, Dideberg V, *et al.* (2014). Array-CGH analysis in Rwandan patients presenting development delay/intellectual disability with multiple congenital anomalies. *BMC Med Genet* 15: 79.
- van Karnebeek CD, Jansweijer MC, Leenders AG, Offringa M, Hennekam RC. (2005). Diagnostic investigations in individuals with mental retardation: a systematic literature review of their usefulness. *Eur J Hum Genet* 13(1): 6-25.

Vermeesch JR, Brady PD, Sanlaville D, Kok K, Hastings RJ. (2012). Genome-wide arrays: quality criteria and platforms to be used in routine diagnostics. *Hum Mutat* 33(6): 906-15.

Wincent J, Anderlid BM, Lagerberg M, Nordenskjöld M, Schoumans J. (2011). High-resolution molecular karyotyping in patients with developmental delay and/or multiple congenital anomalies in a clinical setting. *Clin Genet* 79(2): 147-57.

Yeargin-Allsopp M, Murphy CC, Cordero J, Decoufle P, Hollowell JG. (1997) Reported biomedical causes and associated medical conditions for mental retardation among 10 years old children, metropolitan Atlanta, 1985 to 1987. *Dev Med Child Neurol* 39: 142-9.

X. ANEXOS

Anexo A. Consentimientos informados

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo, _____, con
DNI/NIF _____ en mi propio nombre o como responsable de
_____ declaro que he sido informado y han sido
contestadas mis preguntas por la Dra _____ sobre la patología
_____. Entiendo que pueda ser portador o afecto de este
trastorno genético, por lo que

SÍ /NO doy mi conformidad para que se realice el estudio necesario para su diagnóstico a partir de una muestra de _____.

SÍ /NO me ha sido explicado y entiendo que de estos estudios que se van a realizar pueden obtenerse resultados no deseados, fundamentalmente falsas paternidades, que aún no teniendo efecto legal, pueden explicar los resultados hallados.

Además:

SÍ /NO doy mi consentimiento para utilizar estas muestras en estudios posteriores para esta enfermedad.

SÍ /NO deseo conocer el resultado de estos estudios.

SÍ /NO doy mi consentimiento voluntario para que en mi muestra de ADN se puedan realizar futuros estudios en otras enfermedades, sin desvelar mi identidad (anonimato).

Observaciones paciente: _____

Observaciones facultativo: _____

Entiendo que este consentimiento es totalmente voluntario y de que puedo revocarlo en cualquier momento.

Para que así conste firmo la presente en _____, a _____ de _____ de 20__

Firma del paciente
DNI/NIF:

Firma del facultativo responsable
Nº empleado:

SECCIÓN DE GENÉTICA CLÍNICA
CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA ESTUDIO MOLECULAR

El paciente D./Dña _____
En mi propio nombre o como representante de D./Dña _____
_____ **manifiesto** que he sido informado/a por el Dr/a _____
de los siguientes aspectos:

*** Procedimiento:**

La prueba consiste en la obtención de ADN a partir de una muestra de

- Sangre periférica extraída por punción venosa.
- Células bucales extraídas mediante fricción de mucosa bucal
- Vellosidad Corial directo o de cultivo, extraída por biopsia corial (firmar CI prenatal)
- Amniocitos directo o de cultivo, extraída por amniocentesis (firmar CI prenatal)
- Otros: _____

Para el estudio en relación a la enfermedad/síndrome/patología:

_____ y así conocer si soy portador/a o/y afecto/a de este trastorno genético.

*** Alternativas:**

No existen pruebas alternativas que proporcionen una información similar.

*** Riesgos:**

Los riesgos y complicaciones más relevantes que pueden presentarse son:

Los riesgos generales de la obtención de la muestra para la extracción de ADN. En el caso de las muestras prenatales (vellosidad corial y amniocentesis) he sido informado y he firmado un consentimiento aparte.

El conocimiento de este estudio puede tener implicaciones graves en mi vida y en los de mis familiares directos, a los cuales he sido aconsejado en informar, si estos son relevantes para su salud.

He sido informado/a de que en el estudio pueden obtenerse resultados no deseados, fundamentalmente las falsas paternidades, que no tienen efecto legal aunque pueden explicar los resultados hallados.

Estudios posteriores:

Una vez finalizado el estudio, quedará muestra de mi ADN. Dado el desarrollo de la tecnología y del conocimiento que de esta enfermedad puede haber, permito que se pueda utilizar esta muestra en estudios posteriores para esta enfermedad, y conocer estos resultados

Si **NO** desea que las muestras se utilicen con esos fines, marque este recuadro

Si **NO** desea conocer los resultados derivados de estos estudios, marque este recuadro

Estudios de Investigación:

Además, una vez realizados todos los estudios diagnósticos, la muestra extraída puede ser utilizada en **estudios de investigación relacionados con esta enfermedad o como control sano para otras enfermedades**, tratándose los resultados de forma confidencial como marca la legislación vigente.

Si **NO** desea que las muestras se utilicen con esos fines, marque este recuadro

Obtención de Imágenes y Publicaciones:

Con el fin de tener recogido el caso clínico completo y poder valorar los resultados obtenidos, se me ha solicitado la realización de fotografías. Además, y en algunos casos, debido al interés científico que puede tener cierta patología, suelen publicarse en determinados medios imágenes o datos de algunos pacientes, guardando siempre el adecuado anonimato (empleo de iniciales, difuminación de los ojos en las imágenes faciales u otros procedimientos que impidan la identificación). Estas publicaciones siempre tendrán un objetivo exclusivamente científico y destinado a círculos profesionales sanitarios.

Si **NO** desea que se utilicen sus datos o imágenes con esos fines, marque este recuadro

Antes de firmar este consentimiento, si desea que le facilitemos más información o tiene alguna duda, no tenga reparos en preguntarnos. Le atenderemos con mucho gusto.

DECLARO haber recibido información verbal clara y sencilla sobre el procedimiento que se me va a realizar y además he leído este escrito. Asimismo, todas mis dudas y preguntas han sido convenientemente aclaradas y he comprendido toda la información que se me ha proporcionado sobre el, para qué sirve, cómo se hace, los riesgos que tiene y las posibles alternativas. Por ello, libremente, doy mi **CONSENTIMIENTO** a los profesionales adecuados que se precisen, para que se me realice este estudio.

PUEDO RETIRAR ESTE CONSENTIMIENTO CUANDO LO DESEE.

Se me proporcionará una COPIA de este documento si lo solicito.

Observaciones del paciente: _____

Observaciones del facultativo: _____

Firma del paciente:
(familiar o representante,
en caso de incapacidad)

Firma del médico:

Fdo: _____
Fecha: _____

Fdo: _____
Fecha: _____

DENEGACIÓN DEL CONSENTIMIENTO

D./Dña _____, de forma libre y consciente y después de haber recibido toda la información necesaria, expreso mi **NEGATIVA** a que se me realice este estudios, conociendo las consecuencias que pueden derivarse de esta decisión.

Firma del paciente:
(familiar o representante,
en caso de incapacidad)

Fdo: _____
Fecha: _____

ESTUDIO DE GENÉTICA MOLECULAR

INFORMACIÓN

¿QUÉ ES Y CÓMO SE REALIZA?

La prueba consiste en la obtención de ADN a partir de una muestra de:

- Sangre periférica extraída por punción venosa.
- Células bucales extraídas mediante fricción de mucosa bucal.
- Vellosidad corial directo o de cultivo, extraída por biopsia corial (firmar CI prenatal).
- Amniocitos directo o de cultivo, extraídos por amniocentesis (firmar CI prenatal).
- Otros:

¿PARA QUÉ SIRVE?

Con esta muestra de ADN se pretende estudiar mi información genética en relación a la enfermedad/síndrome/patología:

.....

Y así conocer si soy portadora o/y afecto/a de este trastorno genético.

¿QUÉ RIESGOS PUEDE HABER?

- Los riesgos generales de la obtención de la muestra para la extracción de ADN. En el caso de las muestras prenatales (vellosidad y amniocentesis) he recibido información y he firmado un consentimiento aparte.
- El conocimiento de esta información genética puede tener implicaciones graves en mi vida y en la de mis familiares directos, a los cuales se me aconseja informar, si estos datos son relevantes para su salud.
- He sido informado/a de que a lo largo del estudio se pueden obtener resultados no buscados, fundamentalmente las falsas paternidades, que no tienen efecto legal aunque pueden explicar los resultados hallados. Según la ley 14/2007 los profesionales no están obligados a informar de estos resultados.
- Según la técnica genética utilizada puede haber resultados de significado incierto. Pueden existir falsos negativos.

- **Riesgos específicamente relacionados con el paciente:**
-
-

¿HAY OTRAS ALTERNATIVAS AL PROCEDIMIENTO?

No existen pruebas alternativas que proporcionen una información similar.

¿QUÉ CONSECUENCIAS SON PREVISIBLES DE LA NO REALIZACIÓN?

Si no se realiza este estudio no es posible confirmar/descartar el diagnóstico clínico del paciente ni la realización de un adecuado consejo genético tanto familiar como reproductivo.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

DECLARACIONES Y FIRMAS

PACIENTE

D. /D^a con DNI..... declaro que el/la médico, Dr./Dra., me ha explicado de forma satisfactoria qué es, cómo se realiza y para qué sirve esta prueba genética. También me ha explicado los riesgos existentes, que éste es el procedimiento más adecuado en la actualidad para establecer el diagnóstico genético de mi interés y las consecuencias previsibles de su no realización. He comprendido perfectamente todo lo anterior, he podido aclarar las dudas planteadas, y **doy mi consentimiento** para que me realicen dicha prueba. Puedo solicitar copia del presente documento. Sé que puedo retirar este consentimiento cuando lo desee.

En..... a de..... de 20.....

Firmado, el/la paciente

REPRESENTANTE LEGAL

D. /D^a con DNI..... y domicilio en calle n^o..... declaro que el/la médico, Dr./Dra., me ha explicado de forma satisfactoria qué es, cómo se realiza y para qué sirve esta prueba diagnóstica. También me ha explicado los riesgos existentes, que éste es el procedimiento más adecuado en la actualidad para establecer el diagnóstico genético de mi interés y las consecuencias previsibles de su no realización. He comprendido perfectamente todo lo anterior, he podido aclarar las dudas planteadas, y **doy mi consentimiento** para que realicen al paciente D. /D^a con DNI....., dicha prueba. Puedo solicitar copia del presente documento.

En..... a de..... de 20.....

Firmado, el/la representante

MÉDICO

Dr. /Dra. He informado a este/a paciente, y/o a su representante legal, del propósito y naturaleza del procedimiento descrito, de sus riesgos y alternativas, y de las consecuencias previsibles de su no realización, dejando constancia en la historia clínica. Asimismo, la existencia de otras enfermedades o cualquier otra circunstancia patológica personal que pudiera condicionar la realización de la prueba. Se incorpora este documento a la historia clínica del paciente.

En..... a de..... de 20.....

Firma, nº de colegiado:

NEGATIVA DEL PACIENTE A LA REALIZACIÓN

Si usted no acepta la realización de la intervención haga constar el motivo:

Firmado el/la paciente

REVOCACIÓN DE LA DECISIÓN POR EL PACIENTE

En Madrid a de de 20.....

Firmas: Paciente

El/la médico Dr..... Colegiado

AUTORIZACIÓN PARA LA REALIZACIÓN DE LOS ESTUDIOS DE CARIOTIPO MOLECULAR CON ARRAY-CGH (KaryoNIM®)

D. / Dña _____ de _____ años de edad
con DNI _____ y domicilio en _____
Calle _____ Teléfono _____

Extracción realizada por

Dr _____ Centro _____

Solicita y autoriza al Dr. _____ la realización, por parte del laboratorio de análisis clínicos NIMgenetics, S.L. (Nº Registro Sanitario CS10673) del estudio genético con la tecnología Array-CGH KaryoNIM®.

El Array-CGH KaryoNIM® se realiza a partir de la extracción de ADN de muestra biológica (sangre, saliva, etc) y permite detectar todas las alteraciones cromosómicas desequilibradas visibles al microscopio óptico. La resolución media de detección de KaryoNIM® es de 200kb a lo largo de todo el genoma. A nivel específico, esta resolución puede oscilar ligeramente dependiendo de la naturaleza de la región genómica analizada.

KaryoNIM® no puede diagnosticar aquellas alteraciones que sean debidas a disomías uniparentales ó mutaciones de genes, reordenamientos cromosómicos equilibrados (por ejemplo translocaciones equilibradas), poliploidías completas, ni la presencia de mosaicismos por debajo de, aproximadamente, un 30% de la población celular.

Tras haber comprendido la información recibida y haber formulado las preguntas que he creído oportunas,

DOY MI CONSENTIMIENTO PARA LA REALIZACION de LOS ESTUDIOS de CARIOTIPO ARRAY-CGH KaryoNIM®

PACIENTE:

FACULTATIVO:

Firma: _____

Firma: _____

D / Dña.: _____

D / Dña.: _____

Fecha: _____

Fecha: _____

Anexo B. Regiones y genes analizados en KaryoNIM® Autismo 180K

**DIAGNÓSTICO DEL PACIENTE PARA LAS REGIONES CRÍTICAS
 ANALIZADAS EN KaryoNIM® Autismo 180k**

Crom.	Región Crítica Incluida en KaryoNIM® Autismo 180k	OMIM	Citobanda
1	Síndrome de microdelección 1q21.1	612474	1q21.1
1	Síndrome de duplicación 1q21.1	612475	1q21.1
1	Susceptibilidad a autismo 11	610836	1q41q42
2	Síndrome de microdelección 2p16.1-p15	612513	2p16.1p15
2	Retraso mental autosómico dominante 1	156200	2q23.1
2	Susceptibilidad a autismo 5	606053	2q24.1
2	Síndrome de retraso mental y braquidactilia	600430	2q37.2
3	Síndrome de microdelección 3pter-p25	613792	3pter-p25
3	R. mental con desórdenes del lenguaje y fenotipo autista	613670	3p13
3	Síndrome de microdelección 3q29	609425	3q29
4	Síndrome de triplicación 4q32.1-q32.2	613603	4q32.1-q32.2
7	Síndrome de Williams-Beuren	194050	7q11.23
7	Síndrome de duplicación de Williams-Beuren	609757	7q11.23
8	Síndrome CHARGE	214800	8q12.1q12.2
10	Síndrome Bannayan-Riley-Ruvalcaba	153480	10q23.31
11	Aniridia	106210	11p13
13	Susceptibilidad a autismo 3	608049	13q14
14	Síndrome de Rett, variante congénita	613454	14q12
15	Síndrome de duplicación 15q11-q13	608636	15q11q13
15	Susceptibilidad a esquizofrenia 13	613025	15q13
15	Síndrome de microdelección 15q13.3	612001	15q13.3
15	Síndrome de microdelección 15q25	614294	15q25
16	Síndrome de microdelección 16p13.3	610543	16p13.3
16	Síndrome de duplicación 16p13.3	613458	16p13.3
16	Síndrome de microdelección 16p12.2-p11.2	613604	16p12.2p11.2
16	Síndrome de microdelección 16p12.1	136570	16p12
16	Síndrome de microdelección 16p11.2 de 220kb	613444	16p11.2
16	Síndrome de microdelección 16p11.2 de 593kb	611913	16p11.2
17	Síndrome de duplicación 17p13.3	613215	17p13.3
17	Síndrome de Potocki-Lupski	610883	17p11.2
17	Síndrome de microdelección 17q12	614527	17q12
17	Síndrome de duplicación 17q21.31	613533	17q21.31
22	Síndrome velocardiofacial	192430	22q11.21
22	Síndrome de duplicación 22q11.2	608363	22q11.2
22	Síndrome de Waardenburg tipo 2E	611584	22q13.1
22	Síndrome de microdelección 22q13.3	606232	22q13.33
X	Modificador de defectos neurofuncionales ligado al X	309840	Xp22.31p22.31
X	Susceptibilidad a autismo ligada al X 3	300496	Xq28
X	Síndrome de Nance-Horan	302350	Xp22.13
X	Susceptibilidad a autismo ligada al X 1	300425	Xq13.1
X	Retraso mental ligado al X 21	300143	Xp21.3p21.2
X	Retraso mental ligado al X, tipo Siderius	300263	Xp11.22
X	Susceptibilidad a autismo ligada al X 2	300495	Xp22.32p22.31
X	Síndrome de retraso mental ligado al X de Lubbs	300260	Xq28
X	Síndrome de microdelección Xp22	300830	Xp22.2

NIMGenetics es un CENTRO DE DIAGNÓSTICO ANALÍTICO CON UNIDAD DE GENÉTICA, autorizado y habilitado para emitir diagnósticos clínicos por la Comunidad de Madrid (Laboratorio de Diagnóstico Clínico, Licencia de Actividad Sanitaria con nº de registro CS10673).

I

**LISTADO DE GENES DE INTERÉS ANALIZADOS EN KaryoNIM® Autismo
 180k**

Cromosoma	Gen	Nº OMIM	Citobanda
1	CAMTA1	611501	1p36.31p36.23
1	CA6	114780	1p36.23
1	RIMS3	NO OMIM	1p34.2
1	NFIA	600727	1p31.3
1	DPYD	612779	1p21.3
1	RFWD2	608067	1q25.1q25.2
1	DISC1	605210	1q42.2
2	NRXN1	600565	2p16.3
2	DPP10	608209	2q14.1
2	CNTNAP5	610519	2q14
2	MBD5	611472	2q23.1
2	GALNT13	608369	2q23.3q24.1
2	SLC4A10	605556	2q24.2
2	SCN2A	182390	2q24.3
2	STK39	607648	2q24.3
2	MAP2	157130	2q34
2	HDAC4	605314	2q37.3
3	CNTN4	607280	3p26.3p26.2
3	OXTR	167055	3p25.3
3	GPX1	138320	3p21.31
3	FHIT	601153	3p14.2
3	FOXP1	605515	3p13
3	FBXO40	609107	3q13.33
3	C3orf58	612200	3q24
3	NLGN1	600568	3q26.31
4	TNIP2	610669	4p16.3
4	GABRA4	137141	4p12
4	EIF4E	133440	4q23
4	PCDH10	608286	4q28.3
5	SEMA5A	609297	5p15.31
5	CDH10	604555	5p14.2p14.1
5	CDH9	609974	5p14.1
5	NIPBL	608667	5p13.2
5	MEF2C	600662	5q14.3
5	APC	611731	5q22.2
5	NSD1	606681	5q35.2q35.3
6	SYNGAP1	603384	6p21.32
6	KHDRBS2	610487	6q11.1
6	PLN	172405	6q22.31
6	PARK2	602544	6q26
7	ICA1	147625	7p21.3
7	NXPH1	604639	7p22
7	AGMO	613738	7p21.2

NIMGenetics es un CENTRO DE DIAGNÓSTICO ANALÍTICO CON UNIDAD DE GENÉTICA, autorizado y habilitado para emitir diagnósticos clínicos por la Comunidad de Madrid (Laboratorio de Diagnóstico Clínico, Licencia de Actividad Sanitaria con nº de registro CS10673).

Cromosoma	Gen	Nº OMIM	Citobanda
7	KIAA0442	607270	7q11.22
7	RELN	600514	7q22.1
7	IMMP2L	605977	7q31.1
7	FOXP2	605317	7q31.1
7	CADPS2	609978	7q31.32
7	GRM8	601116	7q31.33
7	CNTNAP2	604569	7q35q36
7	DPP6	126141	7q36.2
8	DLGAP2	605438	8p23.3
8	MCPH1	607117	8p23.1
8	RB1CC1	606837	8q11.23
8	CHD7	608892	8q12.1q12.2
9	SLC1A1	133550	9p24.2
9	PTPRD	601598	9p24p23
9	ASTN2	612856	9q33.1
10	CTNNA3	607667	10q21.3
10	KCNMA1	600150	10q22.3
10	PTEN	601728	10q23.31
10	FGFBP3	NO OMIM	10q23.32
10	BTAF1	605191	10q23.32
11	PAX6	607108	11p13
11	NRXN2	600566	11q13.1
11	SHANK2	603290	11q13.3q13.4
11	GRM5	604102	11q14.2q14.3
11	HTR3A	182139	11q23.2
12	GRIP1	604597	12q14.3
12	PTPN11	176876	12q24.13
12	CCDC64	NO OMIM	12q24.23
13	NBEA	604889	13q13.3
13	PCDH9	603581	13q21.32
14	FOXP1	164874	14q12
14	MDGA2	611128	14q21.3
14	NRXN3	600567	14q24.3q31.1
15	UBE3A	601623	15q11.2
15	ATP10A	605855	15q12
15	NDNL2	608243	15q13.1
15	CHRNA7	118511	15q13.3
15	CASC4	NO OMIM	15q15.3
15	UBL7	609748	15q24.1
16	TSC2	191092	16p13.3
16	CREBBP	600140	16p13.3
16	RBFOX1	605104	16p13.3
16	PRKCB1	176970	16p12.2p12.1
16	SEZ6L2	NO OMIM	16p11.2
16	CDH8	603008	16q21
16	ANKRD11	611192	16q24.3
17	RAI1	607642	17p11.2
17	HOXB1	142968	17q21.32

NIMGenetics es un CENTRO DE DIAGNÓSTICO ANALÍTICO CON UNIDAD DE GENÉTICA, autorizado y III
 habilitado para emitir diagnósticos clínicos por la Comunidad de Madrid (Laboratorio de Diagnóstico
 Clínico, Licencia de Actividad Sanitaria con nº de registro CS10673).

Cromosoma	Gen	Nº OMIM	Citobanda
17	BZRAP1	610764	17q22
17	BAIAP2	605475	17q25.3
19	MBD3	603573	19p13.3
22	TBX1	602054	22q11.21
22	GNB1L	610778	22q11.21
22	SHANK3	606230	22q13.33
X	ASMT	300015	Xp22.33
X	NLGN4	300427	Xp22.32p22.31
X	TBL1X	300196	Xp22.3p22.2
X	GLRA2	305990	Xp22.2
X	GRPR	305670	Xp22.2
X	CDKL5	300203	Xp22.13
X	PTCHD1	300828	Xp22.11
X	IL1RAPL1	300206	Xp21.3p21.2
X	DMD	300377	Xp21.2p21.1
X	SYN1	313440	Xp11.23
X	AR	313700	Xq12
X	OPHN1	300127	Xq12
X	NLGN3	300336	Xq13.1
X	DCX	300121	Xq23
X	AFF2	300806	Xq28
X	MECP2	300005	Xq28
X	TMLHE	300777	Xq28
Y	NLGN4Y	400028	Yq11.221

Anexo C. Informes de pacientes con resultado positivo en *array*-CGH

INFORME

Paciente 5 (pág. 1)

METODOLOGÍA

A. Array de CGH con una plataforma de 60000 sondas

Se hibrida la muestra 11NG681 con ADN comercial de referencia de sexo masculino (Promega Biotech) sobre una plataforma de array-CGH de 60000 oligonucleótidos distribuidos a lo largo de todo el genoma (Agilent Technologies). Para su análisis bioinformático, se ha utilizado el estadístico ADAM-2 (ventana 0.5Mb, A=6) como parámetro de análisis del número de copias de ADN presentes para las diferentes sondas. Se acepta como alteración en el número de copias del ADN aquella que tenga un mínimo de cinco sondas consecutivas. La resolución del análisis es, por tanto, de aproximadamente, 200 kb para la mayoría de las regiones. Las coordenadas genómicas indicadas en el informe se corresponden con el constructo genómico NCBI37.

RESULTADOS DEL ANÁLISIS

A. Array de CGH con una plataforma de 60000 sondas

1. Se observa un patrón genómico compatible con una dotación heteróloga para los cromosomas sexuales. Es decir, el par cromosómico sexual está compuesto por una copia del cromosoma X, y una copia del cromosoma Y.
2. Se han detectado los siguientes cambios de número de copia en la muestra con el nivel de resolución utilizado:
 1. **Delección causal** en las citobandas 13q12.3q13.1, coordenadas genómicas chr13:30032299-32840833. La CNV causal, de 2.81 megabases, contiene 7 genes incluidos en el listado OMIM (ver anexo).
 2. 22 CNV benignas (13 duplicaciones, 9 deleciones). La información de las mismas viene listada en el anexo.
3. Se adjunta anexa la imagen del ideograma con el genoma completo, así como las imágenes en detalle del cromosoma 13 y de la región 13q12.3q13.1.

INFORME

Paciente 5 (pág. 2)

RESUMEN E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Tras el análisis global del genoma mediante un array CGH con 60000 sondas y una resolución media de 200 Kilobases, se informa de lo siguiente:

Se ha detectado una **delección de carácter causal** en las citobandas 13q12.3q13.1, coordenadas genómicas chr13:30032299-32840833. La delección observada contiene 2.81 megabases de material codificante y 7 genes incluidos en el listado OMIM (ver anexo).

La base de datos DECIPHER (<https://decipher.sanger.ac.uk>), describe dos casos clínicos con delecciones *de novo* muy similares en tamaño y localización a la presentada por el probando (pacientes 2154 y 248887). Los pacientes presentaban un fenotipo sindrómico común (con varias similitudes al fenotipo del probando), tales como retraso del crecimiento intrauterino gestacional, bajo peso al nacimiento, talla baja, microcefalia, retraso mental, hipotonía y dismorfias faciales variadas, entre otros síntomas.

Se ha detectado la presencia de 22 variaciones de número de copia (CNV) de carácter benigno (13 duplicaciones, 9 delecciones) identificadas como tales en las bases de datos disponibles (Nat Genet. 2004 Sep;36(9):949-51, URL <http://projects.tcag.ca/variation/>). Estas variaciones genéticas están descritas en la población general y no tienen asociado un efecto en el fenotipo del portador.

Por todo ello se concluye que la muestra remitida presenta un patrón genómico de SEXO MASCULINO compatible con la fórmula cromosómica convencional:

46,XY,del(13)(q12.3q13.1)

Fórmula genómica según nomenclatura ISCN (2009):

arr 13q12.3q13.1 (30032299-32840833)x1

INFORME
Paciente 5 (pág. 3)

Imagen representativa del genoma de la muestra

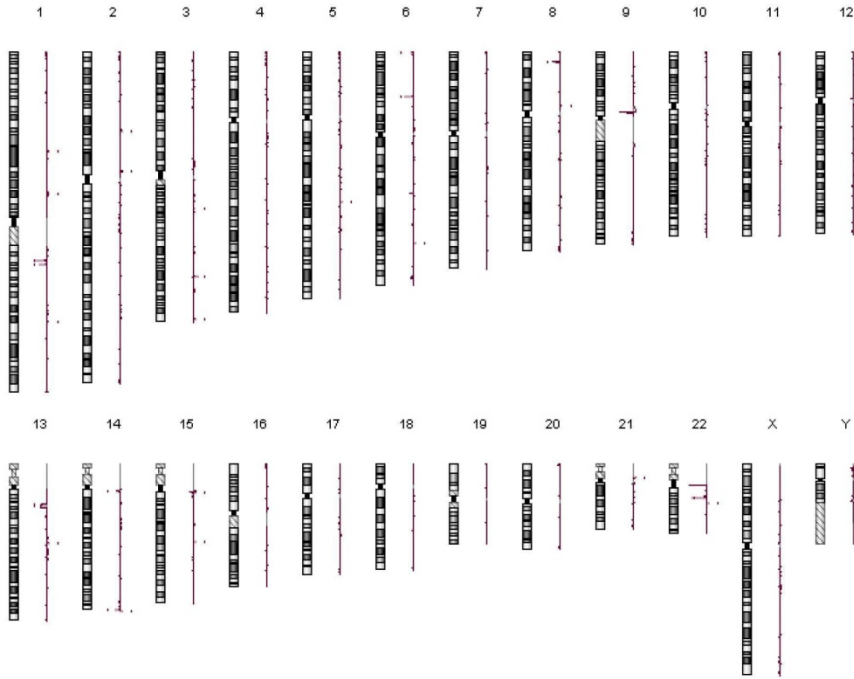
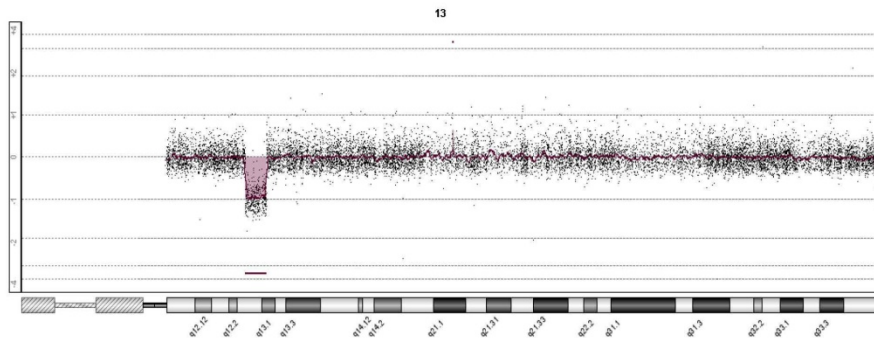
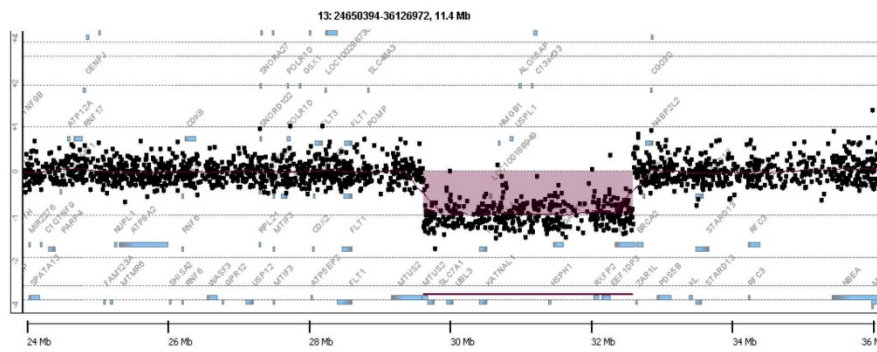


Imagen en detalle del cromosoma 13.



INFORME
Paciente 5 (pág. 4)

Imagen en detalle de la región 13q12.3q13.1.



listado de genes OMIM incluidos en la región 13q12.3q13.1

Inicio	Fin	Gen	Descripción
30083551	30169825	SLC7A1	solute carrier family 7 (cationic amino acid transporter, γ^+ system), member 1
30338545	30424820	UBL3	ubiquitin-like 3
31032877	31040081	HMGB1	high-mobility group box 1
31309669	31338556	ALOX5AP	arachidonate 5-lipoxygenase-activating protein
31710762	31736117	HSPH1	heat shock 105kDa/110kDa protein 1
31774112	31906413	B3GALT1	beta 1,3-galactosyltransferase-like
32313679	32377009	RXFP2	relaxin/insulin-like family peptide receptor 2

INFORME

Paciente 8 (pág. 1)

METODOLOGÍA

A. Array de CGH con una plataforma de 400000 sondas

Se hibrida la muestra recibida con ADN comercial de referencia de sexo femenino (Promega Biotech) sobre una plataforma de array-CGH de 400000 oligonucleótidos distribuidos a lo largo de todo el genoma (Agilent Technologies). Para su análisis bioinformático, se ha utilizado el estadístico ADAM-2 (ventana 0.5Mb, A=6) como parámetro de análisis del número de copias de ADN presentes para las diferentes sondas. Se acepta como alteración en el número de copias del ADN aquella que tenga un mínimo de cinco sondas consecutivas. La resolución del análisis es, por tanto, de aproximadamente, 25 kb para la mayoría de las regiones. Las coordenadas genómicas indicadas en el informe se corresponden con el constructo genómico NCBI37.

RESULTADOS DEL ANÁLISIS

A. Array de CGH con una plataforma de 400000 sondas

1. Se observa un patrón genómico compatible con una dotación homóloga para los cromosomas sexuales. Es decir, el par cromosómico sexual está compuesto por dos copias del cromosoma X.
2. Se han detectado los siguientes cambios de número de copia en la muestra con el nivel de resolución utilizado:
 1. **Delección de significado incierto en la citobanda 4q32.3**, coordenadas genómicas chr4:168432401-168877283. La CNV de significado incierto, de 450 kilobases, no contiene genes incluidos en el listado OMIM.
 2. **Duplicación causal en la citobanda Xq28**, coordenadas genómicas chrX:148792676-154929484. La CNV causal, de 6.14 megabases, contiene 89 genes incluidos en el listado OMIM (el listado puede darse bajo petición). Es importante señalar que la duplicación cubre el gen MECP2 (*300005), y tiene un carácter terminal. Es importante señalar que la duplicación cubre los genes MECP2 (*300005) y GDI1 (*300104).
 3. 13 CNV benignas (7 duplicaciones, 6 deleciones). La información de las mismas viene listada en el anexo.
3. Se adjunta anexa la imagen del ideograma con el genoma completo, así como la imagen en detalle del cromosoma X.

INFORME

Paciente 12 (pág. 2)

RESUMEN E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Tras el análisis global del genoma mediante un array CGH con 400000 sondas y una resolución media de 25 kilobases, se informa de lo siguiente:

Se ha detectado una **delección** en las citobandas 3q22.1q22.3, coordinadas genómicas chr3:132673463-136680035. La CNV, de 4 megabases, contiene 12 genes incluidos en el listado OMIM (ver anexo).

Adicionalmente, se ha detectado una **delección de significado incierto** en la citobanda 6q24.1, coordinadas genómicas chr6:142413358-142541561. La CNV de significado incierto, de 128 kilobases, incluye el gen VTA1 (*610902). En la literatura consultada no hemos encontrado evidencias que asocien la delección observada en el probando con patología alguna o polimorfismo similar, por lo que se le atribuye un **significado incierto**.

Por último, se ha detectado una **duplicación** en la citobanda 16q24.3, coordinadas genómicas chr16:89511022-90149687. La CNV, de 640 kilobases, contiene 17 genes incluidos en el listado OMIM (ver anexo).

No se han descrito, hasta la fecha, pacientes con delección en 3q22 y duplicación en 16q24 terminal de una manera simultánea. Las deleciones en el segmento 3q22q23 se asocian con el Síndrome de blefarofimosis, ptosis y *epicantus inversus* (BPES, MIM 110100), producido por mutaciones en el gen FOXL2 (*605597). A nivel citogenético, se han descrito casos con deleciones en las citobandas 3q22q23, asociados a BPES y otros síntomas, como por ejemplo retraso mental, microcefalia, dismorfias faciales y otros síntomas. Sin embargo, el gen FOXL2 no está delecionado en el probando a estudio, con lo que no puede relacionarse causalmente la delección en 3q22 con el fenotipo del paciente.

Por todo ello, a pesar de que, por tamaño de la región, parecería probable asignar la delección observada en 3q22 como causal, la falta de bibliografía específica al respecto hace sugerir realizar un estudio de progenitores para descartar la posibilidad de que la delección sea un evento heredado.

Por otra parte, se ha detectado la presencia de 9 variaciones de número de copia (CNV) de carácter benigno (1 duplicación, 8 deleciones) identificadas como tales en las bases de datos disponibles (Nat Genet. 2004 Sep;36 (9):949-51, URL <http://projects.tcag.ca/variation/>). Estas variaciones genéticas están descritas en la población general y no tienen asociado un efecto en el fenotipo del portador.

Por todo ello se concluye que la muestra presenta un patrón genómico de SEXO MASCULINO compatible con la fórmula genómica según nomenclatura ISCN (2009):

arr 3q22.1q22.3 (132673463-136680035)x1, 6q24.1 (142413358-142541561)x1, 16q24.3 (89511022-90149687)x3

nota: debido a la alta resolución del array-CGH utilizado, no se describen las regiones benignas detectadas en la fórmula cromosómica ni en la genómica.

INFORME

Paciente 8 (pág. 3)

Imagen representativa del genoma de la muestra

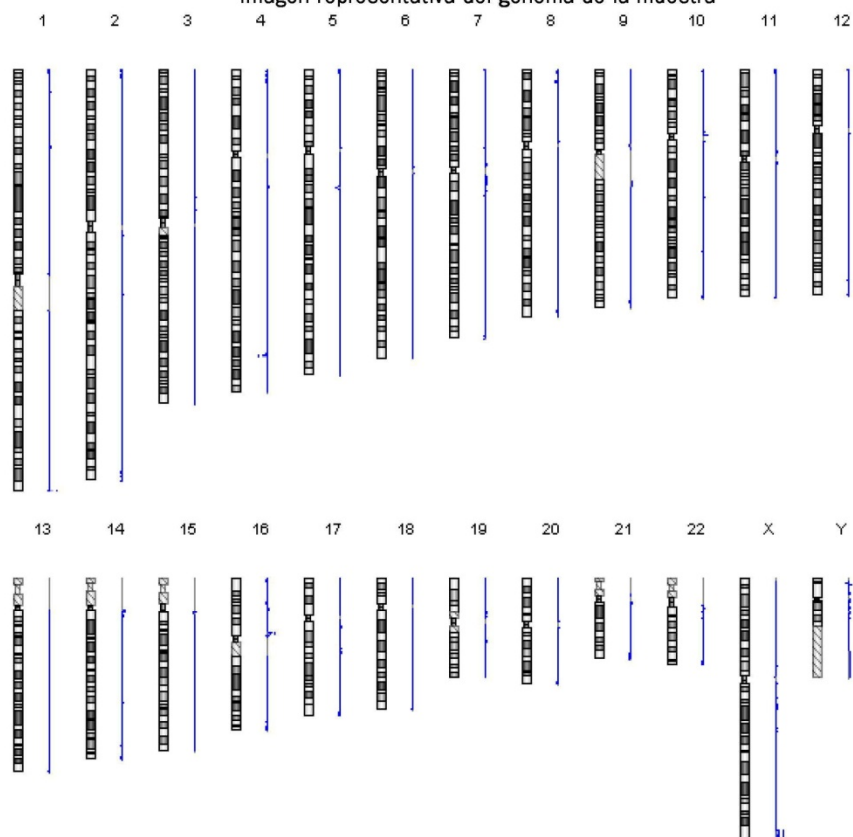
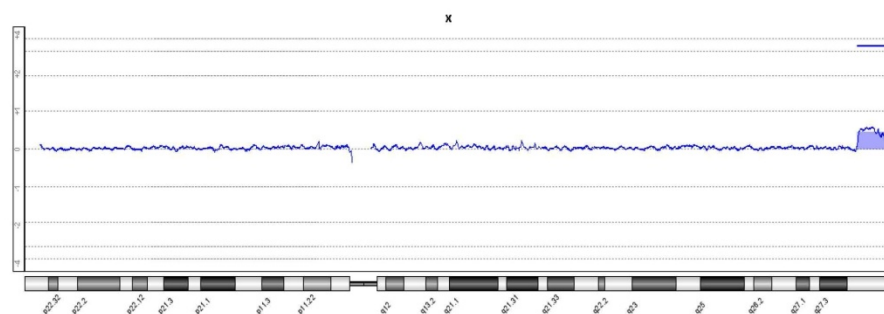


Imagen en detalle del cromosoma X



INFORME

Paciente 9 (pág. 1)

METODOLOGIA

Se hibrida la muestra remitida con ADN comercial de referencia de sexo masculino (Promega Biotech) sobre una plataforma de array-CGH de 400000 oligonucleótidos distribuidos a lo largo de todo el genoma (Agilent Technologies). Para su análisis bioinformático, se ha utilizado el estadístico ADAM-2 (ventana 0.5Mb, A=6) como parámetro de análisis del número de copias de ADN presentes para las diferentes sondas. Se acepta como alteración en el número de copias del ADN aquella que tenga un mínimo de cinco sondas consecutivas. La resolución del análisis es, por tanto, de aproximadamente, 25 kb para la mayoría de las regiones. Las coordenadas genómicas indicadas en el informe se corresponden con el constructo genómico NCBI37.

RESULTADOS DEL ANÁLISIS

1. Se observa un patrón genómico compatible con una dotación heteróloga para los cromosomas sexuales. Es decir, el par cromosómico sexual está compuesto por una copia del cromosoma X, y una copia del cromosoma Y.
2. Se han detectado los siguientes cambios de número de copia en la muestra con el nivel de resolución utilizado:
 - 1.**Duplicación de significado incierto** en la citobanda 6p25.1, coordenadas genómicas chr6:6438562-6821600. La CNV de significado incierto, de 383 kilobases, incluye el gen LY86 (*605241).
 - 2.**Duplicación causal** en las citobandas Xp11.4p11.3, coordenadas genómicas chrX:39718071-44211756. La CNV causal, de 4.5 megabases, contiene 13 genes incluidos en el listado OMIM (ver anexo).
 - 3.17 CNV benignas (6 duplicaciones, 11 deleciones). La información de las mismas viene listada en el anexo.
3. Se adjunta anexa la imagen del ideograma con el genoma completo, así como las imágenes en detalle del cromosoma X y de la región Xp11.4p11.3. .

INFORME

Paciente 9 (pág. 2)

RESUMEN E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Tras el análisis global del genoma mediante un array CGH con 400000 sondas y una resolución media de 25 kilobases, se informa de lo siguiente:

Se ha detectado una **duplicación de significado incierto** en la citobanda 6p25.1, coordenadas genómicas chr6:6438562-6821600. La CNV de significado incierto, de 383 kilobases, incluye el gen LY86 (*605241). No se han encontrado evidencias que asocien la duplicación a polimorfismos conocidos ni a patología. Es importante señalar que el gen LY86 es un antígeno linfocitario, con lo que probablemente, la duplicación observada se trate de un evento polimórfico no descrito previamente.

Por otra parte, se ha detectado una **duplicación de carácter causal** en las citobandas Xp11.4p11.3, coordenadas genómicas chrX:39718071-44211756. La duplicación observada contiene 4.5 megabases de material codificante y 13 genes incluidos en el listado OMIM, entre ellos, los genes MAOA (*309850), NDP (*310600) y BCOR (*300485) (ver anexo).

La bibliografía consultada¹ refiere un paciente varón afecto de retraso mental severo, obesidad y macrocefalia, portador de una duplicación en el segmento Xp21.1p11.3 (heredada de la progenitora sana), de tamaño mayor que la presentada por el probando, aunque comparte, entre otros, el gen MAOA, que se ha relacionado con la obesidad¹. Otra referencia bibliográfica² describe un paciente con retraso mental y epilepsia asociado a una duplicación Xp11.3 de 500 kb, incluyendo los genes MAOA, MAOB y NDP; los autores sugieren un efecto de la región para el desarrollo intelectual, aunque el caso clínico no presentaba obesidad, sino un ligero sobrepeso. Adicionalmente, la base de datos de DECIPHER (<http://decipher.sanger.ac.uk/>) describe un caso clínico (254319), un varón que presenta una duplicación heredada de un progenitor sano, similar a la presente en el probando a estudio. El fenotipo asociado a este caso clínico es de retraso mental y obesidad generalizada.

Debido a que la región observada se trata de una duplicación en el cromosoma X, se recomienda un estudio de la región en la progenitora, para comprobar si se trata de un evento heredado, indicando, o no, un posible síndrome de herencia ligado al cromosoma X.

Así mismo, se ha detectado la presencia de 17 variaciones de número de copia (CNV) de carácter benigno (6 duplicaciones, 11 deleciones) identificadas como tales en las bases de datos disponibles (Nat Genet. 2004 Sep;36(9):949-51, URL <http://projects.tcag.ca/variation/>). Estas variaciones genéticas están descritas en la población general y no tienen asociado un efecto en el fenotipo del portador.

Por todo ello se concluye que la muestra presenta un patrón genómico de SEXO MASCULINO compatible con la fórmula genómica según nomenclatura ISCN (2009):

arr 6p25.1 (6438562-6821600)x3, Xp11.4p11.3 (39718071-44211756)x3

nota: debido a la alta resolución del array-CGH utilizado, no se describen las regiones benignas detectadas en la fórmula cromosómica ni en la genómica.

Bibliografía:

1. Tzschach Andreas et al. Characterization of Interstitial Xp Duplications in Two Families by Tiling Path Array CGH. Am J of Med Genet Part A (2008);146A:197-203.
2. Klitten LL et al. Duplication of MAOA, MAOB, and NDP in a patient with mental retardation and epilepsy. Eur J Hum Genet (2011);19:1-2.

INFORME
Paciente 9 (pág. 3)

Imagen representativa del genoma de la muestra

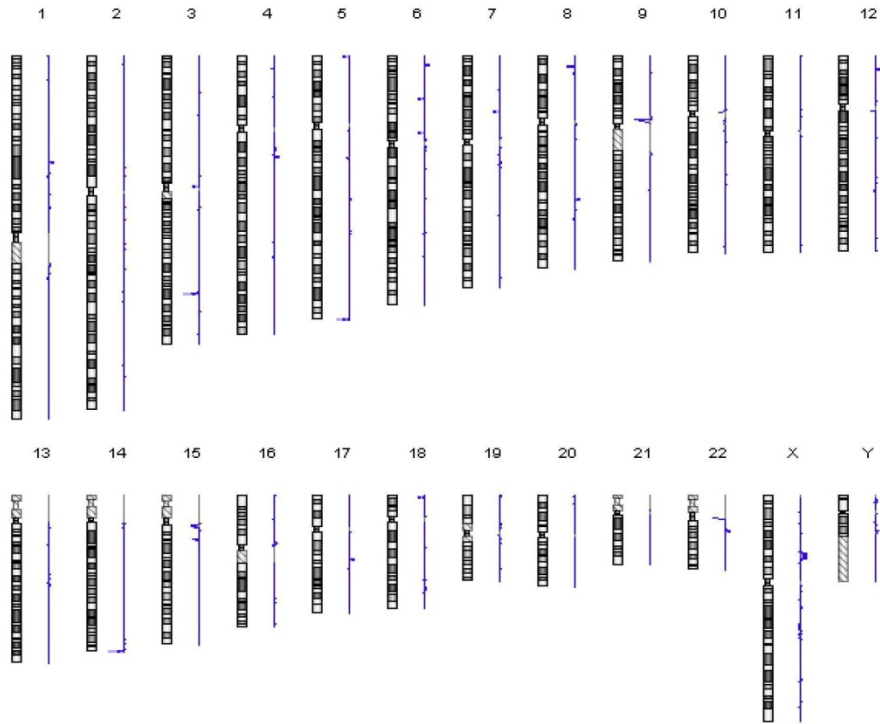


Imagen en detalle del cromosoma X

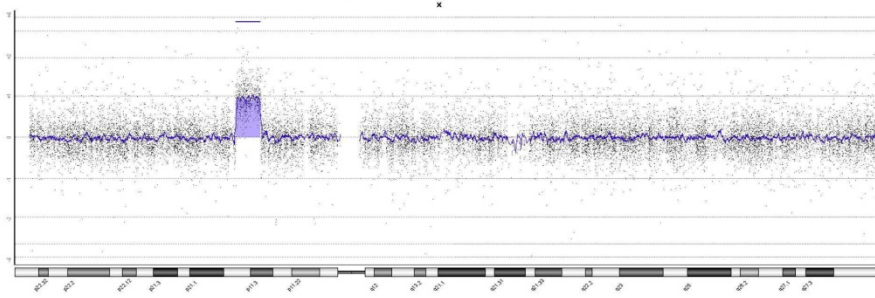
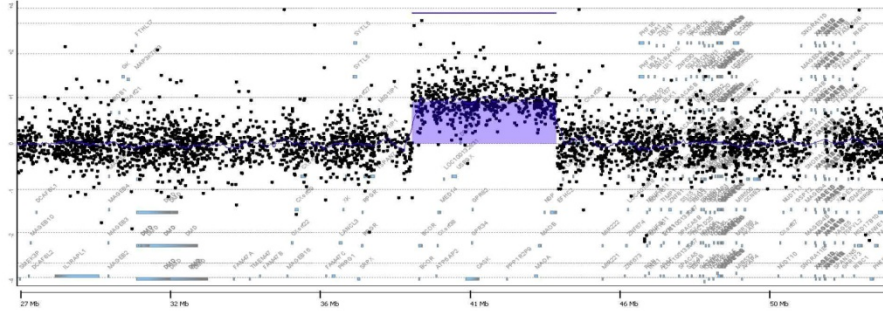


Imagen en detalle de la región Xp11.4p11.3



INFORME
Paciente 9 (pág. 4)

Listado de genes OMIM incluidos en la región Xp11.4p11.3

Inicio	Fin	Gen	Descripción
39910499	40036582	BCOR	BCL6 co-repressor
40440216	40465889	ATP6AP2	ATPase, H+ transporting, lysosomal accessory protein 2
40508795	40594804	MED14	mediator complex subunit 14
40944888	41095832	USP9X	ubiquitin specific peptidase 9, X-linked
41192651	41209527	DDX3X	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 3, X-linked
41306713	41334905	NYX	nyctalopin
41374187	41782287	CASK	calcium/calmodulin-dependent serine protein kinase (MAGUK family)
41548226	41556530	GPR34	G protein-coupled receptor 34
41583408	41589388	GPR82	G protein-coupled receptor 82
43515409	43606068	MAOA	hCG_16826
43625857	43741721	MAOB	monoamine oxidase B
43808022	43832921	NDP	Norrie disease (pseudoglioma)
44007128	44202923	EFHC2	EF-hand domain (C-terminal) containing 2

INFORME

Paciente 12 (pág. 1)

METODOLOGÍA

Se hibrida la muestra remitida con ADN comercial de referencia de sexo masculino (Promega Biotech) sobre una plataforma de array-CGH de 400000 oligonucleótidos distribuidos a lo largo de todo el genoma (Agilent Technologies). Para su análisis bioinformático, se ha utilizado el estadístico ADAM-2 (ventana 0.5Mb, A=6) como parámetro de análisis del número de copias de ADN presentes para las diferentes sondas. Se acepta como alteración en el número de copias del ADN aquella que tenga un mínimo de cinco sondas consecutivas. La resolución del análisis es, por tanto, de aproximadamente, 25 kb para la mayoría de las regiones. Las coordenadas genómicas indicadas en el informe se corresponden con el constructo genómico NCBI37.

RESULTADOS DEL ANÁLISIS

1. Se observa un patrón genómico compatible con una dotación heteróloga para los cromosomas sexuales. Es decir, el par cromosómico sexual está compuesto por una copia del cromosoma X, y una copia del cromosoma Y.
2. Se han detectado los siguientes cambios de número de copia en la muestra con el nivel de resolución utilizado:
 1. **Delección** en las citobandas 3q22.1q22.3, coordenadas genómicas chr3:132673463-136680035. La CNV, de 4 megabases, contiene 12 genes incluidos en el listado OMIM (ver anexo).
 2. **Delección de significado incierto** en la citobanda 6q24.1, coordenadas genómicas chr6:142413358-142541561. La CNV de significado incierto, de 128 kilobases, incluye el gen VTA1 (*610902).
 3. **Duplicación de significado incierto** en la citobanda 16q24.3, coordenadas genómicas chr16:89511022-90149687. La CNV de significado incierto, de 640 kilobases, contiene 17 genes incluidos en el listado OMIM (ver anexo).
 4. 9 CNV benignas (1 duplicación, 8 deleciones). La información de las mismas viene listada en el anexo.
3. Se adjunta anexa la imagen del ideograma con el genoma completo, así como las imágenes en detalle de los cromosomas 3 y 16, y de las regiones 3q22.1q22.3 y 16q24.3 .

INFORME

Paciente 12 (pág. 2)

RESUMEN E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Tras el análisis global del genoma mediante un array CGH con 400000 sondas y una resolución media de 25 kilobases, se informa de lo siguiente:

Se ha detectado una **delección** en las citobandas 3q22.1q22.3, coordenadas genómicas chr3:132673463-136680035. La CNV, de 4 megabases, contiene 12 genes incluidos en el listado OMIM (ver anexo).

Adicionalmente, se ha detectado una **delección de significado incierto** en la citobanda 6q24.1, coordenadas genómicas chr6:142413358-142541561. La CNV de significado incierto, de 128 kilobases, incluye el gen VTA1 (*610902). En la literatura consultada no hemos encontrado evidencias que asocien la delección observada en el probando con patología alguna o polimorfismo similar, por lo que se le atribuye un **significado incierto**.

Por último, se ha detectado una **duplicación** en la citobanda 16q24.3, coordenadas genómicas chr16:89511022-90149687. La CNV, de 640 kilobases, contiene 17 genes incluidos en el listado OMIM (ver anexo).

No se han descrito, hasta la fecha, pacientes con delección en 3q22 y duplicación en 16q24 terminal de una manera simultánea. Las deleciones en el segmento 3q22q23 se asocian con el Síndrome de blefarofimosis, ptosis y *epicantus inversus* (BPES, MIM 110100), producido por mutaciones en el gen FOXL2 (*605597). A nivel citogenético, se han descrito casos con deleciones en las citobandas 3q22q23, asociados a BPES y otros síntomas, como por ejemplo retraso mental, microcefalia, dismorfias faciales y otros síntomas. Sin embargo, el gen FOXL2 no está delecionado en el probando a estudio, con lo que no puede relacionarse causalmente la delección en 3q22 con el fenotipo del paciente.

Por todo ello, a pesar de que, por tamaño de la región, parecería probable asignar la delección observada en 3q22 como causal, la falta de bibliografía específica al respecto hace sugerir realizar un estudio de progenitores para descartar la posibilidad de que la delección sea un evento heredado.

Por otra parte, se ha detectado la presencia de 9 variaciones de número de copia (CNV) de carácter benigno (1 duplicación, 8 deleciones) identificadas como tales en las bases de datos disponibles (Nat Genet. 2004 Sep;36(9):949-51, URL <http://projects.tcag.ca/variation/>). Estas variaciones genéticas están descritas en la población general y no tienen asociado un efecto en el fenotipo del portador.

Por todo ello se concluye que la muestra presenta un patrón genómico de SEXO MASCULINO compatible con la fórmula genómica según nomenclatura ISCN (2009):

arr 3q22.1q22.3 (132673463-136680035)x1, 6q24.1 (142413358-142541561)x1, 16q24.3 (89511022-90149687)x3

nota: debido a la alta resolución del array-CGH utilizado, no se describen las regiones benignas detectadas en la fórmula cromosómica ni en la genómica.

INFORME

Paciente 12 (pág. 3)

Imagen representativa del genoma de la muestra

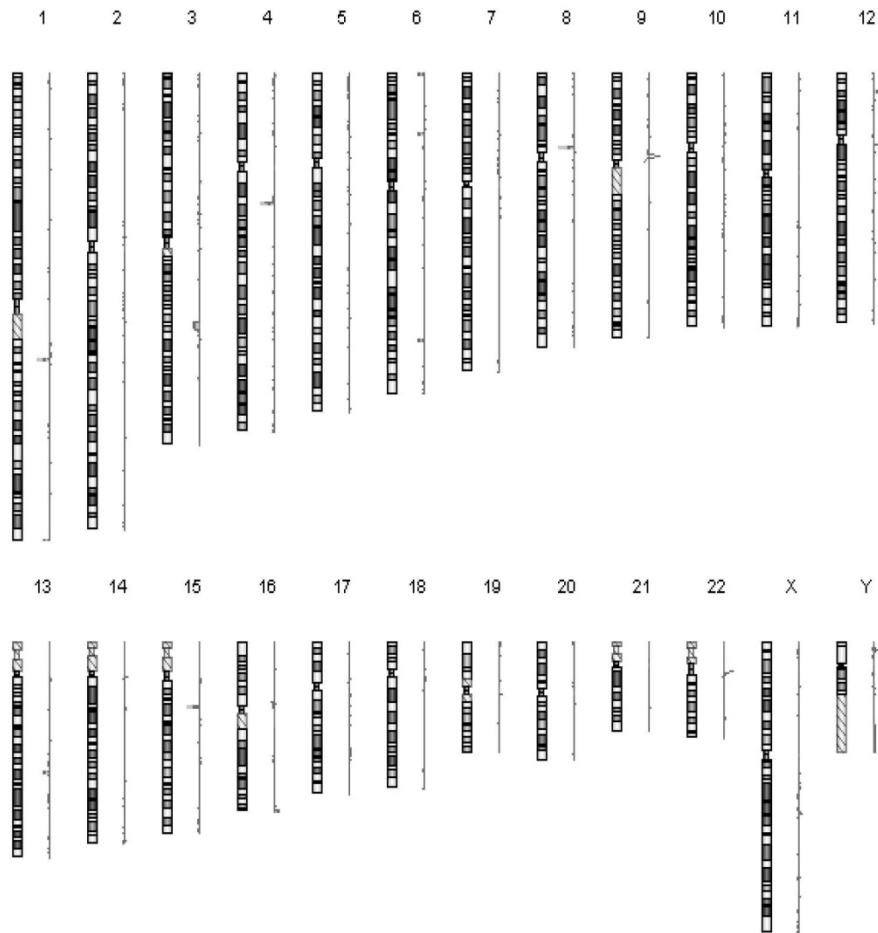
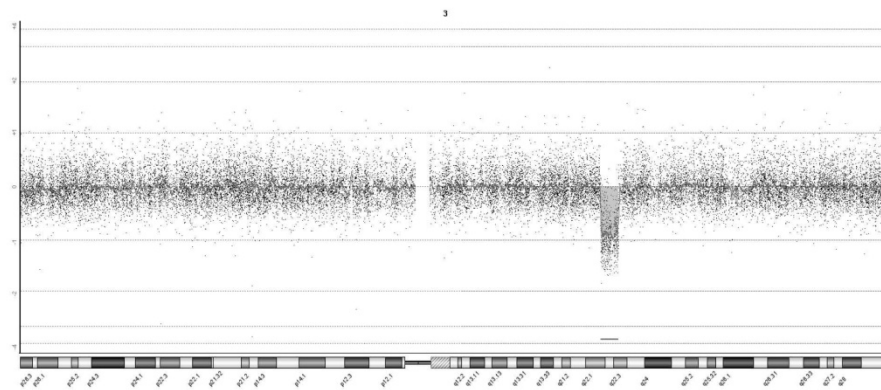


Imagen en detalle del cromosoma 3



INFORME
Paciente 12 (pág. 4)

Imagen en detalle del cromosoma 16

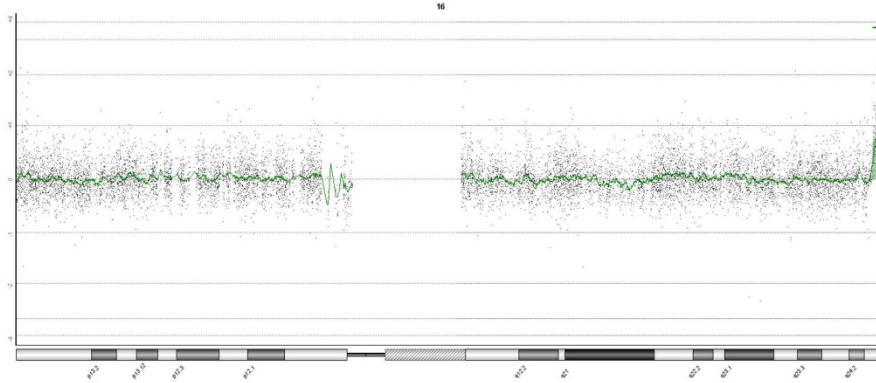


Imagen en detalle de la región 3q22.1q22.3

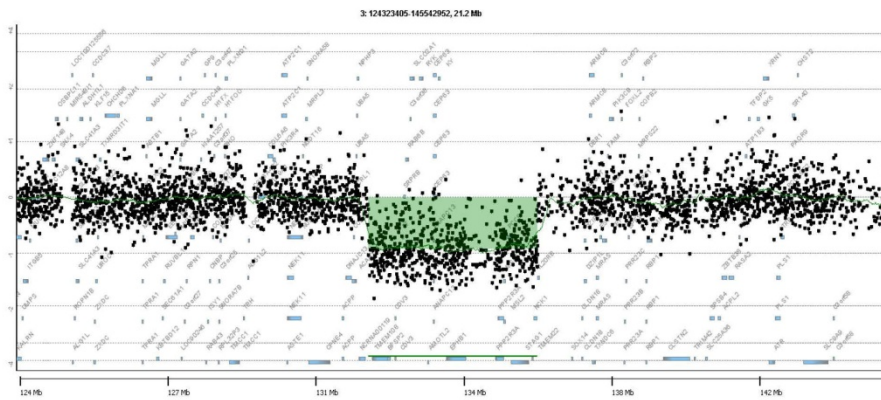
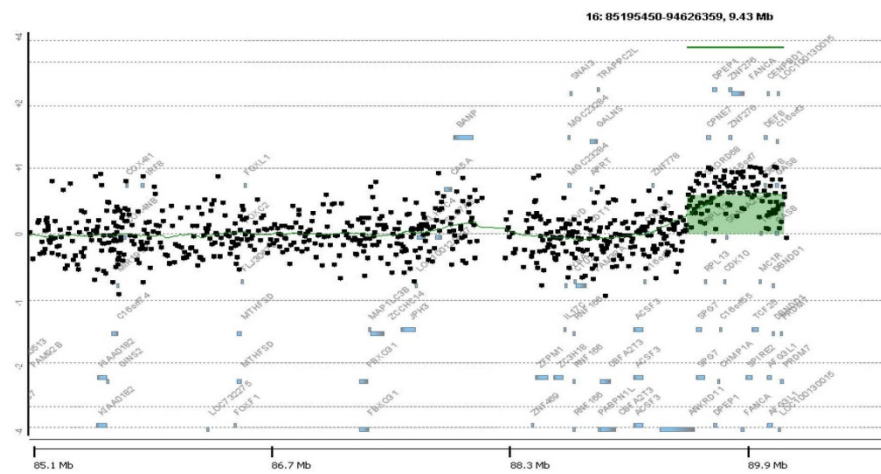


Imagen de la región 16q24.3



INFORME
Paciente 12 (pág. 5)

Genes OMIM incluidos en la región 3q22.1q22.3

Inicio	Fin	Gen	Descripción
133118790	133194056	BFSP2	beaded filament structural protein 2, phakinin
133319449	133380737	TOPBP1	topoisomerase (DNA) II binding protein 1
133464977	133497850	TF	transferrin
133651540	133748920	SLCO2A1	solute carrier organic anion transporter family, member 2A1
133875978	133969586	RYK	RYK receptor-like tyrosine kinase
134318765	134369864	KY	kyphoscoliosis peptidase
134514099	134979309	EPHB1	EPH receptor B1
135684515	135866752	PPP2R3A	PP2A, subunit B, B72/B130 isoforms
135969167	136049013	PCCB	propionyl CoA carboxylase, beta polypeptide
136055999	136471245	STAG1	stromal antigen 1
136581050	136667968	NCK1	NCK adaptor protein 1
136676707	136729927	IL20RB	interleukin 20 receptor beta

Genes OMIM incluidos en la región 16q24.3

Inicio	Fin	Gen	Descripción
89334035	89556969	ANKRD11	ankyrin repeat domain 11
89574805	89624174	SPG7	spastic paraplegia 7 (pure and complicated autosomal recessive)
89627090	89629848	RPL13	ribosomal protein L13
89642176	89663654	CPNE7	copine VII
89679716	89704839	DPEP1	dipeptidase 1 (renal)
89710843	89724129	CHMP1A	chromatin modifying protein 1A
89753076	89762772	CDK10	cyclin-dependent kinase 10
89787393	89807333	ZNF276	zinc finger protein 276
89803959	89883065	FANCA	Fanconi anemia, complementation group A
89894907	89937727	SPIRE2	spire homolog 2 (Drosophila)
89939994	89977792	TCF25	transcription factor 25 (basic helix-loop-helix)
89984287	89987385	MC1R	melanocortin 1 receptor (alpha melanocyte stimulating hormone receptor)
89988417	90002505	TUBB3	tubulin, beta 3
90038988	90067195	AFG3L1P	AFG3 ATPase family gene 3-like 1 (S. cerevisiae), pseudogene
90089008	90111379	GAS8	growth arrest-specific 8
90095316	90096309	C16orf3	chromosome 16 open reading frame 3
90122974	90142338	PRDM7	PR domain containing 7

INFORME

Paciente 24 (pág. 1)

METODOLOGÍA

Se hibrida la muestra remitida con ADN comercial de referencia de sexo femenino (Promega Biotech) sobre una plataforma de array-CGH de 400000 oligonucleótidos distribuidos a lo largo de todo el genoma (Agilent Technologies). Para su análisis bioinformático, se ha utilizado el estadístico ADAM-2 (ventana 0.5Mb, A=6) como parámetro de análisis del número de copias de ADN presentes para las diferentes sondas. Se acepta como alteración en el número de copias del ADN aquella que tenga un mínimo de cinco sondas consecutivas. La resolución del análisis es, por tanto, de aproximadamente, 25 kb para la mayoría de las regiones. Las coordenadas genómicas indicadas en el informe se corresponden con el constructo genómico NCBI37.

RESULTADOS DEL ANÁLISIS

1. Se observa un patrón genómico compatible con una dotación homóloga para los cromosomas sexuales. Es decir, el par cromosómico sexual está compuesto por dos copias del cromosoma X.
2. Se han detectado los siguientes cambios de número de copia en la muestra con el nivel de resolución utilizado:
 1. **Duplicación causal** en las citobandas 7q33q36.3, coordenads genómicas chr7:133788714-158702314. La CNV causal, de 23.28 megabases, contiene 112 genes incluidos en el listado OMIM (el listado se entregará bajo petición).
 2. **Delección causal** en la citobanda 7q36.3, coordenadas genómicas chr7:158706729-159118707. La CNV causal, de 410 kilobases, contiene un gen incluido en el listado OMIM: VIPR2 (*613959).
 3. 13 CNV benignas (4 duplicaciones, 9 deleciones). La información de las mismas viene listada en el anexo.
3. Se adjunta anexa la imagen del ideograma con el genoma completo así como una imagen en detalle del cromosoma 7 y de la región 7q33q36.3.

INFORME

Paciente 24 (pág. 2)

RESUMEN E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Tras el análisis global del genoma mediante un array CGH con 400000 sondas y una resolución media de 25 kilobases, se informa de lo siguiente:

Se ha detectado una **duplicación causal** en las citobandas 7q33q36.3, coordenadas genómicas chr7:133788714-158702314. La CNV causal, de 23.28 megabases, contiene 112 genes incluidos en el listado OMIM (el listado se entregará bajo petición).

Adicionalmente, se ha detectado una **delección causal** en la citobanda 7q36.3, coordenadas genómicas chr7:158706729-159118707. La CNV causal, de 410 kilobases, contiene un gen incluido en el listado OMIM: VIPR2 (*613959). La localización consecutiva de ambas alteraciones, así como la delección de carácter terminal, hace suponer que podrían formar parte del mismo evento genómico complejo, probablemente una inversión con duplicación del fragmento 7q33q36.3 y delección del segmento terminal 7q36.3.

La bibliografía describe algunas descripciones de inversiones-duplicaciones *de novo* que afectan al brazo largo del cromosoma 7q (una de ellas se asocia, además, una delección telomérica)^{1,2}; sin embargo, estas descripciones afectaban a más material duplicado (en concreto, 7q22q36.1 y 7q21.2q36) y fueron identificados en abortos polimalformados. A nivel del área duplicada, sin embargo, no se han encontrado descripciones de inv dup afectando exclusivamente a la región 7q33q36, por lo que se realizó una búsqueda bibliográfica de pacientes portadores únicamente de la duplicación (7q33q36). En la bibliografía consultada³, se describen dos hermanos con una duplicación similar citogenéticamente a la encontrada en la paciente a estudio. Estos hermanos presentaban un fenotipo similar compuesto por frente prominente con línea del pelo atrasada, puente nasal hundido, cuello corto, mandíbula pequeña, manos pequeñas con un único pliegue palmar (adicionalmente, el hermano mayor presentaba hidrocefalia y el pequeño presentaba displasia renal y ausencia de las costillas nº 12). Otro caso descrito³ con dup(7)(q33.3qter) presentaba retraso mental e hipotonía severos, hipoplasia genital y cifosis.

Por otro lado, se ha detectado la presencia de 13 variaciones de número de copia (CNV) de **carácter benigno** (4 duplicaciones, 9 delecciones) identificadas como tales en las bases de datos disponibles (Nat Genet. 2004 Sep;36(9):949-51, URL <http://projects.tcag.ca/variation/>). **Estas variaciones genéticas están descritas en la población general y no tienen asociado un efecto en el fenotipo del portador.**

Por todo ello se concluye que la muestra presenta un patrón genómico de SEXO FEMENINO compatible con la fórmula genómica según nomenclatura ISCN (2009):

arr 7q33q36.3 (133788714-158702314)x3, 7q36.3 (158706729-159118707)x1

Bibliografía:

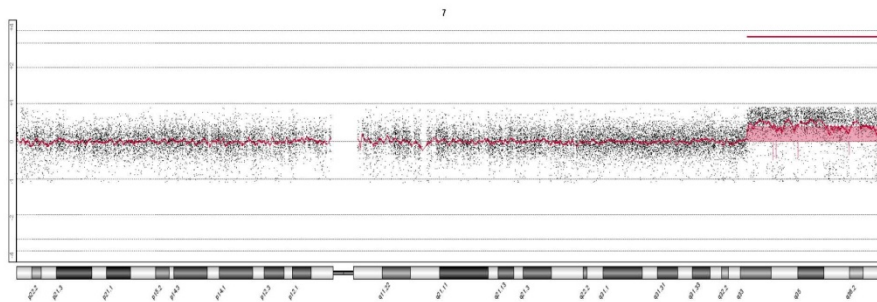
1. Haslam JS and Norman AM. De novo inverted duplication of chromosome 7q. J Med Genet 1992;29:837-838.
2. Stetten G et al. A paternally derived inverted duplication of 7q with evidence of a telomeric deletion. Am J Med Genet 1997;68:76-81.
3. Schinzel A. Catalogue of unbalanced chromosome aberrations in man. 2nd Edition. De Gruyter, 2001

INFORME
Paciente 24 (pág. 3)

Imagen representativa del genoma de la muestra



Imagen en detalle del cromosoma 7



INFORME

Paciente 35 (pág. 1)

METODOLOGÍA

Se hibrida la muestra remitida con ADN comercial de referencia de sexo femenino (Promega Biotech) sobre una plataforma de array-CGH de 400000 oligonucleótidos distribuidos a lo largo de todo el genoma (Agilent Technologies). Para su análisis bioinformático, se ha utilizado el estadístico ADAM-2 (ventana 0.5Mb, A=6) como parámetro de análisis del número de copias de ADN presentes para las diferentes sondas. Se acepta como alteración en el número de copias del ADN aquella que tenga un mínimo de cinco sondas consecutivas. La resolución del análisis es, por tanto, de aproximadamente, 25 kb para la mayoría de las regiones. Las coordenadas genómicas indicadas en el informe se corresponden con el constructo genómico NCBI37.

RESULTADOS DEL ANÁLISIS

1. Se observa un patrón genómico compatible con una dotación homóloga para los cromosomas sexuales. Es decir, el par cromosómico sexual está compuesto por dos copias del cromosoma X.
2. Se han detectado los siguientes cambios de número de copia en la muestra con el nivel de resolución utilizado (en este listado no se detallan aquellos que sean de carácter benigno):
 1. **Duplicación** en la citobanda Xq28, coordenadas genómica chrX:153,277,239-156,628,132. La CNV, de 350 kilobases, contiene 8 genes incluidos en el listado OMIM: IRAK1 (*300283) afectado hasta el exón 13, MECP2 (*300005), O[^]PN1LW (*300822), TEX28 (*300092), TKTL1 (*300044), FLNA (*300017), EMD (*300384) y RPL10 (*312173).
3. Se adjunta anexa la imagen del ideograma con el genoma completo así como una imagen en detalle de la región Xq28.

INFORME

Paciente 35 (pág. 2)

RESUMEN E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Tras el análisis global del genoma mediante un array CGH con 400000 sondas y una resolución media de 25 kilobases, se informa de lo siguiente:

Se ha detectado una **duplicación** en la citobandas Xq28, coordenadas genómica chrX:153,277,239-156,628,132. La CNV, de 350 kilobases, contiene 8 genes incluidos en el listado OMIM: IRAK1 (*300283) afectado hasta el exón 13, MECP2 (*300005), OPN1LW (*300822), TEX28 (*300092), TKTL1 (*300044), FLNA (*300017), EMD (*300384) y RPL10 (*312173).

La duplicación de la región Xq28, afectando el gen MECP2, se relaciona con el Síndrome de duplicación de MECP2, también llamado retraso mental ligado al X de Lubs (#300260). Dicho síndrome con fenotipo complejo donde destaca retraso mental severo, hipotonía, ausencia del habla (o habla muy limitada), epilepsia y/o infecciones recurrentes. Este síndrome afecta fundamentalmente a pacientes masculinos (ligado al X), se hereda, en la mayoría de los casos descritos, por vía materna. Las mujeres portadoras de dicha duplicación son, en su mayoría, asintomáticas o, en los casos de mayor gravedad, pueden presentar hallazgos neuropsiquiátricos menores. Se sugiere un estudio genómico de progenitores para averiguar si la alteración tiene un origen *de novo* o heredado. Así como un estudio de inactivación del cromosoma X para ver si la paciente presenta un patrón de inactivación sesgado a al azar.

Por otro lado, se ha detectado la presencia de variaciones de número de copia (CNV) de **carácter benigno** identificadas como tales en las bases de datos disponibles (<http://projects.tcag.ca/variation/>, http://may2009.archive.ensembl.org/Homo_sapiens/info/index). Estas **variaciones genéticas están descritas en la población general y no tienen asociado un efecto en el fenotipo del portador**. Debido a su naturaleza benigna (siguiendo las recomendaciones recogidas en el protocolo CEQA de calidad en el estudio clínico con microarrays de CGH, *Hum Mutat* 2012;33:906-915), la información de dichas CNV benignas no se suministra en el presente informe, pudiendo solicitarse al laboratorio en caso de requerirlo.

Por todo ello se concluye que la muestra presenta un patrón genómico de SEXO FEMENINO compatible con la fórmula genómica según nomenclatura ISCN (2013):

arr[hg19] Xq28(153,277,239-156,628,132)x3

INFORME

Paciente 39 (pág. 1)

METODOLOGÍA

Se hibrida la muestra remitida con ADN comercial de referencia de sexo masculino (Promega Biotech) sobre una plataforma de array-CGH de 400000 oligonucleótidos distribuidos a lo largo de todo el genoma (Agilent Technologies). Para su análisis bioinformático, se ha utilizado el estadístico ADAM-2 (ventana 0.5Mb, A=6) como parámetro de análisis del número de copias de ADN presentes para las diferentes sondas. Se acepta como alteración en el número de copias del ADN aquella que tenga un mínimo de cinco sondas consecutivas. La resolución del análisis es, por tanto, de aproximadamente, 25 kb para la mayoría de las regiones. Las coordenadas genómicas indicadas en el informe se corresponden con el constructo genómico NCBI37.

RESULTADOS DEL ANÁLISIS

1. Se observa un patrón genómico compatible con una dotación heteróloga para los cromosomas sexuales. Es decir, el par cromosómico sexual está compuesto por una copia del cromosoma X, y una copia del cromosoma Y.
2. Se han detectado los siguientes cambios de número de copia en la muestra con el nivel de resolución utilizado (en este listado no se detallan aquellos que sean de carácter benigno):
 1. **Deleción causal en la citobanda 22q11.21**, coordenadas genómicas chr22:18952812-21464260. La delección, de 2.51 megabases, afecta 39 genes incluidos en el listado OMIM, entre los que destaca el gen **TBX1** (*602054).
3. Se adjunta anexa la imagen del ideograma con el genoma completo, así como la imagen en detalle de la citobanda 22q11.21.

INFORME
Paciente 39 (pág. 2)

RESUMEN E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Tras el análisis global del genoma mediante un array CGH con 400000 sondas y una resolución media de 25 kilobases, se informa de lo siguiente:

Se ha detectado una **delección causal en la citobanda 22q11.21**, coordenadas genómicas chr22:18952812-21464260. La delección, de 2.51 megabases, afecta 39 genes incluidos en el listado OMIM, entre los que destaca el gen TBX1 (*602054).

La delección detectada en el paciente afecta a la región crítica del **síndrome de microdelección 22q11.2**. Los pacientes afectados por esa delección pueden asociarse fenotípicamente con el **síndrome de DiGeorge** (OMIM # 188400), o con el **síndrome velocardiofacial** (#192430), presentando, entre otros síntomas, defectos cardíacos, deficiencias inmunes, hipocalcemia prenatal, espasmos, insuficiencia velofaríngea y una apariencia facial distintiva (hipertelorismo y paladar ojival entre otros). La mayoría de los pacientes presenta problemas de aprendizaje y anomalías de comportamiento (incluso esquizofrenia en algunos pacientes adultos).

Por otro lado, se ha detectado la presencia de variaciones de número de copia (CNV) de **carácter benigno** identificadas como tales en las bases de datos disponibles (<http://projects.tcag.ca/variation/>, http://may2009.archive.ensembl.org/Homo_sapiens/Info/Index). **Estas variaciones genéticas están descritas en la población general y no tienen asociado un efecto en el fenotipo del portador.** Debido a su naturaleza benigna (siguiendo las recomendaciones recogidas en el protocolo CEQA de calidad en el estudio clínico con microarrays de CGH, *Hum Mutat* 2012;33:906-915), la información de dichas CNV benignas no se suministra en el presente informe, pudiendo solicitarse al laboratorio en caso de requerirlo.

Por todo ello se concluye que la muestra presenta un patrón genómico de SEXO MASCULINO compatible con la fórmula genómica según nomenclatura ISCN (2013):

arr[hg19] 22q11.21(18952812-21464260)x1

INFORME

Paciente 44 (pág. 1)

METODOLOGÍA

Se hibrida la muestra remitida con ADN comercial de referencia de sexo femenino (Promega Biotech) sobre una plataforma KaryoNIM® Autismo 180K, diseñado por NIMGenetics® para la detección de alteraciones genéticas relacionadas con el autismo (fabricado por Agilent Tech). Para su análisis bioinformático, se utiliza el constructo genómico hg19 y el estadístico ADM-2 (ventana 0.5Mb, A=6) aceptando alteraciones de ≥ 5 sondas consecutivas. La resolución del análisis es de, aprox., 15 Kb para los 115 genes relacionados con el autismo incluidos en el diseño y de 100 Kb para el resto del genoma. Adicionalmente se revisa en detalle un total de 45 regiones críticas de asociación a autismo (listado de genes y regiones disponible bajo petición).

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN DEL ANÁLISIS

Resultado array-CGH (ISCN 2013): arr[hg19] 2p25.3(16,819-2,817,019)x1
La muestra remitida presenta un patrón genómico de SEXO FEMENINO.

Se ha detectado una **delección patogénica** en la citobanda 2p25.3, coordenadas genómicas chr2:16,819-2,817,019. La CNV, de aproximadamente 2.3 megabases, contiene los genes FAM110C (*611395), ACP1 (*171500), TMEM18 (*613220), SNTG2 (*608715), TPO (*606765), PXDN (*605158), MYT1L (*613084).

La base de datos DECIPHER describe varios casos clínicos (pacientes 259324, 266318, 275996) con delección terminal 2p25.3 de un tamaño similar (2-3 megabases), todos ellos asociados a un cuadro de retraso psicomotor, discapacidad intelectual y desórdenes de comportamiento (y/o autismo). Adicionalmente, la bibliografía consultada describe, aparte de estos dos hallazgos clínicos, la posibilidad de que los afectos de la delección presenten obesidad de aparición temprana, pero no describen un cuadro dismórfico característico. La delección del gen MYT1L parece ser la responsable del retraso psicomotor y la discapacidad intelectual^{1,2}.

CONCLUSIÓN Y COMENTARIOS

Se ha detectado una alteración de número de copia que podría explicar el fenotipo del caso remitido.

Comentarios:

1. Se recomienda realizar una consulta de consejo genético.
2. Se han detectado cambios de número de copia que han sido descritos como variantes comunes en población sana, según la *Genomic Database of Variants* (<http://projects.tcag.ca/variation/>). La información de dichas variantes será entregada bajo petición.
3. Se adjunta un anexo con la imagen genómica y del detalle de la variante detectada.

Bibliografía:

1. Stevens SJC et al. MYT1L is a Candidate Gene for Intellectual Disability in Patients With 2p25.3 (2pter) Deletions. *Am J Med Genet A* 2011;155A:2739-2745.
2. Doco-Fenzy M et al. Early-onset obesity and paternal 2pter deletion encompassing the ACP1, TMEM18, and MYT1L genes. *Eur J Hum Genet* 2014;22(4):471-479.

INFORME
Paciente 44 (pág. 2)

Imagen representativa del genoma de la muestra

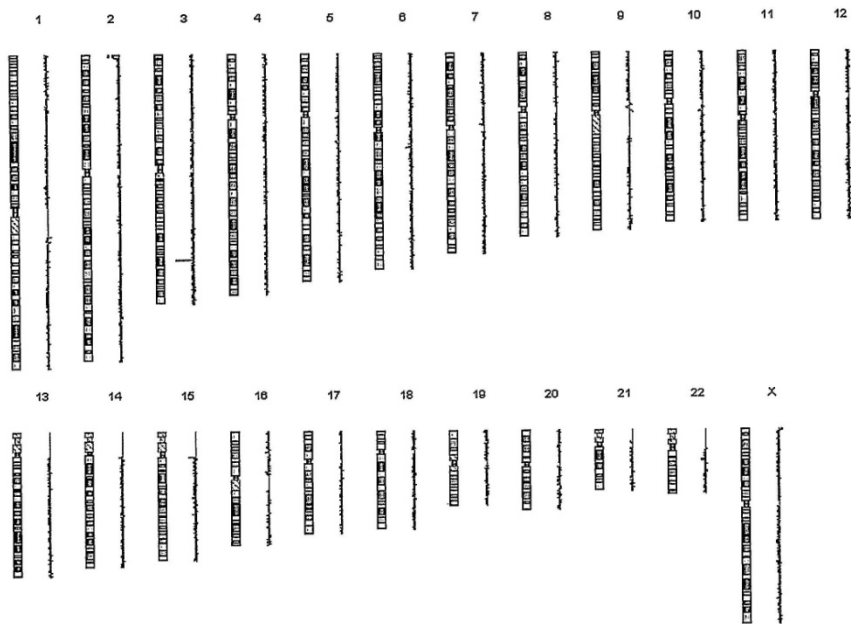
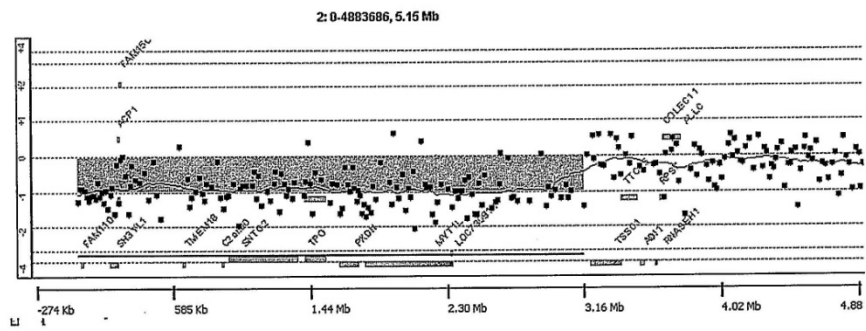


Imagen en detalle de la citobanda 2p25.2



INFORME

Paciente 48 (pág. 1)

METODOLOGÍA

Se hibrida la muestra remitida con ADN comercial de referencia de sexo femenino (Promega Biotech) sobre una plataforma KaryoNIM® Autismo 180K, diseñado por NIMGenetics® para la detección de alteraciones genéticas relacionadas con el autismo (fabricado por Agilent Tech). Para su análisis bioinformático, se utiliza el constructo genómico hg19 y el estadístico ADM-2 (ventana 0.5Mb, A=6) aceptando alteraciones de ≥ 5 sondas consecutivas. La resolución del análisis es de, aprox., 15 Kb para los 115 genes relacionados con el autismo incluidos en el diseño y de 100 Kb para el resto del genoma. Adicionalmente se revisa en detalle un total de 45 regiones críticas de asociación a autismo (listado de genes y regiones disponible bajo petición).

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN DEL ANÁLISIS

Resultado array-CGH (ISCN 2013): arr[hg19] 17p13.3(24,257-2,236,581)x1
La muestra remitida presenta un patrón genómico de SEXO FEMENINO.

Se ha detectado una **delección patogénica** en la citobanda 17p13.3, coordenadas genómicas chr17:24,257-2,236,581. La CNV, de 2.21 megabases, contiene 33 genes incluidos en el listado OMIM, entre los que destaca el gen YWHAE (*605066) (el anexo se entregará bajo petición).

La delección afecta parte de la región crítica del síndrome de liscencefalia de Miller-Dieker (#247200), síndrome autosómico dominante caracterizado fundamentalmente por liscencefalia (que puede generar retraso mental severo, espasmos, hipotonía y otros trastornos), y acompañada de otros hallazgos, tales como microcefalia, dismorfias faciales y retraso del crecimiento. La región delecionada típica afecta el gen LIS1 (*601545) como responsable de la liscencefalia, y el gen YWHAE, que parece ser el causante de los trastornos adicionales del síndrome.

Es importante señalar que, en el presente caso, LIS1 no se encuentra delecionado, pero sí lo está YWHAE. La bibliografía disponible¹ describe delecciones *de novo* en 17p13.3, muy similares a la detectada en el probando, sin afectar LIS1, pero sí YWHAE. Los hallazgos clínicos característicos son retraso del desarrollo moderado, severo retraso del crecimiento, talla baja (tratado y mejorado con hormona del crecimiento) y diversas dismorfias faciales, pero sin indicios de liscencefalia.

CONCLUSIÓN

Se ha detectado una delección en 17p13.3 que podría explicar el fenotipo del caso remitido. Esta delección **NO** se asocia con el síndrome de liscencefalia de Miller-Dieker, aunque comparte diversos hallazgos no asociados a la delección de LIS1.

RECOMENDACIONES:

1. Se recomienda realizar una consulta de consejo genético.
2. Se han detectado cambios de número de copia que han sido descritos como variantes comunes en población sana, según la *Genomic Database of Variants* (<http://projects.tcag.ca/variation/>). La información de dichas variantes se encuentra en el anexo.
3. Se adjunta un anexo con la imagen genómica y del detalle de la variante detectada.

Bibliografía:

1. Enomoto K et al. Expression Analysis of a 17p terminal deletion, including YWHAE but not PAFAH1B1, associated with normal brain structure on MRI in a young girl. *Am. J. Med. Genet. Part A* 2012; 158A(9):2347-2352

INFORME
Paciente 48 (pág. 2)

Imagen representativa del genoma de la muestra

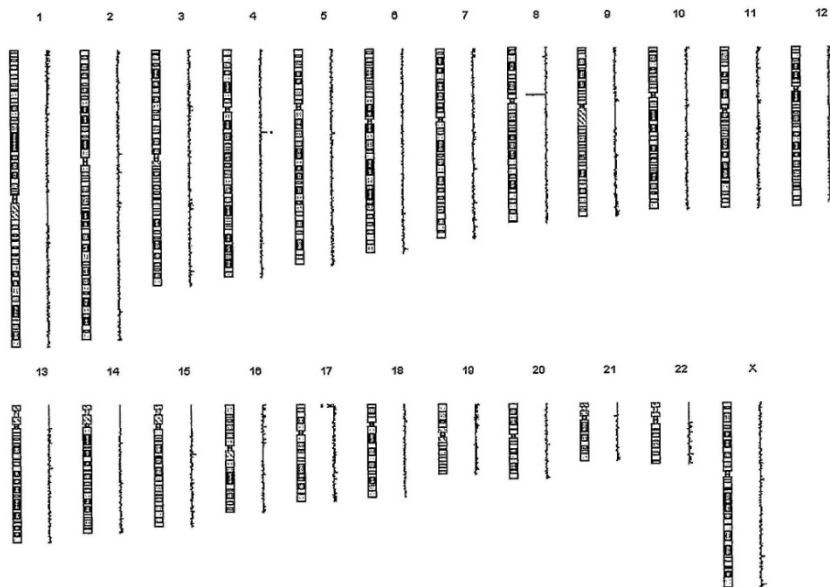


Imagen representativa del cromosoma 17 de la muestra

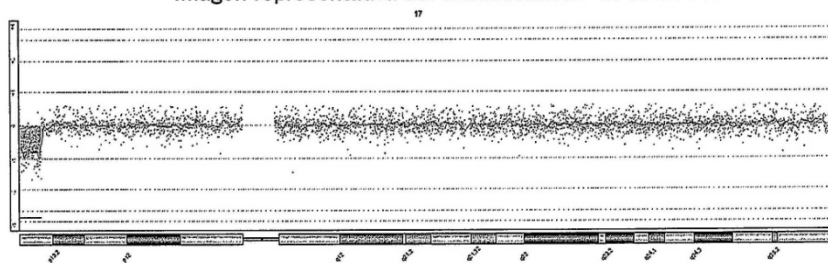


Imagen representativa de la región 17q13.3 de la muestra

