

Causas cromosómicas que originan el retraso mental: alteraciones cromosómicas diagnosticables en el paciente

M. Guitart-Feliubadaló^a, A. Brunet-Vega^a, S. Villatoro-Gómez^a, N. Baena-Díez^b, E. Gabau-Vila^b

CHROMOSOMAL CAUSES THAT PRODUCE MENTAL RETARDATION: CHROMOSOME DISORDERS THAT CAN BE DIAGNOSED IN THE PATIENT

Summary. Introduction. In all the aetiological studies carried out on idiopathic mental retardation (MR), chromosomal abnormalities are the factor that makes the most significant contribution. The alterations are more frequent when severe MR is accompanied by a dysmorphic phenotype, but can also be found in subjects with mild MR and with few signs of dysmorphism. Development. This work reports on new genes and critical regions in syndromes with microdeletion, such as Wolf-Hirschhorn, Smith-Magenis and Sotos –which must be taken into account in the genetic diagnosis– and new microduplications like 15q11-q13, which is associated to a behavioural phenotype of autism. The application of new molecular techniques, such as fluorescent *in situ* hybridisation (FISH) with multiple telomere probes, MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification) and array-CGH (microarray based on compared genomic hybridisation), have shown the important role played by subtelomeric and interstitial rearrangements in the aetiology of MR. Subtelomeric alterations contribute to between 5 and 7% of cases of idiopathic MR, the higher proportion corresponding to deletions, one of the most common of which is deletion 1p36. Studies that evaluate the global genome in idiopathic MR detect from 7% to 20% of cases with anomalies, the interstitial type being more frequent than the subtelomeric kind. Conclusions. The application of new technologies to idiopathic MR opens up a promising new field for the diagnosis of new syndromes with submicroscopic alterations, so that a prognosis can be determined, treatment can be improved and the risk of relapse can be defined. [REV NEUROL 2006; 42 (Supl 1): S21-6]

Key words. Chromosome alterations. Idiopathic mental retardation. Interstitial alterations. Microdeletion/microduplication syndromes. Subtelomeric alterations.

INTRODUCCIÓN

El retraso mental (RM) aislado o asociado a malformaciones adicionales afecta a un 2-3% de la población general. A pesar del gran número de estudios que existen, muchas de las causas que originan el RM aún se desconocen, y tan sólo se identifica el diagnóstico etiológico en un 50% de los pacientes afectados. En el RM grave –coeficiente intelectual (CI) < 50– se alcanza un diagnóstico etiológico en una proporción de pacientes (64%) superior (64%) que en el RM leve (CI: 50-70). Las causas genéticas y exógenas del RM se presentan con una frecuencia muy similar y con un rango muy variable, desde el 17,4 hasta el 47,1% [1].

Entre las causas genéticas más frecuentes se encuentran las anomalías cromosómicas, las cuales se observan en una mayor proporción en los sujetos afectados de RM grave y con un fenotipo polimalformativo. No obstante, algunas anomalías cromosómicas también pueden identificarse en pacientes con RM y con un fenotipo dismórfico mínimo.

Actualmente está bien establecido que el cariotipo se debe realizar de forma sistemática en todo paciente con RM sin otras causas obvias, y es aconsejable que tenga un nivel de bandas G (como mínimo) de 550. Los análisis rutinarios deben identificar –además de las alteraciones numéricas (aneuploidías)– el mayor

número de alteraciones estructurales con una resolución suficiente para detectar alteraciones de un tamaño mínimo de 5 Mb.

En la última década la aplicación de las técnicas moleculares al estudio de los cromosomas ha permitido un avance espectacular en el campo de la citogenética clínica. Al superarse las limitaciones del cariotipo convencional se ha conseguido llegar al diagnóstico de reorganizaciones crípticas, que están por debajo de la resolución del microscopio óptico. Técnicas como la hibridación *in situ* fluorescente (FISH), la hibridación genómica comparada de alta resolución (HR-CGH), el *microarray* basado en la hibridación genómica comparada (*array-CGH*), y otras más recientes como la MAPH (*multiplex amplification and probe hybridization*) y la MLPA (*multiplex ligation-dependent probe amplification*) permiten evaluar pequeñas pérdidas y ganancias de material genético con una elevada resolución. Actualmente hay estudios que ponen de manifiesto la gran relevancia que tienen las reorganizaciones cromosómicas subteloméricas e intersticiales submicroscópicas en la etiología del RM.

En los últimos años se han identificado, en distintas regiones del genoma, secuencias de ADN repetitivas (LCR, *region-specific low-copy repeats*) que predisponen a recombinaciones homólogas desiguales y son las responsables de reorganizaciones que originan microdeleciones, microduplicaciones e inversiones, así como cromosomas marcadores extras: inv dup(15) o inv dup(22) [2-4]. Recientemente un número creciente de síndromes están siendo asociados a microrreorganizaciones recurrentes del ADN localizadas en estas regiones de LCR del genoma, como, por ejemplo, los síndromes de Williams (del 7q11.2), de Prader-Willi y de Angelman (del 15q11-q13), de Smith-Magenis (17q11.2.) y el síndrome velocardiocéfalo (del 22q11.2). Otras secuencias distribuidas a lo largo del genoma que favorecen la formación de reorganizaciones cromosómicas son las familias de genes receptores olfatorios (RO), y son un ejemplo de

Aceptado: 22.11.05.

^a Laboratorio de Genética. UDIAT-Centre Diagnòstic. ^b Unidad de Genética. Hospital de Sabadell. Corporació Sanitària Parc Taulí. Fundació Parc Taulí. Institut Universitari-Universitat Autònoma de Barcelona. Sabadell, Barcelona, España.

Correspondencia: Dra. Miriam Guitart. Laboratori de Genética. UDIAT-Centre Diagnòstic. Corporació Sanitària Parc Taulí. Parc Taulí, s/n. E-08208 Sabadell (Barcelona). E-mail: mguitart@cspt.es

Trabajo realizado gracias a la financiación del ISCIII, de la Red G03/098 (GIRMOGEN) y de la Fundació Parc Taulí CIR02/053.

© 2006, REVISTA DE NEUROLOGÍA

anomalía recurrente las reorganizaciones que ocurren en el brazo corto del cromosoma 8 [5].

El objetivo de este trabajo es ofrecer una revisión sobre los actuales conocimientos de las reorganizaciones cromosómicas que originan el RM. Se describen algunas de las nuevas técnicas moleculares para la identificación de reorganizaciones crípticas, así como el fenotipo asociado a los distintos tipos de anomalías cromosómicas y su contribución en la etiología del RM.

ALTERACIONES EN EL CARIOTIPO

En todos los estudios etiológicos sobre el RM, las anomalías cromosómicas numéricas y estructurales son uno de los factores que contribuye más significativamente. Estas alteraciones cromosómicas, además de originar el RM, se asocian mayoritariamente a problemas en el crecimiento, a una gran gama de anomalías menores, como son los rasgos dismórficos faciales, y a otras malformaciones estructurales de diferentes sistemas: cardíaco, urogenital y extremidades; al conjunto de estas características se le denomina fenotipo cromosómico.

En el RM se han encontrado alteraciones en prácticamente todos los cromosomas. Cuando el genoma se analiza mediante la citogenética estándar con una resolución de 400-500 bandas cromosómicas, se encuentran anomalías en un 40% de los pacientes con RM grave y en un 10% de los casos con RM leve. Estas anomalías pueden ser, entre otras, ganancias de cromosomas enteros (trisomía), pérdidas o ganancias de cromosomas parciales o de sólo una banda cromosómica (delección o duplicación), así como intercambios de fragmentos de un cromosoma con otro (traslocaciones) de forma desequilibrada.

Las frecuencias de alteraciones cromosómicas detectadas al microscopio que se han descrito son extremadamente variables; según la revisión de Xu et al [6] la media fue del 16,2% (rango: 4-34,1%), Shevell et al [7] describen un 3,7% (rango: 2,9-11,6%) y en la revisión más reciente de van Karnebeek et al [8] la media fue del 9,5% (rango: 0-48,5%). Esta considerable variación se debe principalmente a las alteraciones numéricas. Las aneuploidías autosómicas producen un RM grave y una mayor o menor detección depende básicamente de los criterios de inclusión y de la fuente de los pacientes; un estudio en una población escolar detectó un 5,4% de alteraciones cromosómicas, y en una población institucionalizada, un 13,3% [8]. En cuanto a las alteraciones estructurales también hay variación en la frecuencia, y en gran medida se explicaría por la resolución de las bandas G, ya que muchas de las anomalías dejan de identificarse cuando se trabaja a una resolución de 450 bandas. También influye el grado de RM, pues éstas son más frecuentes en el RM grave que en el leve.

En la mayoría de los trabajos, la trisomía 21 es la principal causa del RM, seguida del síndrome X frágil. Sin embargo, las alteraciones de los gonosomas en algunos estudios no se incluyen, pero en muchos otros es frecuente hallar el síndrome de Klinefelter, que si bien no se ha asociado típicamente al RM, se diagnostica cuando el paciente acude al neurólogo por presentar déficit en el área del lenguaje y en algunas habilidades cognitivas. Aunque son menos frecuentes los casos de polisomía X e Y, con más de cuatro cromosomas sexuales, son entidades que deben tenerse en cuenta porque a veces pueden presentar un RM límite o leve. En las series de RM, las anomalías numéricas afectan mucho menos a los cromosomas sexuales que a los autosomas, con una frecuencia del 0,4% frente al 6,5% [8].

En las series actuales de pacientes pediátricos procedentes de centros hospitalarios se comunican cada vez menos aneuploidías autosómicas como consecuencia del impacto del diagnóstico prenatal. Para la trisomía 21, en el 72% de los casos se interrumpe la gestación, por lo que disminuye casi a un tercio la prevalencia del síndrome de Down en el recién nacido [9]. Así pues, en el RM idiopático predominan las aneuploidías de los gonosomas, las alteraciones estructurales con pequeñas deleciones terminales e intersticiales, duplicaciones terminales e intersticiales, los cromosomas marcadores extras, las traslocaciones desequilibradas y las traslocaciones recíprocas aparentemente equilibradas, donde algunas de las que son *de novo* podrían tener una relación causal [10-12].

El efecto fenotípico de una anomalía cromosómica estructural relativamente pequeña depende más del *locus* y de la función de los genes implicados que del propio tamaño de la región cromosómica alterada. Por tanto, el número de anomalías menores, malformaciones y estructuras anómalas no difiere entre los grupos que presentan la alteración con mayor o menor tamaño [11].

ALTERACIONES SUBMICROSCÓPICAS

La aplicación de las técnicas moleculares al estudio de pacientes con RM ha supuesto un mayor conocimiento de las causas que lo pueden originar. En el grupo de síndromes microdelecionales ha incrementado el número de anomalías, incluidas deleciones y duplicaciones, en sujetos con un fenotipo característico. Recientemente se ha comprobado que las reorganizaciones subtelo méricas desempeñan un papel muy importante en el RM idiopático, ya que son responsables de aproximadamente el 5% (rango: 0-23%) de los casos [13]. Dado que la fracción telomérica del genoma representa menos del 1%, en la actualidad se están llevando a cabo otros estudios que permiten analizar pequeños desequilibrios cromosómicos intersticiales, pero aún se desconoce el impacto real de éstas en el RM.

Síndromes con microdelección/microduplicación

Muchos de los síndromes tipificados clínicamente están causados por deleciones y más raramente por duplicaciones submicroscópicas, que en general involucran a una misma región de tamaño bastante uniforme (Tabla). Algunos síndromes se deben a una disminución de la expresión de genes contiguos como los síndromes de Williams y velocardiocéfalo (el 67% de los casos presenta RM), pero otros son producto de una haploinsuficiencia de un único gen responsable de las similitudes fenotípicas entre los individuos con un síndrome específico (p. ej., síndromes de Millar-Dieker y de Angelman).

Los pacientes con deleciones tienden a presentar un retraso del desarrollo que varía desde leve hasta grave y un fenotipo conductual característico además de múltiples anomalías físicas. Las duplicaciones se conocen menos, pero quizás el espectro clínico es más variable y más benigno en general, como la duplicación 22q11.2, que puede asociarse a problemas conductuales y/o déficit cognitivo [14], y la duplicación 15q11-q13, que cuando es de origen materno se encuentra en pacientes con RM y con un fenotipo conductual que a menudo incluye un espectro autista y un déficit de atención e hiperactividad, y a veces algunos rasgos dismórficos [15,16]. Este mismo fenotipo también se observa en pacientes con un cromosoma marcador extra procedente del cromosoma 15, portador de una duplicación invertida de la región 15q11-q13 [17]. El gen *GABRB3* es una sub-

Tabla. Síndromes con microdelección y microduplicación asociados a retraso mental.

	Anomalia	Gen crítico	Detección por FISH	Prevalencia
Wolf Hirschhorn	del 4p16.3	WHSCR ^a	> 95%	1/50.000
Mauilido de gato	del 5p15.2	<i>TERT</i>	–	1/20.000-50.000
Sotos	del 5q35.3	<i>NSD1</i>	10%	1/14.000
Williams	del 7q11.23	<i>ELN</i>	90-95%	1/7500-20.000
Delección 8p23	del 8p23	–	–	–
Langer-Giedion	del 8q24	<i>TRPS1 / EXT1</i>	–	–
WAGR	del 11p13	<i>PAX6 / WT1</i>	–	–
Prader-Willi	del 15q11.2-13	–	70-75%	1/10.000-25.000
Angelman	del 15q11.2-13	<i>UBE3A</i>	70-75%	1/12.000-20.000
Rubinstein-Taybi	del 16p13.3	<i>CREBBP</i>	10%	1/100.000-125.000
Miller-Dieker	del 17p13.3	<i>LIS1</i>	–	–
Smith-Magenis	del 17p11.2	<i>RAI1</i>	> 90%	1/15.000-25.000
DiGeorge/velocardiofacial	del 22q11.2	<i>TBX1</i>	90%	1/6.000
Microduplicación 22q11	dup 22q11.2	–	–	–
Delección 22q13.3	del 22q13.3	<i>PASP2</i>	–	–

^a Región. FISH: hibridación *in situ* fluorescente.

unidad del receptor del ácido γ -aminobutírico (GABA), que interviene en la transmisión gabérgica y tiene un papel central en el mantenimiento del tono inhibitorio en el cerebro del adulto. Este gen se expresa en ambos alelos debido a que no está sometido a impronta genómica, y se le relaciona con el autismo [18].

Para algunos síndromes microdelecionales se han descrito nuevos hallazgos:

Síndrome de Wolf-Hirschhorn

Caracterizado por presentar RM, epilepsia, retraso de crecimiento y un aspecto facial de casco de guerrero griego, se ha encontrado recientemente una nueva región WHSCR-2 dentro de la banda 4p16.3. La haploinsuficiencia de un único gen responsable, el *WHSC1* descrito hasta el momento, no es suficiente para explicar todos los casos de Wolf-Hirschhorn. La presencia de otros genes ligados influyen en la gravedad de las características principales, en concreto el gen *LETMI* se asocia directamente a otros problemas adicionales como la epilepsia. Aunque en muchos casos la confirmación del diagnóstico se realiza con bandas G de alta resolución, en otros se debe recurrir a la FISH. La sonda que se utilice debe cubrir toda la región WHSCR (Cytocell[®]), a fin de evitar falsos negativos para aquellos casos en que la delección sea intersticial [19,20].

Síndrome de Sotos

Caracterizado por hipercrecimiento, dificultades de aprendizaje y unos rasgos faciales típicos, se detecta la delección 5p35.3. Esta delección incluye el gen *NSD1* responsable de sólo el 10% de los casos en la población no japonesa y del 50% de los casos en la población japonesa. La mayor proporción observada en la población japonesa probablemente se deba a una distinta arquitectura genómica que favorece la formación de la delección [21].

Síndrome de Smith-Magenis

Con anomalías congénitas múltiples, RM y problemas de sueño y de conducta, a menudo se asocia a una delección intersticial 17p11.2. Aproximadamente el 75% de los pacientes presentan una delección común de 3,5 Mb, producida por la recombinación desigual de homólogos entre las secuencias repetitivas distal y proximal. El 25% de las delecciones restantes presentan un tamaño que puede ser mayor o menor según el lugar de recombinación. Actualmente se está cuestionando si se trata de un síndrome de genes contiguos o de un gen único, ya que mutaciones en el gen *RAI1* localizado en la región crítica 17p11.2, son responsables de la mayoría de las características del síndrome [22]. La región mínima crítica del síndrome comprende una delección de unos 700 kb en 17p11.2; sin embargo, algunas características (como la talla baja y anomalías cardíacas y/o renales) no se asocian a mutaciones en el gen *RAI1*. Posiblemente otro gen de dentro o fuera de la región 17p11.2 sea el responsable. Las sondas comerciales para el diagnóstico incluyen el gen *FLII*; por tanto, a los pacientes con una delección intersticial que sólo contenga el gen *RAI1* no se les diagnosticará [23].

Síndrome de Kabuki

Presenta una facies que recuerda a los actores del teatro Kabuki. Los rasgos más característicos son cejas muy altas y pestañas muy largas y prominentes. Presentan múltiples malformaciones sistémicas y retraso global del desarrollo. La mayoría son esporádicos, pero hay algunos casos familiares en donde el progenitor muestra un fenotipo más moderado que el hijo. Se trata de un síndrome autosómico dominante de expresividad variable con factores genéticos o ambientales modificadores. La duplicación en 8p22-p23 encontrada en sólo seis pacientes no se ha observado en otras series posteriores más extensas [24-26].

Microdelección 8p23

Se asocia a la inversión-duplicación, inv dup(8p), que es una alteración estructural autosómica recurrente en la población normal general. Habitualmente esta microdelección deriva del cromosoma materno portador de la inv dup(8p) [27]. El fenotipo de la microdelección es muy consistente y se caracteriza por presentar dismorfia facial, RM y problemas de comportamiento, hipoplasia o agenesia del cuerpo calloso y problemas cardíacos: estenosis pulmonar valvular y tetralogía de Fallot [5]. La microduplicación de esta región es una posible variante polimórfica benigna [28].

La sospecha clínica de un síndrome asociado a una microdelección o microduplicación resulta de una enorme relevancia, ya que permite seleccionar la técnica que se debe utilizar para la confirmación genética del diagnóstico clínico. La prueba más utilizada es la FISH mediante sondas comerciales o construidas

a partir de la clonación de secuencias de ADN en BAC (*bacterial artificial chromosome*), que son los vectores más utilizados. Dicha técnica permite detectar con facilidad una microdelección en metafase y en interfase; sin embargo, para el diagnóstico de una microduplicación es conveniente analizar núcleos interfásicos ya que en metafase podría pasar inadvertida [14,29].

Alteraciones subteloméricas

La mayoría de las regiones subteloméricas presentan una elevada concentración de genes y además son muy propensas a sufrir recombinaciones debido a la gran similitud de secuencias. Desde 1995, se reconoce que una de las causas significativas del RM idiopático son las alteraciones crípticas en las regiones subteloméricas que producen ganancias o pérdidas y provocan un desequilibrio de dosis génica [30]. Ello ha propiciado el desarrollo de distintas técnicas para abordar el estudio de las reorganizaciones subteloméricas. Actualmente hay varios estudios en series amplias de RM idiopático que coinciden en que la frecuencia de alteraciones es del 5-7% de los casos [11,13,31,32].

Las regiones subteloméricas de los cromosomas corresponden mayoritariamente a bandas G negativas y morfológicamente son muy similares, por lo que resultan difíciles de detectar en el cariotipo. Entre las técnicas alternativas más empleadas para el estudio de estas regiones está la FISH multisonda, que consiste en la hibridación de sondas subteloméricas sobre metafases y permite detectar deleciones, traslocaciones desequilibradas y equilibradas, y en menor medida duplicaciones. Sin embargo, para la rutina asistencial es una técnica laboriosa y costosa. Más recientemente se está utilizando la técnica de MLPA 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. Se trata de una técnica más rápida y menos costosa, y evidencia un mayor número de duplicaciones que la técnica anterior, aunque tiene como inconvenientes que no detecta reorganizaciones equilibradas y que se deben confirmar todas las alteraciones mediante FISH [31].

La mayor proporción de alteraciones subteloméricas corresponde a las deleciones. Una de las deleciones más comunes es en 1p36, ocurre en 1 de cada 5.000 nacimientos, y debido a su elevada frecuencia el fenotipo está bien establecido y el reconocimiento clínico permite dirigir el diagnóstico. Se asocia a hipotonía, RM generalmente grave, retraso de crecimiento, obesidad, y dismorfismo facial: frente prominente, puente nasal deprimido, hipoplasia hemifacial, asimetría de orejas y barbilla en punta. En algunos casos ayuda al diagnóstico el hecho de que las cejas sean rectas y de implantación baja. Hay malformaciones cardíacas, pérdida auditiva y visual. Para las deleciones como 1q, 2q, 9p y 9q, ya se ha empezado a delinear el fenotipo, pero aún hay muchas otras en que el fenotipo no es consistente debido al escaso número de casos comunicados.

Las características clínicas más habituales observadas en las deleciones subteloméricas corresponden a una historia familiar positiva, retraso de crecimiento prenatal, alteraciones en el crecimiento posnatal, dos o más rasgos dismórficos faciales y uno o más defectos congénitos no faciales; la microcefalia es la anomalía más constante. En los estudios del RM idiopático que analizan las alteraciones subteloméricas y seleccionan a los pacientes teniendo en cuenta estos indicadores con una puntuación de tres o más, la frecuencia de reorganizaciones aumenta hasta el doble [33]. En los primeros trabajos se observó que el

mayor porcentaje de alteraciones subteloméricas se encontraba en pacientes con RM grave [34,35]; no obstante, en estudios más recientes se ha podido comprobar que una gran proporción de alteraciones a menudo se asocia a RM leve [36,37].

Un gran porcentaje de las anomalías subteloméricas, alrededor del 50%, son heredadas. Entre ellas, la mayoría corresponde a cromosomas derivados de una traslocación equilibrada parental, en un grupo más reducido se encuentran las deleciones/duplicaciones, y más raramente se observan traslocaciones aparentemente equilibradas. En los casos familiares con una deleción/duplicación heredada del progenitor, éste en general presenta unas características clínicas más leves comparadas con las que presenta el hijo e incluso hay casos sin una clínica evidente. Muchas de estas anomalías podrían corresponder a polimorfismos benignos sin ninguna relación causal, mientras que en otros se trataría de un efecto de anticipación que causaría manifestaciones más graves en las generaciones jóvenes o bien existiría un efecto de impronta genómica. En cuanto a las reorganizaciones aparentemente equilibradas, algunas se han asociado a pequeñas deleciones de tamaño variable (0,8-15 Mb), por lo que se aconseja utilizar técnicas moleculares complementarias antes de decidir si estas anomalías son patogénicas o por el contrario no tienen repercusión fenotípica [38,39].

Alteraciones intersticiales

Los estudios que analizan el genoma global con técnicas de alta resolución en pacientes con RM idiopático, detectan que el porcentaje de anomalías es del 7-20%, y son las intersticiales más frecuentes que las subteloméricas [40-43]. Las técnicas más utilizadas corresponden a:

- *HR-CGH*, en donde el ADN de referencia cohibrida con el ADN problema sobre una extensión metafásica, y detecta pérdidas y ganancias con una resolución de 2-3 Mb.
- *Array-CGH*, que utiliza el mismo principio que la *HR-CGH*, pero en vez de metafases utiliza clones (principalmente de BAC) como diana y tiene una resolución que viene delimitada por el tamaño del BAC y por la distancia que hay entre ellos.
- *MAPH* y *MLPA*, dos técnicas muy similares que se basan en una hibridación de sondas específicas sobre el ADN genómico seguida de una única amplificación por PCR, aunque la primera es más laboriosa [44].

En una de las series más largas estudiadas se observó mediante la técnica *HR-CGH* que un 12% de 424 pacientes con RM y rasgos dismórficos presentaba alteraciones intersticiales [45]. Las técnicas moleculares de cribado genómico –*MAPH* y *array-CGH*–, que se han utilizado para analizar las regiones cromosómicas de mayor significación clínica en el RM (subteloméricas, pericentroméricas, síndromes microdelecionales/microduplicacionales y otras áreas intersticiales del genoma), han probado su validez al hallar desequilibrios submicroscópicos [46-48]. En el estudio en que se utilizó la técnica de *MAPH*, al analizar un grupo de 184 pacientes se detectaron ocho reorganizaciones subteloméricas/pericentroméricas y siete intersticiales localizadas en regiones nuevas y en regiones descritas previamente asociadas a alguna alteración [47]. Esta técnica por el momento presenta algunas limitaciones, ya que mayoritariamente cubre sólo las regiones conocidas y no está preparada para detectar alteraciones por todo el genoma. La mejor aproximación al estudio de las alteraciones submicroscópicas parece ser la técnica

de *array*-CGH. Así, el *array*-CGH desarrollado con 3.500 clones para cubrir el genoma entero con una resolución de 1 Mb ha permitido detectar siete deleciones (una heredada) y cinco duplicaciones (cuatro heredadas) en un grupo de 50 pacientes con RM y dismorfismo [45]. En otro estudio de 20 pacientes en el que se empleó la misma tecnología se encontraron tres deleciones y dos duplicaciones; dos de las alteraciones se identificaron en el progenitor [40]. Todas las anomalías se deben confirmar y aquellas que son heredadas muy probablemente correspondan a polimorfismos.

En la actualidad se ha construido un *array*-CGH que cubre el genoma entero con 32.433 clones de BAC solapantes, por lo que se ha incrementado la posibilidad de una mayor detección de alteraciones cromosómicas pequeñas [49].

En un futuro próximo, el *array*-CGH estará al alcance del laboratorio clínico gracias a la disminución de los costes y a que se lograrán acotar los polimorfismos que no tengan significación clínica. Aunque esta técnica tiene la desventaja de que no detecta reorganizaciones equilibradas ni mosaicismos de bajo porcentaje, es en la actualidad la que permite una valoración

más extensa del genoma, pero por el momento no pretende sustituir al cariotipo, que seguirá siendo la primera herramienta para la valoración de alteraciones cromosómicas.

CONCLUSIÓN

En el RM idiopático, las alteraciones cromosómicas visibles al microscopio representan entre el 3% y el 10% de los casos, indudablemente la proporción global de dichas alteraciones es mucho más alta cuando se tienen en cuenta las anomalías submicroscópicas, y, aunque por el momento se desconoce, se podría alcanzar una frecuencia muy superior al 20%. Para conseguir una mayor detección de alteraciones crípticas es indispensable obtener cromosomas de alta resolución y utilizar técnicas moleculares tales como FISH, HR-CGH, *array*-CGH, MLPA y MAPH. Ello abre un campo muy esperanzador para avanzar en el conocimiento de la etiología del RM, en el que será factible el diagnóstico de nuevos síndromes, ofrecer un pronóstico, definir el riesgo de recurrencia en la descendencia y mejorar el tratamiento y prevención de éstos.

BIBLIOGRAFÍA

- Raynham H, Gibbons R, Flint J, Higgs D. The genetic basis for mental retardation. *QJM* 1996; 89: 169-75.
- Lupski JR. Genomic disorders: structural features of the genome can lead to DNA rearrangements and human disease traits. *Trends Genet* 1998; 14: 417-22.
- Ji Y, Eichler EE, Schwartz S, Nicholls RD. Structure of chromosomal duplicons and their role in mediating human genomic disorders. *Genome Res* 2000; 10: 597-610.
- Pujana MA, Nadal M, Guitart M, Armengol L, Gratacos M, Estivill X. Human chromosome 15q11-q14 regions of rearrangements contain clusters of LCR15 duplicons. *Eur J Hum Genet* 2002; 10: 26-35.
- Giglio S, Broman KW, Matsumoto N, Calvari V, Gimelli G, Neumann T, et al. Olfactory receptor-gene clusters, genomic-inversion polymorphisms, and common chromosome rearrangements. *Am J Hum Genet* 2001; 68: 874-83.
- Xu J, Chen Z. Advances in molecular cytogenetics for the evaluation of mental retardation. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2003; 117: 15-24.
- Shevell M, Ashwal S, Donley D, Flint J, Gingold M, Hirtz D, et al. Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology; Practice Committee of the Child Neurology Society. 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* 2003; 60: 367-80.
- Van Karnebeek CD, Jansweijer MC, Leenders AG, Offringa M, Hennekam RC. Diagnostic investigations in individuals with mental retardation: a systematic literature review of their usefulness. *Eur J Hum Genet* 2005; 13: 6-25.
- De Vigan C, Baena N, Cariati E, Clementi M, Stoll C, EUROSCAN Working Group. Contribution of ultrasonographic examination to the prenatal detection of chromosomal abnormalities in 19 centres across Europe. *Ann Genet* 2001; 44: 209-17.
- Battaglia A, Bianchini E, Carey JC. Diagnostic yield of the comprehensive assessment of developmental delay/mental retardation in an institute of child neuropsychiatry. *Am J Med Genet* 1999; 82: 60-6.
- Van Karnebeek CD, Koevoets C, Sluijter S, Bijlsma EK, Smeets DF, Redeker EJ, et al. Prospective screening for subtelomeric rearrangements in children with mental retardation of unknown aetiology: the Amsterdam experience. *J Med Genet* 2002; 39: 546-53.
- Gribble SM, Prigmore E, Burford DC, Porter KM, Ng BL, Douglas EJ, et al. The complex nature of constitutional de novo apparently balanced translocations in patients presenting with abnormal phenotypes. *J Med Genet* 2005; 42: 8-16.
- De Vries BB, Winter R, Schinzel A, Van Ravenswaaij-Arts C. Telomeres: a diagnosis at the end of the chromosomes. *J Med Genet* 2003; 40: 385-98.
- Portnoi MF, Lebas F, Gruchy N, Ardalan A, Biran-Mucignat V, Malan V, et al. 22q11.2 duplication syndrome: two new familial cases with some overlapping features with DiGeorge/velocardiofacial syndromes. *Am J Med Genet A* 2005; 137: 47-51.
- Schroer RJ, Phelan MC, Michaelis RC, Crawford EC, Skinner SA, Cuccaro M, et al. Autism and maternally derived aberrations of chromosome 15q. *Am J Med Genet* 1998; 76: 327-36.
- Thomas JA, Johnson J, Peterson Kraai TL, Wilson R, Tartaglia N, LeRoux J, et al. Genetic and clinical characterization of patients with an interstitial duplication 15q11-q13, emphasizing behavioral phenotype and response to treatment. *Am J Med Genet A* 2003; 119: 111-20.
- Belloso JM, Caballin MR, Gabau E, Baena N, Vidal R, Villatoro S, et al. Characterization of six marker chromosomes by comparative genomic hybridization. *Am J Med Genet A* 2005; 136: 169-74.
- Artigas J, Gabau E, Guitart M. El autismo síndromico: I. Aspectos generales. *Rev Neurol* 2005; 40 (Supl 1): S143-9.
- Zollino M, Lecce R, Fischetto R, Murolo M, Faravelli F, Selicorni A, et al. Mapping the Wolf-Hirschhorn syndrome phenotype outside the currently accepted WHS critical region and defining a new critical region, WHSCR-2. *Am J Hum Genet* 2003; 72: 590-7.
- Bergemann AD, Cole F, Hirschhorn K. The etiology of Wolf-Hirschhorn syndrome. *Trends Genet* 2005; 21: 188-95.
- Tatton-Brown K, Douglas J, Coleman K, Baujat G, Chandler K, Clarke A, et al. Multiple mechanisms are implicated in the generation of 5q35 microdeletions in Sotos syndrome. *J Med Genet* 2005; 42: 307-13.
- Slager RE, Newton TL, Vlangos CN, Finucane B, Elsea SH. Mutations in RAI1 associated with Smith-Magenis syndrome. *Nat Genet* 2003; 33: 466-8.
- Vlangos CN, Wilson M, Blancato J, Smith AC, Elsea SH. Diagnostic FISH probes for del(17)(p11.2p11.2) associated with Smith-Magenis syndrome should contain the RAI1 gene. *Am J Med Genet A* 2005; 132: 278-82.
- Milunsky JM, Huang XL. Unmasking Kabuki syndrome: chromosome 8p22-8p23.1 duplication revealed by comparative genomic hybridization and BAC-FISH. *Clin Genet* 2003; 64: 509-16.
- Armstrong L, Abd El Moneim A, Aleck K, Aughton DJ, Baumann C, Braddock SR, et al. Further delineation of Kabuki syndrome in 48 well-defined new individuals. *Am J Med Genet A* 2005; 132: 265-72.
- Engelen JJ, Loneus WH, Vaes-Peeters G, Schrandt-Stumpel CT. Kabuki syndrome is not caused by an 8p duplication: a cytogenetic study in 20 patients. *Am J Med Genet A* 2005; 132: 276-7.
- Shimokawa O, Kurosawa K, Ida T, Harada N, Kondoh T, Miyake N, et al. Molecular characterization of inv dup del(8p): analysis of five cases. *Am J Med Genet A* 2004; 128: 133-7.
- Engelen JJ, Moog U, Evers JL, Dassen H, Albrechts JC, Hamers AJ. Duplication of chromosome region 8p23.1→p23.3: a benign variant? *Am J Med Genet* 2000; 91: 18-21.
- 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.

30. Flint J, Knight S. The use of telomere probes to investigate submicroscopic rearrangements associated with mental retardation. *Curr Opin Genet Dev* 2003; 13: 310-6.
31. Koolen DA, Nillesen WM, Versteeg MH, Merkx GF, Knoers NV, Kets M, et al. Screening for subtelomeric rearrangements in 210 patients with unexplained mental retardation using multiplex ligation dependent probe amplification (MLPA). *J Med Genet* 2004; 41: 892-9
32. Rooms L, Reyniers E, Kooy RF. Subtelomeric rearrangements in the mentally retarded: a comparison of detection methods. *Hum Mutat* 2005; 25: 513-24.
33. de Vries BB, White SM, Knight SJ, Regan R, Homfray T, Young ID, et al. Clinical studies on submicroscopic subtelomeric rearrangements: a checklist. *J Med Genet* 2001; 38: 145-50.
34. Knight SJ, Regan R, Nicod A, Horsley SW, Kearney L, Homfray T, et al. Subtle chromosomal rearrangements in children with unexplained mental retardation. *Lancet* 1999; 354: 1676-81.
35. Riegel M, Baumer A, Jamar M, Delbecque K, Herens C, Verloes A, et al. Submicroscopic terminal deletions and duplications in retarded patients with unclassified malformation syndromes. *Hum Genet* 2001; 109: 286-94.
36. Bocian E, Helias-Rodzewicz Z, Suchenek K, Obersztyń E, Kutkowska-Kazmierczak A, Stankiewicz P, et al. Subtelomeric rearrangements: results from FISH studies in 84 families with idiopathic mental retardation. *Med Sci Monit* 2004; 10: 143-51.
37. Rodríguez-Revenga L, Bádenas C, Sánchez A, Mallolas J, Carrió A, Pedrinaci S, et al. Cryptic chromosomal rearrangement screening in 30 patients with mental retardation and dysmorphic features. *Clin Genet* 2004; 65: 17-23.
38. Astbury C, Christ LA, Aughton DJ, Cassidy SB, Kumar A, Eichler EE, et al. Detection of deletions in de novo 'balanced' chromosome rearrangements: further evidence for their role in phenotypic abnormalities. *Genet Med* 2004; 6: 81-9.
39. Adeyinka A, Adams SA, Lorentz CP, Van Dyke DL, Jalal SM. Subtelomere deletions and translocations are frequently familial. *Am J Med Genet A* 2005; 135: 28-35.
40. Vissers LE, De Vries BB, Osoegawa K, Janssen IM, Feuth T, Choy CO, et al. Array-based comparative genomic hybridization for the genome-wide detection of submicroscopic chromosomal abnormalities. *Am J Hum Genet* 2003; 73: 1261-70.
41. Kirchhoff M, Gerdes T, Rose H, Maahr J, Ottesen AM, Lundsteen C. Detection of chromosomal gains and losses in comparative genomic hybridization analysis based on standard reference intervals. *Cytometry* 1998; 31: 163-73.
42. Shaw-Smith C, Redon R, Rickman L, Rio M, Willatt L, Fiegler H, et al. 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* 2004; 41: 241-8.
43. Schoumans J, Ruivenkamp C, Holmberg E, Kyllerman M, Anderlid BM, Nordenskjöld M. Detection of chromosomal imbalances in children with idiopathic mental retardation by array based comparative genomic hybridisation (array-CGH). *J Med Genet* 2005; 42: 699-705.
44. Sellner LN, Taylor GR. MLPA and MAPH: new techniques for detection of gene deletions. *Hum Mutat* 2004; 23: 413-9.
45. Kirchhoff M, Pedersen S, Kjeldsen E, Rose H, Duno M, Kolvraa S, et al. Prospective study comparing HR-CGH and subtelomeric FISH for investigation of individuals with mental retardation and dysmorphic features and an update of a study using only HR-CGH. *Am J Med Genet A* 2004; 127: 111-7.
46. Snijders AM, Nowak N, Segraves R, Blackwood S, Brown N, Conroy J, et al. Assembly of microarrays for genome-wide measurement of DNA copy number. *Nat Genet* 2001; 29: 263-4.
47. Kriek M, White SJ, Bouma MC, Dauwerse HG, Hansson KB, Nijhuis JV, et al. Genomic imbalances in mental retardation. *J Med Genet* 2004; 41: 249-55.
48. Bejjani BA, Theisen AP, Ballif BC, Shaffer LG. Array-based comparative genomic hybridization in clinical diagnosis. *Expert Rev Mol Diagn* 2005; 5: 421-9.
49. Ishkanian AS, Malloff CA, Watson SK, DeLeeuw RJ, Chi B, Coe BP, et al. A tiling resolution DNA microarray with complete coverage of the human genome. *Nat Genet* 2004; 36: 299-303.

CAUSAS CROMOSÓMICAS QUE ORIGINAN EL RETRASO MENTAL: ALTERACIONES CROMOSÓMICAS DIAGNOSTICABLES EN EL PACIENTE

Resumen. Introducción. En todos los estudios etiológicos de retraso mental (RM) idiopático, las anomalías cromosómicas son el factor que contribuye más significativamente. Las alteraciones son más frecuentes cuando el RM grave se acompaña de un fenotipo dismórfico, pero pueden encontrarse también en sujetos con RM leve y con escasos signos dismórficos. Desarrollo. Se describen nuevos genes y regiones críticas de síndromes con microdelección: Wolf-Hirschhorn, Smith-Magenis y Sotos –que deben tenerse en cuenta para el diagnóstico genético–, y nuevas microduplicaciones como la 15q11-q13, que se asocia a un fenotipo conductual de autismo. La aplicación de las nuevas técnicas moleculares como la hibridación in situ fluorescente (FISH) con multisondas multitelómero, MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification) y array-CGH (microarray basado en la hibridación genómica comparada), ha puesto de manifiesto la gran relevancia que tienen las reorganizaciones subteloméricas e intersticiales en la etiología del RM. Las alteraciones subteloméricas contribuyen en un 5-7% de los casos con RM idiopático; la mayor proporción corresponde a las deleciones; una de las más comunes es la deleción 1p36. Los estudios que valoran el genoma global en el RM idiopático detectan desde un 7 a un 20% de casos con anomalías, y son las intersticiales más frecuentes que las subteloméricas. Conclusiones. La aplicación de las nuevas tecnologías al RM idiopático abre un campo muy esperanzador para el diagnóstico de nuevos síndromes con alteraciones submicroscópicas, a fin de establecer un pronóstico, mejorar el tratamiento y definir el riesgo de recurrencia. [REV NEUROL 2006; 42 (Supl 1): S21-6]

Palabras clave. Alteraciones cromosómicas. Alteraciones intersticiales. Alteraciones subteloméricas. Retraso mental idiopático. Síndromes de microdelección/microduplicación.

CAUSAS CROMOSSÓMICAS QUE ORIGINAM O ATRASO MENTAL: ALTERAÇÕES CROMOSSÓMICAS DIAGNOSTICÁVEIS NO DOENTE

Resumo. Introdução. Em todos os estudos etiológicos de atraso mental (AM) idiopático, as anomalias cromossômicas são o factor que contribui mais significativamente. As alterações são mais frequentes quando o AM grave é acompanhado de um fenotipo dismórfico, mas podem encontrar-se também em sujeitos com AM leve e com escassos sinais dismórficos. Desenvolvimento. Descrevem-se novos genes e regiões críticas de síndromas com microdelecção: Wolf-Hirschhorn, Smith-Magenis e Sotos –que devem ter-se em conta para o diagnóstico genético–, e novas microduplicações como a 15q11-q13, que se associa a um fenotipo condutual de autismo. A aplicação das novas técnicas moleculares como a hibridação fluorescente in situ (FISH) com multisondas multitelómero, a MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification) e a matriz-CGH (micromatriz baseada na hibridação genómica comparada), manifestou a grande relevância que têm as reorganizações subteloméricas e intersticiais na etiologia do AM. As alterações subteloméricas contribuem em 5-7% dos casos com AM idiopático; a maior proporção corresponde às delecções; uma das mais comuns é a delecção 1p36. Os estudos que avaliam o genoma global no AM idiopático detectam desde 7 a 20% de casos com anomalias, sendo as intersticiais mais frequentes que as subteloméricas. Conclusões. A aplicação das novas tecnologias ao AM idiopático abre um campo muito esperançoso para o diagnóstico de novos síndromas com alterações submicroscópicas, a fim de estabelecer um prognóstico, melhorar o tratamento e definir o risco de recorrência. [REV NEUROL 2006; 42 (Supl 1): S21-6]

Palavras chave. Alterações cromossômicas. Alterações intersticiais. Alterações subteloméricas. Atraso mental idiopático. Síndromas de microdelecção/microduplicação.