

ORIGINAL

Fenotipo en pacientes con discapacidad intelectual y array-CGH patológico[☆]



V. Caballero Pérez^{a,*}, F.J. López Pisón^b, M.D. Miramar Gallart^c,
A. González Álvarez^d, M.C. García Jiménez^b, J.P. García Iñiguez^e,
C. Orden Rueda^b, I. Gil Hernández^b, C. Fuertes Rodrigo^b,
R. Fernando Martínez^b, A. Rodríguez Valle^c y M.J. Alcaine Villarroya^c

^a Servicio de Pediatría, Hospital Obispo Polanco, Teruel, España

^b Sección de Neuropediatría, Hospital Infantil Universitario Miguel Servet, Zaragoza, España

^c Sección de Genética, Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza, España

^d Servicio de Farmacia, Hospital Obispo Polanco, Teruel, España

^e Servicio de Cuidados Intensivos Pediátricos, Hospital Infantil Universitario Miguel Servet, Zaragoza, España

Recibido el 2 de noviembre de 2015; aceptado el 8 de marzo de 2016

Accesible en línea el 6 de mayo de 2016

PALABRAS CLAVE

Retraso global del desarrollo;
Discapacidad intelectual;
Array de hibridación genómica comparada;
Resultado diagnóstico

Resumen

Introducción: El retraso global del desarrollo (RGD) y la discapacidad intelectual (DI) son un motivo de consulta frecuente en la consulta de Neuropediatría. Actualmente, la hibridación genómica comparada constituye una de las principales técnicas aplicadas al diagnóstico de esta patología. Resulta útil determinar qué características fenotípicas se asocian a obtener un resultado etiológico en el test genético.

Métodos: Se llevó a cabo un estudio ciego pormenorizado de las características clínicas, antropométricas y morfológicas de 80 individuos afectados de DI no explicada y se analizó cuales estaban asociadas a obtener un resultado etiológico en el array-CGH.

Resultados: El resultado del array fue patológico en un 27,5% de los casos. Los factores que se asociaron estadísticamente a tener una prueba de array-CGH patológica fueron los antecedentes familiares de DI/RGD (OR: 12,1), la presencia de malformaciones congénitas (OR: 5,33), más de 3 rasgos dismórficos faciales (OR: 20,9) y la hipotonía periférica (OR: 3,25).

Conclusiones: Nuestros hallazgos coinciden con otras series publicadas. Por lo tanto, asumimos que la probabilidad de encontrar variación en el número de copias de significado patológico mediante array-CGH aumenta si alguna de las características anteriores está presentes en individuos afectados de DI/RGD.

© 2016 Sociedad Española de Neurología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

[☆] El presente trabajo no ha sido presentado en la Reunión Anual de la SEN o en otras reuniones.

* Autor para correspondencia.

Correos electrónicos: vcaballero@salud.aragon.es, vicckky8@gmail.com (V. Caballero Pérez).

KEYWORDS

Global developmental delay;
Intellectual disability;
Array comparative genomic hybridisation;
Aetiological diagnosis

Phenotype in patients with intellectual disability and pathological results in array CGH**Abstract**

Introduction: Global developmental delay (GDD) and intellectual disability (ID) are frequent reasons for consultation in paediatric neurology departments. Nowadays, array comparative genomic hybridisation (array-CGH) is one of the most widely used techniques for diagnosing these disorders. Our purpose was to determine the phenotypic features associated with pathological results in this genetic test.

Methods: We conducted a blind study of the epidemiological, clinical, anthropometric, and morphological features of 80 patients with unexplained ID to determine which features were associated with pathological results in array-CGH.

Results: Pathological results were found in 27.5% of the patients. Factors associated with pathological results in array-CGH were a family history of GDD/ID (OR = 12.1), congenital malformations (OR = 5.33), having more than 3 facial dysmorphic features (OR = 20.9), and hypotonia (OR = 3.25).

Conclusions: Our findings are consistent with those reported by other published series. We therefore conclude that the probability of having pathological results in array-CGH increases with the presence of any of the features mentioned above in patients with ID/GDD.

© 2016 Sociedad Española de Neurología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

La discapacidad intelectual (DI) se caracteriza por limitaciones significativas tanto en el funcionamiento intelectual como en el adaptativo y se origina con anterioridad a los 18 años. Para los niños menores de 5 años se usa el término retraso global del desarrollo (RGD) en aquellos que no cumplen los hitos esperados para su edad en las áreas de desarrollo social, motor o intelectual (con principal relevancia del lenguaje)¹⁻³. Aproximadamente el 50% de los casos a nivel global no tienen un diagnóstico etiológico establecido^{4,5}. Las causas más frecuentes identificadas dentro del campo de la genética han sido las mutaciones puntuales en genes conocidos y las alteraciones cromosómicas^{6,7}. La técnica array-comparative genomic hybridization (CGH) identifica tanto excesos (duplicaciones) como defectos (deleciones) de material genético y constituye uno de los principales test diagnósticos en niños con trastornos del neurodesarrollo. Cuando se aplica al estudio de la DI el rendimiento diagnóstico varía desde un 10 a un 30%, según los criterios de selección de la muestra utilizados^{8,9}. El objetivo de nuestro estudio es conocer qué características clínicas, antropométricas y morfológicas aparecen con mayor frecuencia en individuos afectados de DI/RGD con un resultado diagnóstico en la prueba del array-CGH.

Pacientes y métodos

Los criterios de selección de la muestra fueron: *a)* estar en seguimiento en la consulta de Neuropediatría del Hospital Infantil Miguel Servet de Zaragoza; *b)* edad comprendida entre los 12 meses y los 18 años; *c)* estar afectados de DI

o RGD sin diagnóstico etiológico establecido, y *d)* haberse realizado la técnica array-CGH y haber recibido el resultado antes del 1 de diciembre del 2011. El número total de individuos que cumplían estos criterios fue de 140. El periodo de investigación fue de 2 años y se desarrolló por un único investigador.

Se diagnosticó de RGD a aquellos pacientes que con una edad inferior a 5 años presentaban una alteración en el neurodesarrollo en 2 o más áreas según la escala de desarrollo Denver o Llevant. Asimismo, se diagnosticó de DI a aquellos pacientes que a una edad igual o superior a 5 años disponían de un estudio de cociente intelectual < 70. En aquellos casos que no se disponía de un estudio neuropsicológico, la DI se definió en función del tipo de escolarización: educación especial o con adaptación curricular significativa.

Método: se envió una carta informativa de las características del estudio a las familias y se concertó una cita presencial por vía telefónica. El día de la cita se firmó el consentimiento informado (repetido) y se registraron las principales variables demográficas, perinatales, clínicas, morfológicas y antropométricas de cada uno de los individuos sin conocer el resultado del test genético mediante entrevista clínica y exploración física pormenorizada. A posteriori, se revisaron la historia clínica y el resultado del array-CGH clasificando a los individuos en 3 grupos: resultado normal, resultado patológico o resultado incierto. Para llevar a cabo esta clasificación se consultaron las bases de datos Database of Genomic Variants (DGV), International Standard Cytogenomic Arrayconsortium Databases (ISCA), Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans using Ensemble Resources (DECIPHER) y Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM).

El estudio se llevó a cabo siguiendo las normas deontológicas reconocidas por la Declaración de Helsinki (59.ª Asamblea General, Seúl, Corea, octubre del 2008)¹⁰.

El proyecto fue revisado y aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón. Asimismo, se obtuvo el consentimiento informado de cada uno de los pacientes.

El análisis genético se realizó a partir de ADN extraído de linfocitos de sangre periférica, mediante el sistema de extracción automatizado EZ1 (Quiagen GmbH, Hilden, Alemania). Las muestras se remitieron para su análisis mediante hibridación genómica comparada sobre array a 2 laboratorios: Qgenomics y Genycell Biotech. La hibridación se llevó a cabo con un microarray de 60.000 sondas oligonucleotídicas, repartidas por todo el genoma, con mayor cobertura en regiones pericentroméricas, subteloméricas e implicadas en trastornos genómicos recurrentes.

Una vez recogidas las variables de estudio, se comprobaron la normalidad de la distribución con la prueba Shapiro-Wilk y la homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Levene. La asociación entre los factores estudiados y el resultado de la prueba array-CGH se investigó mediante pruebas de contraste de hipótesis, con comparación de proporciones cuando ambas variables eran cualitativas (chi al cuadrado para variables que cumplen no la cumplen) y comparaciones de medias cuando una de ellas sea cuantitativa, t de Student y ANOVA para una distribución normal, y el test de la U de Mann-Whitney para distribuciones no normales. Se comparó la distribución de las características de los individuos con un resultado normal del array-CGH con los que presentaban un resultado patológico. Se excluyó del análisis a los individuos con un resultado incierto y el caso n.º 15 que simultáneamente presentaba un síndrome X frágil y cuyas características podían actuar como factor de confusión.

Para el desarrollo del modelo de regresión logística, se procedió a un cribado de las variables explicativas, a partir del análisis de regresiones univariantes, seleccionando así los potenciales factores pronósticos que se debían incluir en el modelo multivariante (valores $p < 0,25$)^{11,12}. Con las variables resultantes o las que por motivos clínicos debían estar presentes en el modelo final se exploraron los diferentes modelos multivariantes con los métodos de inclusión y exclusión secuencial, fijando los valores p de significación para la inclusión o exclusión de variables en 0,1 y 0,2, respectivamente. En todos los casos se fijó el nivel de significación estadística para valores de $p < 0,05$. El análisis estadístico fue realizado mediante el programa informático IBM SPSS Statistics 21 (SPSS Inc., Chicago, EE. UU.).

Resultados

Ochenta individuos terminaron todas las fases del estudio (fig. 1). Se encontraron variantes en el número de copias (CNV) en un 40% de los casos y se consideraron patológicas un 27,5% (tabla 1). Con respecto al tipo de desequilibrio cromosómico, en un 62,5% de los casos se detectaron deleciones, en un 6,25% translocaciones no equilibradas y en un 31,25% duplicaciones. El tamaño de las deleciones osciló entre 0,06 y 16,5 Mb y el de las duplicaciones entre 0,08 y 2,2 Mb. En un 51,6% de los análisis las alteraciones cromosómicas se produjeron *de novo*. En los casos heredados de un progenitor, en 7 fue del padre (un individuo afectado, resto sanos) y en

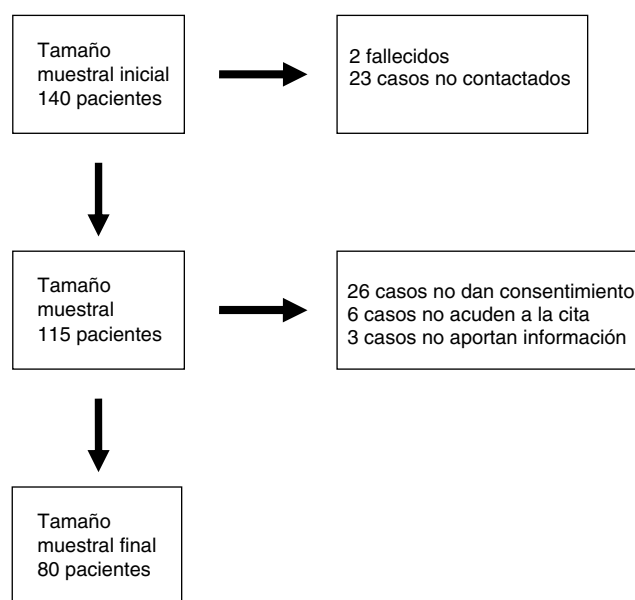


Figura 1 Tamaño muestral final.

8 de la madre (todas sanas, aunque 2 de ellas portadoras de una translocación equilibrada).

Con respecto a las principales características demográficas, perinatales, antropométricas y clínicas se encontró asociación entre los antecedentes familiares de DI y el resultado patológico del array ($p = 0,043$) (OR: 12,1; IC del 95%: 3,18-45,9). La media de la edad gestacional fue inferior en el grupo con array-CGH patológico ($p = 0,006$), aunque no se encontraron diferencias significativas con respecto a la prematuridad en ambos grupos (tabla 2).

Con respecto al estudio de los rasgos dismórficos craneofaciales se realizaron 2 comparaciones: presencia o ausencia de cualquier tipo de alteración en cada categoría (ojos, orejas, mandíbula, etc.) mediante test de Fisher y la comparación de los tipos de alteración encontradas en cada categoría mediante chi al cuadrado (tabla 3).

A todos los niveles se encontró una mayor proporción de rasgos dismórficos en los individuos que presentaron un test genético patológico con excepción del paladar. De forma específica, las partes en las que se encontraron alteraciones con una mayor prevalencia en el grupo con el test array-CGH alterado con nivel significativo ($p < 0,05$) fueron las siguientes: el pelo ($p = 0,019$) con una mayor proporción de pelo mal implantado (OR: 6; IC del 95%: 1,33-26,9), los labios ($p < 0,001$), con una mayor proporción de labio superior fino ($p < 0,001$) (OR: 20,6; IC del 95%: 3,99-109,37); la boca-filtrum ($p < 0,001$) (OR: 8,13; IC del 95%: 2,54-25,9), destacando la presencia de filtrum largo ($p < 0,001$) y la mandíbula ($p = 0,026$) (OR: 3,45; IC del 95%: 1,15-10,42), siendo la micrognatia la característica más frecuentemente encontrada rozando la significación estadística ($p = 0,065$) (tabla 3). El 68,4% de los individuos con un array-CGH patológico presentan más de 3 rasgos dismórficos frente al 31,2% de los individuos con un resultado normal con un nivel de significación inferior a 0,001 (OR: 20,9; IC del 95%: 4,31-101,4).

La presencia de malformaciones congénitas fue mayor en el grupo que presentó un resultado del test de array-CGH patológico a nivel general ($p = 0,005$) y en los distintos subgrupos, excepto a nivel digestivo. El tipo de

Tabla 1 Características genéticas de los casos con resultado del array-CGH patológico

Caso	Cromosoma	Nomenclatura ISCN	Del/dup	Tamaño (Mb)	N.º genes	Herencia	Síndrome
1	7 15	7p22.3p22.1 (178,208-5,337,472) × 1 15q26.3 (98,010,522- 100,201,137) × 3	Del + Dup (Trans)	5,1 2,2	4919	Madre (S)	Sobrecrecimiento 15q
2	7 15	7p22.3p22.1 (178,208-5,337,472) × 3 15q26.3 (98,010,522- 100,201,137) × 1	Dup + Del (Trans)	5,1 2,2	5218	Madre (S)	—
3	5	5q12.1q13.2 (60,681,523-72,278,911) × 1	Del	11,6	54	<i>De novo</i>	—
4	2 X	2q31.2q32.3 (179,356,437- 195,896,363) × 1 Xq24 (117,798,016- 118,563,716) × 3	Del Dup	16,5 0,77	558	<i>De novo</i>	—
5	17	17q12 (31.474.318-33.679.670) × 3	Dup	2,2	30	Padre (DI)	Duplicación 17q12
6	7	7q33q36.1 (136,934,609- 150,618,500) × 1	Del	13,7	110	<i>De novo</i>	-
7	15	15q21.1q21.2 (45,655,328-48,351,718) × 1	Del	2,7	24	<i>De novo</i>	Marfan-like
8	12	12q21.1q21.31 (72,406,097-81,585,992) × 1	Del	9,18	30	<i>De novo</i>	—
9	1	1q21.1 (144,475,612- 146,290,831) × 1	Del	1,8	22	<i>De novo</i>	Microdelección distal 1q21.1
10	3	3q26.31.q26.32 (173,671,248- 178,466,125) × 1	Del	4,79	8	<i>De novo</i>	—
11	15	15q11.2q13.1 (23,191,003-28,535,051) × 1	Del	5,34	17	<i>De novo</i>	Angelman
12	16	16p11.2 (29,581,485-30,098,040) × 1	Del	0,52	12	<i>De novo</i>	Microdelección 16p11.2
13	9	9q34.11 (130,412,070- 131,456,837) × 1	Del	1,04	20	<i>De novo</i>	—
14	14	14q23.1q23.2 (56,543,064-63,459,672) × 1	Del	6,92	44	<i>De novo</i>	—
15	1	1q21.1 (144,940,640- 146,290,972) × 1	Del	1,35	14	<i>De novo</i>	X-frágil/ microdelección 1q21.1
16	17	17p11.2 (16,947,482-20,160,197) × 1	Del	3,2	56	<i>De novo</i>	Smith-Magenis

Tabla 1 (continuación)

Caso	Cromosoma	Nomenclatura ISCN	Del/dup	Tamaño (Mb)	N.º genes	Herencia	Síndrome
17	15	15q13.2q13.3 (28,296,647-30,423,222) × 1	Del	2,13	12	<i>De novo</i>	Delección 15q13.3
18	8	8p22p21.1 (17,232,223-28,832,413) × 1 8p12 (30,382,687-30,501,049) × 3	Del Dup	11,6 0,12	541	<i>De novo</i> <i>De novo</i>	—
19	22	22q11.21 (19,063,227-19,835,558) × 3	Dup	0,77	27	Madre (S)	Duplicación 22q11.2
20	X	Xp22.2 (13,405,350-14,204,866) × 2	Dup	0,8	7	Madre (S)	—
21	12	12q21.2 (74,580,278-75,186,064) × 1	Del	0,6	2	<i>De novo</i>	—
22	15	15q11.2 (20,317,022-20,768,926) × 3	Dup	0,45	4	Madre (S)	—

Del: delección; DI: discapacidad intelectual; Dup: duplicación; ISCN: International System for Human Cytogenetics; (S): sana; Trans: translocación.

malformación congénita más frecuentemente encontrada en la muestra analizada fue a nivel del sistema nervioso central en ambos grupos (donde también se han incluido las alteraciones medulares), seguido de las cardíacas y urogenitales pero en este caso sin diferencias significativas entre las 2s cohortes (tabla 4).

En la tabla 5 se muestran los principales rasgos dismórficos, la presencia de malformaciones congénitas y los antecedentes familiares de DI de cada uno de los casos con resultado patológico.

En el estudio del tono muscular se detectó un predominio de la hipotonía sobre la hipertonía tanto a nivel axial como periférico, con una distribución similar en ambos grupos de análisis de la hipotonía axial, mientras que la proporción de pacientes con hipotonía periférica fue mayor en el grupo con resultado array-CGH patológico (tabla 6).

La realización del estudio de regresión logística multivariante permitió identificar los principales factores asociados a presentar un resultado alterado de forma independiente, que fueron la presencia de antecedentes familiares de DI, más de 3 rasgos dismórficos craneo-faciales y alteraciones a nivel de los labios.

Las pruebas genéticas que se habían realizado previamente en el grupo del array-CGH patológico no fueron concluyentes. Se llevó a cabo cariotipo en 15 individuos (4 de ellos de alta resolución) y estudio de delecciones subteloméricas en 5 casos. Se descartó síndrome X frágil en 14 varones y 2 mujeres. El caso número 15 merece especial atención, ya que se descartó síndrome X frágil en el año 2006 por la técnica Southern blot. Ante fenotipo compatible (exceptuando la microcefalia), se repitió el estudio en el año 2012, presentando más de 250 repeticiones del trinucleótido CGG mediante técnica PT-PCR.

Discusión

La técnica de array-CGH ha supuesto un gran avance en el estudio de la DI/RGD de forma que se propone como primera prueba a realizar en esta patología por gran parte de los autores^{13,14}.

A pesar de la limitación del tamaño muestral, es importante señalar que se ha realizado el estudio pormenorizado de las características de forma ciega (sin conocer el resultado del array-CGH), por un único investigador, lo que disminuye la variabilidad y aumenta la validez interna.

El rendimiento encontrado en nuestra muestra ha sido superior a la mayoría de las series de datos publicados que varían entre el 5 y el 25%^{13,14}. Este hallazgo puede ser debido a los criterios de selección que se siguieron inicialmente a la hora de realizar el test genético en los que se tendió a elegir a aquellos pacientes con antecedentes familiares de DI, rasgos dismórficos y/o malformaciones congénitas. En aquellas series en las que se usaron criterios semejantes se han obtenido índices de detección similares^{8,15}.

Un 60% de las alteraciones encontradas fueron delecciones. Este hecho puede tener una doble explicación, tanto técnica como biológica. Técnicamente, existe mayor probabilidad que las duplicaciones no sean detectadas. Biológicamente, se ha descrito que las duplicaciones causan fenotipos menos severos y por ello se han podido perder casos en la selección de la muestra. También se ha descrito que la frecuencia de que se produzcan duplicaciones al azar en el genoma humano es inferior a la de delecciones¹⁴.

La distribución de las CNV parece no ser al azar, existiendo puntos calientes donde se encuentran con mayor

Tabla 2 Comparación de las características demográficas, perinatales, antropométricas y clínicas

Variable	Array-CGH normal (n = 48)	Array-CGH patológico (n = 21)	P
Sexo (%)			
Femenino	68,2	31,8	0,538 ^b
Masculino	70,2	29,8	
Edad (media años ± DE)	8,63 ± 4,27	8,18 ± 3,80	0,595 ^c
HFDI (%)	8,3	19,0	0,043 ^{a, b}
Abortos o mortinatos (%)	25,2	23,7	0,301 ^b
Fecundación in vitro (%)	6,3	4,8	0,645 ^b
Embarazo gemelar (%)	6,3	0	0,548 ^b
Edad gestacional (media sem ± DE)	38,8 ± 2,36	37,5 ± 2,42	0,006 ^{a, d}
Prematuridad (%)	12,5	23,8	0,202 ^a
Test de Apgar 1 (media ± DE):	8,33 ± 1,51	8,01 ± 2,21	0,806 ^d
Test de Apgar 5 (media ± DE):	9,58 ± 0,71	9,33 ± 1,35	0,974 ^d
Antropometría DE RN (media ± DE)			
Peso	-0,49 ± 1,10	-0,32 ± 0,94	0,552 ^c
Longitud	-0,23 ± 1,17	-0,31 ± 1,43	0,823 ^c
Perímetro cefálico	-0,07 ± 0,94	-0,16 ± 0,74	0,705 ^c
Pequeño para edad gestacional (%)	10,6	10	0,654 ^b
Macrosoma (%)	6,3	4,8	0,645 ^b
Microcefalia RN (%)	2,1	5,3	0,496 ^b
Antropometría DE A (media ± DE)			
Peso	-0,69 ± 1,47	-0,80 ± 1,33	0,832 ^d
Talla	-1,15 ± 1,63	-1,09 ± 1,39	0,880 ^b
Perímetro cefálico	-0,98 ± 1,94	-1,54 ± 1,78	0,251 ^d
IMC (kg/m²)	16,9 (4,28)	17 (4,14)	0,823 ^d
Microcefalia (%)	31,3	33,3	0,538 ^b
Microcefalia grave (%)	16,7	28,6	0,208 ^b
Macrocefalia (%)	4,2	0	0,481 ^b
Rasgos autistas (%)	25	33	0,332 ^b
Epilepsia (%)	27,1	14,3	0,200 ^b

DE A: antropometría actual expresada en desviaciones estándar referidas a su sexo y edad; DE RN: antropometría en el recién nacido expresada en desviaciones estándar referidas a su sexo y edad gestacional; IMC: índice de masa corporal (kg/m²).

^a Valor estadísticamente significativo. Análisis estadístico.

^b Test de Fisher.

^c Test t de Student.

^d U de Mann Whitney; nivel de significación p < 0,05.

frecuencia. Estas zonas suelen ser ricas en genes y regiones con duplicaciones segmentarias¹⁶. En nuestra muestra, la mayoría de las CNV afectan a genes implicados en la señalización y la adhesión celular, o bien codifican para proteínas estructurales del sistema nervioso central¹⁷.

Con respecto a la herencia, los casos n.º 1 y 2 son secundarios a translocaciones equilibradas maternas. La detección de translocaciones equilibradas crípticas es extraordinariamente importante debido al alto riesgo de recurrencia. Su detección permite el correcto asesoramiento genético a toda la familia. En el caso 5, la delección es heredada de su padre, que presenta un grado inferior de DI que el probando, lo que nos hace sospechar de la expresividad variable de la alteración. El caso n.º 20 presenta una duplicación a nivel del cromosoma X, heredada de la madre sin fenotipo reportado. Esta disomía contiene genes descritos en OMM asociados a patología. El hecho de que

la madre no presente clínica puede ser debido al fenómeno de inactivación selectiva del cromosoma X. Por último, los casos n.º 19 y 22 son heredados de la madre sana y afectan a autosomas. El caso n.º 19 presenta una microduplicación en el cromosoma 22, que ha sido descrito en la literatura asociado a penetrancia incompleta y expresión muy variable que incluye desde portadores con inteligencia normal hasta portadores con DI severa y un alto número de pacientes que heredan la alteración de un progenitor no afectado¹⁸. El caso n.º 22 presenta una duplicación en una zona de microduplicaciones/delecciones frecuentes del cromosoma 15. En la literatura científica existen numerosos casos en los que la duplicación es heredada de un progenitor con fenotipo normal. Se postula que la clínica es más grave cuando se hereda por vía materna, existiendo una gran variabilidad intrafamiliar (desde inteligencia normal hasta alteraciones cognitivas graves acompañadas de epilepsia)¹⁹.

Tabla 3 Comparación de los rasgos dismórficos cráneo-faciales

Variable	Array-CGH normal (n = 48)	Array-CGH patológico (n = 21)	p
<i>Alteraciones morfología cabeza (%)</i>	16,7	23,8	0,793 ^b
Sin alteraciones	83,3	76,2	
Escafocefalia	2,1	4,8	
Occipucio plano	8,3	14,3	
Plagiocefalia	4,2	4,8	
<i>Alteraciones en el pelo (%)</i>	6,3	28,6	0,019 ^{a,b}
Sin alteraciones	93,8	71,4	
Ralo	6,3	9,5	
Denso	0	4,8	
Implantación baja	0	9,5	0,090 ^b
Rizado no familiar	0	4,8	
<i>Alteraciones en las orejas (%)</i>	37,5	57,1	0,187 ^b
Sin alteraciones	62,5	42,9	
Grandes	6,3	0	
Implantación baja	20,8	38,1	0,115 ^b
Despegadas	10,4	14,3	
Microtia	0	4,8	
<i>Fositas/apéndices preauriculares (%)</i>	4,2	4,8	0,670 ^b
Apéndice	2,1	4,8	
Fosita	2,1	0	
<i>Alteraciones en la frente (%)</i>	27,1	47,6	0,114 ^b
Sin alteraciones	72,9	52,4	
Prominente	0	4,8	
Amplia	27,1	42,9	
<i>Alteraciones oculares (%)</i>	64,6	66,7	0,547 ^b
Sin alteraciones	35,4	33,3	
Hipertelorismo	12,5	38,1	
Epicantus	12,5	19	
Telecantus	2,1	0	
Exoftalmus	2,1	4,8	
Estrabismo	33,3	4,8	
Otros	2,1	0	
<i>Pestañas largas y pobladas (%)</i>	20,8	28,6	0,341 ^b
<i>Alteraciones en la nariz (%)</i>	4,2	19	0,065 ^b
Sin alteraciones	95,8	81	
Puente nasal ancho	4,2	14,3	
Narinas antevertidas	0	4,8	
<i>Alteraciones en los labios (%)</i>	4,2	47,6	< 0,001 ^{a,b}
Sin alteraciones	95,8	52,4	
Labio leporino	0	4,8	
Labio superior fino	4,2	42,9	< 0,001 ^{a,b}
<i>Alteraciones boca-filtrum (%)</i>	16,7	61,9	< 0,001 ^{a,b}
Sin alteraciones	83,3	38,1	
Largo	12,5	57,1	
Corto	4,2	4,8	< 0,001 ^{a,b}
<i>Alteraciones de la mandíbula (%)</i>	20,8	47,6	0,026 ^{a,b}
Sin alteraciones	79,2	52,4	
Micrognatia	4,2	19	0,065 ^b
Retrognatia	6,3	14,3	
Retromicrognatia	6,3	4,8	
Prognatismo	4,2	9,5	
<i>Alteraciones del paladar (%)</i>	18,8	4,2	0,123 ^b
Sin alteraciones	81,3	95,2	
Ojival	16,7	0	
Fisura palatina	2,1	4,8	

^a Valor estadísticamente significativo. Análisis estadístico.^b Test de Fisher; nivel de significación p < 0,05.

Tabla 4 Presencia de malformaciones congénitas

Variante	Array-CGH normal (n = 48)	Array-CGH patológico (n = 21)	p
<i>Malformaciones congénitas (%)</i>	14,6	47,6	0,005 ^a
<i>Tipo de malformación (%)</i>			
Ninguna	85,1	52,4	
Sistema nervioso central	8	28,6	< 0,001 ^a
Urogenitales	6,3	9,5	
Sistema musculoesquelético	2,1	4,8	0,335 ^a
Cardíacas	4,2	9,5	
Digestivas	2,1	0	

Análisis estadístico.

^a Test de Fisher; nivel de significación p < 0,05.

En las CNV clasificadas como de significado incierto, las alteraciones han sido heredadas de un progenitor sano en el 90% de los casos. Este hecho aislado debe interpretarse de forma cautelosa, ya que aunque a día de hoy no se haya podido demostrar, estos desequilibrios cromosómicos pueden contribuir al fenotipo del paciente como consecuencia de la expresividad variable de los mismos, efectos epigenéticos o bien debido a una mutación recesiva en el alelo no deleciónado¹⁴.

Con respecto a la antropometría, en estudios previos se ha detectado una asociación entre la microcefalia y el resultado patológico del array-CGH²⁰. Al calcular la proporción de individuos con microcefalia grave (perímetro cefálico inferior a -3 desviaciones estándar), la proporción es muy superior en el grupo con resultado del array-CGH patológico aunque sin alcanzar significación estadística (tabla 1). Estos hallazgos nos hacen presuponer que si nuestra muestra tuviese un número mayor de pacientes es probable que se reprodujesen los resultados del estudio citado con respecto a la microcefalia. Otros autores han encontrado con mayor frecuencia trastornos del crecimiento en los individuos que presentaban un resultado del array-CGH patológico: Shoukier et al.²⁰ refieren fallo de medro, Roselló et al.⁸ talla alta, mientras que Vulto-van Silfhout et al.¹⁵, como en el presente trabajo, no encuentran asociación entre la evolución de la altura/peso y el resultado del test genético. Esta variabilidad encontrada en la literatura científica con respecto al crecimiento puede ser debida a los criterios de selección de los casos, así como al resultado de la prueba de array, ya que hay síndromes que se acompañan de fallo de medro y otros de sobrecrecimiento. Son necesarios estudios con un mayor número de individuos para determinar la implicación de los desórdenes de crecimiento en las alteraciones estructurales cromosómicas.

Numerosos autores han publicado la asociación entre la presencia de alteraciones cromosómicas y las malformaciones congénitas^{8,15,20}. En la mayoría de las series las más prevalentes fueron las malformaciones cardíacas y en el presente estudio fueron a nivel del sistema nervioso central, principalmente las alteraciones del cuerpo calloso. Este hallazgo coincide con lo publicado por Preiksaitiene et al.²¹. Al revisar la metodología de los diferentes estudios, se pone de manifiesto que los criterios de selección influyen en el tipo de malformación más frecuente. No obstante, en nuestro estudio la distribución de las malformaciones fue absolutamente aleatoria.

La presencia de rasgos dismórficos constituye una variable muy importante en nuestra muestra debido a la alta prevalencia de los mismos en los individuos afectados de DI/RGD. Como prueba de ello, tras la exploración pormenorizada de los mismos, solamente en un 25% de los individuos con array-CGH normal y en un 13,6% de los casos que presentan CNV patológicas no se detectó ninguna alteración morfológica menor. En nuestro estudio, el pelo mal implantado, el filtrum largo, el labio superior fino y la micrognatia fueron las características en las que se encontraron diferencias significativas. Aunque el tipo de rasgo dismórfico más frecuente varía mucho entre unas series y otras, la presencia de varios rasgos en conjunto, constituye un buen indicador de la posible existencia de un desequilibrio cromosómico¹⁵.

Se han publicado varios trabajos en los que se compara el rendimiento de las diferentes técnicas diagnósticas genéticas aplicadas al estudio de la DI. Miller et al.¹³ realizaron una revisión de 33 estudios que abarcaban 21.698 pacientes y concluyeron que mientras el cariotipo de alta resolución tenía un rendimiento del 3% (excluyendo el síndrome de Down) y la aplicación de FISH a los telómeros un 2,4%, la técnica array-CGH alcanzaba un 12% de diagnósticos en pacientes no seleccionados. En un estudio más reciente realizado en Europa sobre 36.325 pacientes en los que se realizó cariotipo y array-CGH se detectaron CNV patológicas en un 19% de los individuos no seleccionados y solamente un 0,78% de las alteraciones genéticas no hubiesen sido detectadas sin la realización del cariotipo²². Ambos trabajos concluyen que el estudio mediante array debe ser la primera prueba en el abordaje diagnóstico de los pacientes afectados de DI de causa no explicada.

Dada la reciente incorporación del array-CGH a la práctica clínica, todavía hay muchas limitaciones a la hora de llevar a cabo una correcta interpretación de los resultados, así como la consiguiente información que se les da a las familias. En estudios previos reportados se detectó una gran variabilidad en la misma, así como en el manejo posterior de los pacientes entre diferentes profesionales²³. Ambos factores pueden mejorarse si clínicos y genetistas trabajan en estrecha colaboración y se diseñan protocolos que disminuyan la variabilidad clínica y aumenten la calidad de la asistencia. Por otra parte, si a medida que la técnica se extiende en la práctica diaria, los resultados obtenidos se comparten y pueden ser consultados a través de bases de datos públicas en conjunción con las características fenotípicas.

Tabla 5 Principales características de los individuos con resultado de array-CGH patológico

Caso	Alteración genética	HFDI	Fenotipo	Malformación
1	Del: 7p22.3p22.1 Dup: 15q26.3 (Trans)	+	Bajo peso, micro y dolicocefalia. Frente prominente, hipertelorismo, filtrum largo, retrognatia. Hexadactilia en ambos pies	Cardiaca
2	Dup: 7p22.3p22.1 Del: 15q26.3 (Trans)	+	Occipucio plano, pelo ralo, orejas de implantación baja, labios finos, filtrum largo, micrognatia. Hiperlaxitud articular	Pie zambo
3	Del: 5q12.1q13.2	—	Microcefalia, frente amplia, sinefridia, implantación baja pelo, pestañas largas, retrognatia, filtrum largo. Macrogllosia. Tórax <i>excavatum</i>	—
4	Del: 2q31.2q32.3 Dup: Xq24	—	Macrocefalia. Frente amplia, hipertelorismo, epicantus, orejas de implantación baja, retrognatia, filtrum largo, labio superior fino	Cardiaca/SNC
5	Dup: 17q12	+	Hipertelorismo, pestañas largas, labio superior fino, filtrum largo	—
6	Del: 7q33q36.1	—	Epicantus interno y puente nasal ancho	Fisura palatina
7	Del: 15q21.1q21.2 Marfan like	—	Hábito longilíneo. Epicantus interno, pabellones auriculares despegados, labio superior fino. Escoliosis. Hiperlaxitud articular	Urogenital
8	Del: 2q21.1q21.31	—	Micro y dolicocefalia. Orejas de implantación baja, frente amplia, hipertelorismo, pestañas largas, labio fino, filtrum largo	Urogenital
9	Del: 1q21.1	—	—	—
10	Del: 3q26.31	—	Pabellones auriculares despegados, epicantus, puente nasal ancho, filtrum largo	—
11	Del: 15q11.2q13.1 S. Angelman	—	Fallo medro, microcefalia. Pelo rubio ralo. Piel y ojos muy claros. Frente amplia, micrognatia	—
12	Del: 16p11.2	+	Talla alta. Frente amplia, hipertelorismo, pestañas largas	Microtia
13	Del: 9q34.11	—	Orejas de implantación baja, hipertelorismo, filtrum largo, micrognatia, clinodactilia en ambas manos. Hipertriosis	SNC
14	Del: 14q23.1q23.2	—	Micro y plagiocefalia, orejas de implantación baja, frente amplia, epicantus, labios finos, filtrum corto	SNC
15	Del: 1q21.1 S. X frágil	—	Microcefalia, frente amplia, pabellones auriculares despegados, hipertelorismo, filtrum largo, retromicrognatia	—
16	Del: 17p11.2 S. Smith-Magenis	—	Conductas agresivas, trastorno del sueño. Orejas de implantación baja, hipertelorismo, prognatismo. Braquidactilia. Malposición dental	SNC
17	Del: 15q13.2q13.3	—	—	—
18	Del: 8p22p21.1 Dup: 8p12	—	Occipucio plano, orejas de implantación baja, hipertelorismo, narinas antevertidas, filtrum largo. Tórax en escudo	SNC
19	Dup: 22q11.21	—	—	—
20	Dup: Xp22.2	—	Fallo medro, microcefalia, Frente amplia, labio superior fino con filtrum largo. Tetraparesia espástico distónica	SNC
21	Del: 12q21.2	—	Frente amplia, hipoplasia malar, paladar ojival	—
22	Dup: 15q11.2	—	—	SNC

Del: deleción; Dup: duplicación; HFDI: historia familiar de discapacidad intelectual; Trans: translocación; SNC: sistema nervioso central.

picas de cada caso, será más sencillo definir la patogenidad de cada una de las alteraciones encontradas.

Con respecto al coste efectividad de la técnica, recientemente se ha publicado un estudio que concluye que la realización de un cariotipo molecular es más económico que la realización de un cariotipo convencional y las subsiguientes

pruebas (FISH aplicado a telómeros, etc.) y además se obtienen entre un 15 y un 20% más de resultados diagnósticos que por la vía tradicional²⁴.

Actualmente, el test genético array-CGH constituye una prueba de primer orden en el estudio de la DI/RGD, ya que tiene un rendimiento superior a las pruebas genéticas

Tabla 6 Alteraciones del tono muscular axial y periférico

Variable	Array-CGH normal (n = 48)	Array-CGH patológico (n = 21)	p
<i>Alteración tono muscular (%)</i>	33,3	57,1	0,057 ^a
<i>Tono muscular axial (%)</i>			0,373 ^a
Normal	79,2	71,4	
Hipotonía	18,8	19	
Hipertonía	2,1	9,5	
<i>Tono muscular periférico (%)</i>			0,098 ^a
Normal	66,7	42,9	0,038 ^a
Hipotonía	18,8	42,9	
Hipertonía	14,6	14,3	

Análisis estadístico.

^a Test de Fisher; nivel de significación p < 0,05.

convencionales (cariotipo, FISH/MLPA aplicado a telómeros, etc.). Aunque existen factores que se asocian a detectar con mayor probabilidad reordenamientos cromosómicos, estos no tienen una fuerza de discriminación suficiente para pre-seleccionar los candidatos ideales para realización de esta prueba. En nuestro servicio hemos modificado nuestro protocolo de estudio de la DI/RGD y la técnica array-CGH se ofrece a toda la población de individuos con DI/RGD de etiología no conocida.

Financiación

No se ha recibido financiación.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

Bibliografía

- American Psychiatric Association. Intellectual Disability (Intellectual Development Disorder). En: American Psychiatric Association, editores. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 5th ed. Arlington: American Psychiatric Association; 2013. p. 33.
- American Association of Intellectual and Developmental Disabilities. Definition of intellectual disability. 2010 [consultado 15 Abr 2014]. Disponible en: <http://aaid.org/intellectual-disability/definition>.
- Shevell M, Ashwall S, Donley D, Flint J, Gingold M, Hirtz D, et al. Practice parameter: Evaluation of the child with global developmental delay, Report of Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and the Practice Committee of the Child Neurology Society. *Neurology*. 2003;60:367–80.
- Roeleveld N, Zielhuis G, Gabreëls F. Prevalence of mental retardation: A critical review of recent literature. *Dev Med Child Neurol*. 1997;39:125–33.
- López-Pisón J, García-Jiménez MC, Monge-Galindo L, Lafuente-Hidalgo M, Pérez-Delgado R, García-Oguiza A, et al. Our experience with the aetiological diagnosis of global developmental delay and intellectual disability: 2006-2010. *Neurologia*. 2014;29:402–7.
- Verdú Pérez A, García Murillo PL, García Campos O, López Grondona F, Arriola Pereda G, Alcaraz Rousselet MA, et al. Subtelomeric rearrangements in cryptogenic mental retardation. *An Pediatr (Barc)*. 2011;75:365–71.
- Artigas-Pallarés J, Guitart M, Gabau-Vila E. The genetic bases of neurodevelopmental disorders. *Rev Neurol*. 2013;56(Suppl 1): S23–34.
- Roselló M, Martínez F, Monfort S, Mayo S, Oltra S, Orellana C. Phenotype profiling of patients with intellectual disability and copy number variations. *Eur J Paediatr Neurol*. 2014;18:558–66.
- Shevell MI, Bejjani BA, Srour M, Rorem EA, Hall N, Shaffer LG. Array comparative genomic hybridization in global developmental delay. *Am J Med Genet B*. 2008;147B:1101–8.
- World Medical Association. Declaration of Helsinki, ethical principles for medical research involving human subjects, as adopted by the 52nd WMA General Assembly, Edinburgh, Scotland, October 2000. En: World Medical Association [consultado 15 Mar 2012]. Disponible en: <http://www.wma.net/es/30publications/10policies/b3/index.htm>.
- Doménech Massons JM, Navarro P. Construcción de un modelo de regresión logística. Regresión logística binaria, multinomial, de Poisson y binomial negativa. Barcelona: Signo; 2006. p. 109–31.
- Hosmer DW, Lemeshow S. Applied logistic regression. 2.^a ed. New York: Wiley; 2000.
- Miller DT, Adam MP, Aradhya S, Biesecker LG, Brothman AR, Carter NP, et al. Consensus statement: Chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet*. 2010;86:749–64.
- Battaglia A, Doccini V, Bernardini L, Novelli A, Loddo S, Capalbo A, et al. 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*. 2013;17:589–99.
- Vulto-van Silfhout AT, Hehir-Kwa JY, van Bon BW, Schuurs-Hoeijmakers JH, Meader S, Hellebrekers CJ, et al. Clinical significance of de novo and inherited copy-number variation. *Hum Mutat*. 2013;34:1679–87.
- Redon R, Ishikawa S, Fitch KR, Feuk L, Perry GH, Andrews TD, et al. Global variation in copy number in the human genome. *Nature*. 2006;444:444–54.
- Cooper GM, Nickerson DA, Eichler EE. Mutational and selective effects on copy-number variants in the human genome. *Nat Genet*. 2007;39(7 Suppl):S22–9.
- Ensenauer RE, Adeyinka A, Flynn HC, Michels VV, Lindor NM, Dawson DB, et al. Microduplication 22q11.2, an emerging syndrome: Clinical, cytogenetic, and molecular analysis of thirteen patients. *Am J Hum Genet*. 2003;73:1027–40.

19. Marini C, Cecconi A, Contini E, Pantaleo M, Metitieri T, Guarducci S, et al. Clinical and genetic study of a family with a paternally inherited 15q11-q13 duplication. *Am J Med Genet A*. 2013;161A:1459–64.
20. Shoukier M, Klein N, Auber B, Wickert J, Schroder J, Zoll B, et al. Array CGH in patients with developmental delay or intellectual disability: Are there phenotypic clues to pathogenic copy number variants? *Clin Genet*. 2013;83:53–65.
21. Preiksaitiene E, Molytė A, Kasnauskiene J, Ciuladaite Z, Utkus A, Patsalis PC, et al. Considerin specific clinical features as evidence of pathogenic copy number variants. *J Appl Genet*. 2014;55:189–96.
22. Hochstenbach R, van Binsbergen E, Engelen J, Nieuwint A, Polstra A, Poddighe P, et al. Array analysis and karyotyping: Workflow consequences based on a retrospective study of 36,325 patients with idiopathic developmental delay in the Netherlands. *Eur J Med Genet*. 2009;52:161–9.
23. Coulter ME, Miller DT, Harris DJ, Hawley P, Picker J, Roberts AE, et al. Chromosomal microarray testing influences medical management. *Genet Med*. 2011;13:770–6.
24. Trakadis Y, Shevell M. Microarray as a first genetic test in global developmental delay: A cost-effectiveness analysis. *Dev Med Child Neurol*. 2011;53:994–9.