



Variantes en el número de copias en trastornos del neurodesarrollo, síndrome malformativo y talla baja en Perú

Copy number variation in development disorders, malformative syndrome and short stature in Peru

Hugo H. Abarca Barriga^{1,2,a,b}, Flor de Milagros Vásquez Sotomayor^{1,c,d}, Milana Trubnykova^{1,a}, Félix Chavesta Velásquez^{1,c}, Miguel A. Chávez Pastor^{1,3,e}, Bertha E. Gallardo Jugo^{1,e}, Julio Poterico Rojas^{3,a}, Nathaly Caballero Bedón^{1,a}, Jorge La Serna Infantes^{1,a}, Tania Vásquez Loarte^{4,f,g}

¹ Servicio de genética y errores innatos del metabolismo, Instituto Nacional de Salud del Niño. Lima, Perú.

² Carrera profesional de Medicina Humana, Universidad Científica del Sur. Lima, Perú.

³ Facultad de Medicina Humana, Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima, Perú.

⁴ Genocenter. Lima, Perú.

^a Médico-genetista, ^b magíster en genética, ^c biólogo, ^d magíster en ciencias, ^e médico-pediatra genetista, ^f médico-cirujano, ^g magíster en epidemiología

Correspondencia

Hugo Hernán Abarca Barriga
habarca@insn.gob.pe

Recibido: 25/03/2020

Arbitrado por pares

Aprobado: 27/05/2020

Citar como: Abarca Barriga H, Vásquez Sotomayor FDM, Trubnykova M, Chavesta Velásquez F, Chávez Pastor MA, Gallardo Jugo BE, et al. Variantes en el número de copias en trastornos del neurodesarrollo, síndrome malformativo y talla baja en Perú. Acta Med Peru. 2020;37(2):145-55. doi: <https://doi.org/10.35663/amp.2020.372.915>

RESUMEN

Objetivo: determinar las variantes en el número de copias y regiones de homocigosidad mediante el análisis cromosómico por micromatrices, en niños con diagnóstico de trastorno del neurodesarrollo: retraso del desarrollo psicomotor (RDPM), discapacidad intelectual (DI) y trastorno del espectro autista (TEA), así como pacientes con síndrome malformativo (SM) y talla baja idiopática (TBI). **Materiales y métodos:** se evaluaron a 367 niños peruanos diagnosticados clínicamente con DI, RDPM, TEA, TBI y SM a quienes se les realizó el análisis cromosómico por micromatrices (CMA 750K CGH+SNP) en sangre periférica, entre los años 2016-2018. **Resultados:** las edades fluctuaron entre los 4,8 meses y los 18 años, con una media de 5,6 años. Los diagnósticos más frecuentes fueron RDPM (48%) y DI (30%). Se reportaron resultados anormales (variantes patogénicas, probablemente patogénicas, disomías uniparentales y regiones de homocigosidad superiores a 2,56%) en el 50,3% de los pacientes. Los resultados anormales se observaron en el 53,3% de los casos con diagnóstico de DI y el 47,9% de RDPM; mientras que en el resto de los casos con TBI sindrómica, SM y TEA tuvieron resultados anormales en el 52,4%, 52% y 20% respectivamente. Por otro lado, encontramos hasta un 6,2% de los padres eran consanguíneos no declarados. **Conclusiones:** la tasa de detección de las variantes en el número de copias (CNVs) encontrada en nuestro estudio fue superior a la reportada en estudios internacionales independientemente del diagnóstico clínico. Además, se pudo encontrar una mayor frecuencia de consanguinidad no declarada con relación a estudios anteriores.

Palabras clave: Pruebas genéticas; Discapacidad intelectual; Discapacidades del desarrollo; Trastorno del espectro autista; Variaciones en el número de copia de ADN (fuente: DeCS-BIREME).

ABSTRACT

Objective: To establish the ratios of the copy number variations and regions of homozygosity through chromosomal microarray analysis (CMA) in children with neurodevelopmental disorders: development delay (DD), intellectual disability (ID), and/or autistic spectrum disorder (ASD), malformative syndrome (MS) and idiopathic short stature (ISS). **Materials and Methods:** We evaluated 367 Peruvian children diagnosed clinically with ID, DD, ASD, ISS and MS to whom performed chromosomal microarray analysis in peripheral blood (750K CGH + SNP), between the years 2016-2018. **Results:** Patients' age fluctuated between 4.8 months and 18 years old, with an average of 5.6 years old. The most frequent diagnoses were development delay (48%) and intellectual disability (30%). Abnormal results (pathogenic variants, likely pathogenic variants, uniparental disomies and loss of heterozygosity > 2.5%) were reported in 50.3%. The 53.28% of the cases with a diagnosis of intellectual disability and 47.92% of development delay showed abnormal results; while the children with short stature syndromic, malformative syndrome, and autistic disorders spectrum disorders showed abnormal results in 52.38%, 52% and 20% respectively. Additionally, we found that 6.25% of parents were non-declared consanguinity. **Conclusions:** Abnormal results found in our study was a higher ratio than other international reports regardless of the clinical diagnosis. Furthermore, we show a most rate of non-declared consanguinity in relation with previous reports.

Keywords: Genetic testing; Intellectual disability; Developmental disabilities; Autism spectrum disorder; DNA copy number variations (source: MeSH NLM).

INTRODUCCIÓN

Los trastornos del neurodesarrollo son entidades que alteran el desarrollo del sistema nervioso central. Esto implica la disfunción del desarrollo cerebral, que puede manifestarse como problemas neuropsiquiátricos, del aprendizaje, el lenguaje o comunicación no verbal y funciones motoras. Se incluyen, entre otros, a la discapacidad intelectual (DI), retraso del desarrollo psicomotor (RDPM) y trastorno del espectro autista (TEA)^[1].

El RDPM representa la no adquisición normal de al menos dos habilidades psicomotrices, debido a que el niño no alcanzó alguno de los hitos del desarrollo, los alcanzó después del tiempo esperado o de una manera incompleta^[2]. La DI se define como la limitación en dos áreas: la inteligencia o capacidad mental y el comportamiento adaptativo en cualquiera de sus tres dominios: conceptual, social y práctico^[3]. Los trastornos del espectro autista, constituyen un grupo complejo de entidades que afectan el neurodesarrollo que se presenta en la niñez. Mientras que las personas con TEA se caracterizan por presentar deficiencia persistente en la comunicación social y la interacción social en múltiples contextos, así como la presencia de patrones de comportamiento, intereses o actividades restringidas y repetitivas^[4].

Por otro lado, la talla baja idiopática (TBI) es definida cuando ésta se encuentra por debajo de dos desviaciones estándar sin evidencia de alguna patología^[5]. Las anomalías congénitas son condiciones de origen prenatal que están presentes al nacimiento y que potencialmente impactan en el desarrollo, salud y sobrevivencia. Éstas se denominan sindrómicas cuando presentan un patrón reconocible y con una causa probable (genética o teratogénica)^[6].

La prevalencia mundial de la DI oscila entre el 1 y 3% de la población, teniendo una etiología genética que podría llegar hasta el 90% de los casos, dependiendo del uso combinado del análisis cromosómico por micromatrices y el secuenciamiento

exómico/genómico^[7-9]. En Latinoamérica, la prevalencia de DI es de 3,0-12,9% de la población^[10], estimándose que en el Perú tendrían DI entre 0,9 y 3,8 millones de personas. La prevalencia del TEA en menores de 18 años de edad es de 1,5-2%^[3,11]. Mientras la prevalencia de talla baja en niños y de recién nacidos con anomalías congénitas es del 4,6%^[12] y 1-3%, respectivamente^[13]. Durante el 2015-2018, en el servicio de Genética y errores innatos del desarrollo (Genética & EIM) del Instituto Nacional de Salud del Niño (INSN) se evaluaron a 10 524 niños, de los cuales el 19% tenía un trastorno del neurodesarrollo (RDPM, DI, TEA), 3,79% talla baja y el 1,06% síndrome malformativo^[14].

El análisis cromosómico por micromatrices o CMA (del inglés *Chromosomal Microarray Analysis*) permite detectar variantes en el número de copias o CNVs (del inglés *Copy Number Variation*) las cuales se definen como segmentos en ganancia o pérdida de ADN iguales o mayores a 1 Kpb. Las CNVs se clasifican en cinco tipos según su patogenicidad en: i) CNV patogénica; ii) CNV probablemente patogénica; iii) CNV de significado incierto; iv) CNV probablemente benigna y v) CNV benigna^[15,16]. Las CNVs pueden provocar alteración en la expresión génica mediante el fenómeno de dosis génica, fusión de genes, disrupción de genes o la alteración en los efectos regulatorios, los cuales provocan modificación de vías importantes y, dependiendo de la región genómica comprometida, causarán un fenotipo determinado^[17]. Además, el CMA permite, también, ubicar regiones en homocigosidad o ROH (del inglés *Regions Of Homozygosity*), que nos muestra las disomías uniparentales cuando el ROH es mayor a 10 Mpb, y la consanguinidad parental si el total de ROHs de las regiones autosómicas es mayor a 2,56%^[18-20]. Las disomías uniparentales podrían provocar según la región comprometida alteraciones en genes susceptibles de impronta o la aparición de una enfermedad recesiva autosómica^[20].

Las CNVs son la etiología del TEA y DI entre el 20% y 30% de los casos, respectivamente, mientras que el uso del secuenciamiento masivo puede facilitar el diagnóstico hasta en el 68,3%^[8,10,21,22].

Con relación a talla baja idiopática el CMA puede detectar la etiología en el 2,5% [23].

Desde el año 2010, el CMA está indicada como la prueba diagnóstica de primera línea en pacientes con RDPM, DI, TEA, TBI y síndrome malformativo; sin embargo, desde el 2019 el secuenciamiento exómico o genómico está considerado como la primera prueba diagnóstica [9,18,21,24-29]. El objetivo del estudio fue determinar las CNVs, ROH superiores al 2,56%, y ROH segmentales de más de 10 Mpb mediante el uso de CMA en niños peruanos con trastornos del neurodesarrollo, síndrome malformativo y talla baja idiopática.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño y tipo de estudio

Es un estudio tipo descriptivo y transversal donde se revisaron los datos consignados en las historias clínicas de todos los pacientes entre 0-18 años que acudieron al Servicio de Genética & EIM del INSN entre diciembre de 2015 a enero de 2018.

Población y muestra

Se realizó el CMA a 400 pacientes, analizando los resultados de todos aquellos que presentaban retraso del desarrollo psicomotor, discapacidad intelectual, trastorno del espectro autista, talla baja idiopática y/o síndrome malformativo (n=367). Se subclasificó en entidades aisladas o sindrómicas dependiendo de la presencia de comorbilidades, es así que, los pacientes con DI y RDPM se clasificaron como sindrómicos si tenían presencia de TEA, alteraciones de la antropometría o dismorfias; y la talla baja se definió como sindrómica si se asociaba a otros cambios antropométricos u a otras anomalías congénitas menores (Tabla 1). Se excluyó del CMA a los pacientes que clínicamente padecían de una enfermedad monogénica y que la probabilidad de la alteración fuera una variante de un único nucleótido o de múltiples nucleótidos.

VARIABLES DE ESTUDIO

Las CNVs fueron comparadas con las bases de datos genómicas: *Database of Chromosomal Imbalance, Phenotype in Humans using Ensemble Resources* (DECIPHER), y de *University of California, Santa Cruz* (UCSC). Las CNVs encontrados se clasificaron según la ACMG (*American College of Medical Genetics*) [15,16]. Los resultados del CMA se clasificaron como resultados anormales si el análisis demostraba CNVs patogénicas o probablemente patogénicas; o aquellos que presentaban al menos una región con un ROH mayor a 10 Mpb y/o si el total de ROHs de las regiones autosómicas era mayor a 2,56% [20].

PROCEDIMIENTO

El CMA se realizó con una muestra de sangre periférica, de la cual se extrajo el ADN genómico (250ng); el cual fue amplificado, etiquetado e hibridado usando el protocolo

GeneChip CytoScan 750K Array (Affymetrix, USA ®) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La prueba incluye 550 000 marcadores no polimórficos y 200 436 marcadores *SNP* (del inglés *single nucleotide polymorphism*). Las celdas en filas fueron escaneadas mediante el programa informático *Chromosome Analysis Suite* (ChAS) (Affymetrix, USA ®). Las ganancias o pérdidas son consideradas cuando se comprometen al menos 50/25 marcadores respectivamente. Las ROH comprometen una longitud de al menos 10 Mpb (ver Thermo Fisher Sc Inc, 2017). A todos los padres se les brindó el asesoramiento genético correspondiente y se realizó seguimiento de manera ambulatoria.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis descriptivo se realizó mediante el uso de frecuencias y porcentajes. Para determinar si existió asociación entre el tipo de diagnóstico y la presencia o ausencia de CNVs, se usó la prueba de chi cuadrado. Además, se determinó la concordancia entre el CMA y el cariotipo, así como los valores predictivos positivos y negativos, sensibilidad y especificidad de estas pruebas.

ASPECTOS ÉTICOS

Se obtuvo la aprobación del comité de Ética del INSN, preservando la privacidad y confidencialidad de los datos clínicos y genómicos de los sujetos de investigación y sus respectivas familias, de acuerdo con los lineamientos de las buenas prácticas clínicas y de ética en investigación biomédica.

RESULTADOS

El 56,3% (n=225) fueron varones y el 43,8% (n=175) mujeres, con un promedio de la edad de los niños atendidos de $5,6 \pm 4,8$ años. Otras variables consideradas en el estudio fueron: antecedentes prenatales y natales, procedencia de abuelos, edad parental y los diagnósticos por lo que se indicó el CMA (Tabla 1). Con respecto a la escolaridad, el 23,9% acudió a un centro educativo básico alternativo. El promedio del coeficiente intelectual según la escala de inteligencia Stanford-Binet en los pacientes con DI fue de $58,1 \pm 25,3$ puntos.

En el 82,1% de los casos tenían al menos una prueba complementaria, las cuales en su mayoría fueron no concluyentes. Estas pruebas fueron: cariotipo en sangre periférica (39,6%), RMN de encéfalo (31,3%), TEM de encéfalo (30,4%), electroencefalograma (24,6%), potenciales evocados auditivos (22,9%), espectrometría de masas en tándem (5,5%) y fragilidad cromosómica (1,3%). Los hallazgos antropométricos alterados fueron talla baja (34,6%), microcefalia (27,1%), bajo peso (17,9%), obesidad (6,3%), macrocefalia (5,4%), sobrepeso (5,0%) y talla alta (3,8%).

En el 49,9% de todos los casos analizados (n=367), se evidenció un resultado normal de CMA. Por otro lado, en el 26,0% de los pacientes se encontró una o más CNVs patogénicas o probablemente patogénicas; en el 15,7% se encontró una o más

Tabla 1. Datos epidemiológicos de los niños que se realizaron el CMA en el INSN.

Características	n	%
Género		
Masculino	225	56,2
Femenino	175	43,8
Edad (*)		
Masculino	4	2-8
Femenino	4	2-8
Procedencia de abuelos		
Lima	114	14,2
Ancash	102	12,7
Ayacucho	58	7,3
Junín	54	6,8
Cajamarca	54	6,8
Piura	51	6,4
Apurímac	48	6,0
La Libertad	42	5,3
Huancavelica	40	5,0
Cusco	38	4,7
Puno	32	4,0
Huánuco	32	4,0
Otros	135	16,8
Antecedentes prenatales		
No	316	78,9
Consumo de alcohol	17	4,3
Consumo de drogas	65	16,3
Fiebre en el primer trimestre	45	11,3
Amenaza de aborto	82	20,4
Amenaza de parto pretérmino	67	16,7
Parto		
Vaginal	219	54,8
Cesárea	181	45,2
Antropometría al nacer (*)		
Peso (g)	3 010	2 580-3 400
Talla (cm)	49	46-50
Perímetro cefálico (cm)	33	32-25
Antecedentes patológicos		
Hospitalización al nacer	161	40,4
Cirugías	85	21,25
Edad parental (*)		
Padre	37	30-45
Madre	34	27-39
Años de estudio (*)		
Padre	11	11-11
Madre	11	10-14
Diagnósticos		
Retraso del desarrollo psicomotor sindrómico	143	35,7
Discapacidad intelectual sindrómica	79	19,7
Retraso del desarrollo psicomotor aislado	49	12,2
Discapacidad intelectual aislada	45	11,2
Síndrome malformativo	25	6,2
Talla baja idiopática sindrómica	21	5,2
Trastorno del espectro autista	5	1,2
No especificado	3	0,7
Otros	30	7,5
Total	400	100,0
CNVs patológicas o probablemente patológicas		
Discapacidad intelectual	36,1	6,7
Retraso psicomotor	32,1	6,6
Talla baja sindrómica	33,3	18,4
Trastorno del espectro autista	20,0	--
Síndrome malformativo	28,0	--

(*) Mediana y Rango intercuartilar
CMA: *chromosomal microarray analysis*; CNV: *copy number variation*

ROH superior a 10 Mb, en el 8,5% se encontró una combinación de CNVs patológicas o probablemente patológicas más ROH superior a 10 Mb.

Además, se encontró un ROH mayor a 2,56% asociado o no a CNVs patológicas, en el 6,2% de los casos. Por otro lado, se evidenciaron CNVs probablemente patológicas en el 29,5%; y CNVs de significado incierto en combinación con ROH en el 6,8%. En el 19,6% (n=72) de los pacientes se planteó una posible disomía uniparental, de los cuales en el 56,7% de los casos, esta fue observada en el cromosoma X, y en el resto de los niños, en uno o más cromosomas.

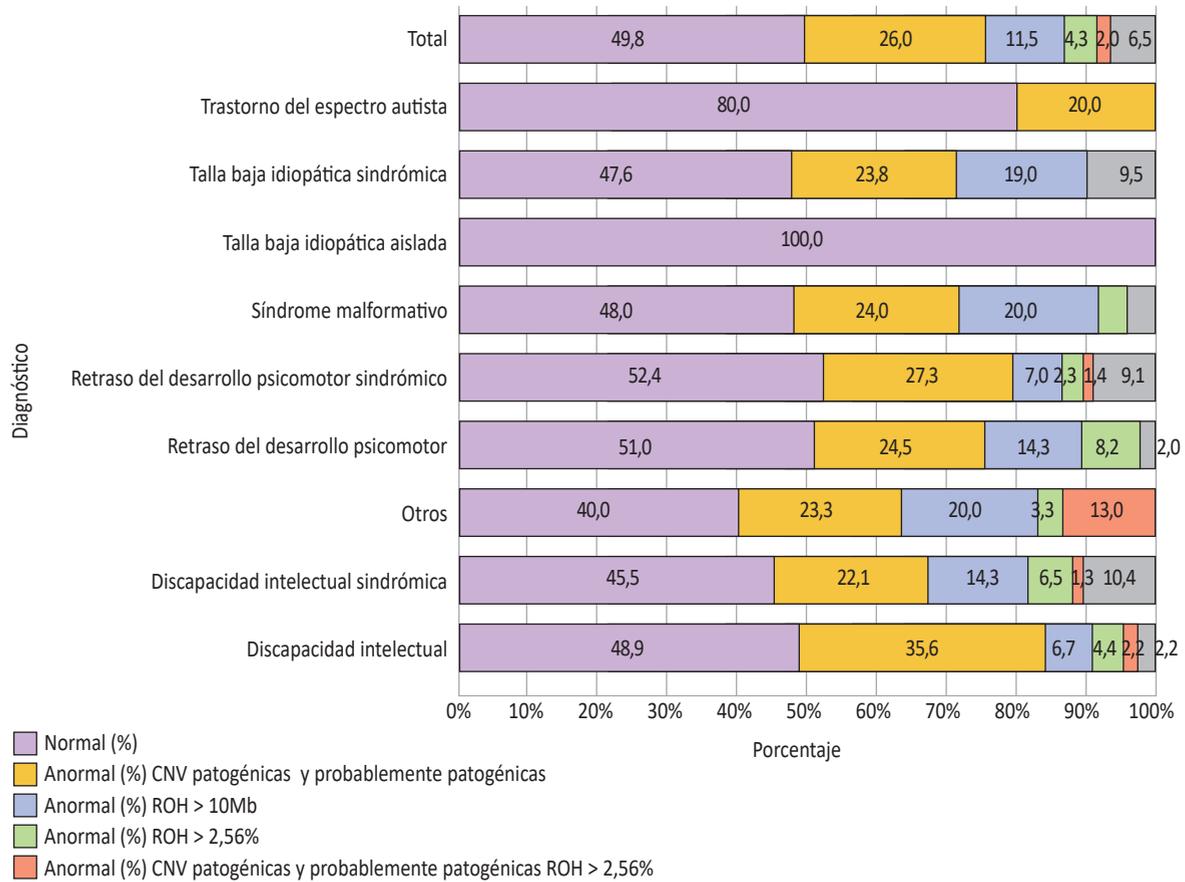
Con relación a los casos clasificados como discapacidad intelectual no sindrómica, se observó que en el 51,1% de los pacientes mostró un resultado anormal. En los pacientes clasificados como discapacidad intelectual sindrómica los resultados anormales se observaron en el 54,5%, sin observarse diferencias significativas entre estos grupos ($p=0,770$). En este grupo, se observó siete pacientes, como característica adicional, al TEA. Adicionalmente, dos de ellos presentaron CNVs patológicas.

En los pacientes con retraso del desarrollo psicomotor aislado o sindrómico, se observó que el 49,0% y 47,6%, respectivamente presentaron resultados anormales en el CMA. Se observaron ocho pacientes con RDPM sindrómico que también presentaban TEA, de los cuales uno tenía ROH de 3,0%. El CMA mostró resultados anormales en un 20% de los niños con diagnóstico del trastorno de espectro autista y en el 33,3% de los pacientes con talla baja idiopática sindrómica (Figura 1). En aquellos pacientes que tuvieron el diagnóstico de un síndrome malformativo no especificado (n=25), se pudo apreciar que el 52% de los niños tuvieron un CMA anormal. Mientras que, en el total de pacientes evaluados, en 95 casos se encontraron CNVs patológicas, de los cuales, 20 niños presentaron más de una CNV.

El tamaño de las CNVs patológicas varían entre 10,3 kb y 155 065 kb, con un promedio de 15 689,7 kb. El número total de CNVs patológicas encontradas fueron de 117, de los cuales 74 fueron en pérdida, 42 en ganancia y cinco, en mosaico (tres en ganancia y dos en pérdida) (Figura 2). En 54 niños se observaron CNVs probablemente patológicas, de los cuales 45 tuvieron CNV en ganancia y nueve CNVs en pérdida (Figura 3 y material suplementario 1).

En cuatro pacientes con diagnósticos de RDPM sindrómico y DI sindrómica, se identificó un cromosoma marcador. En dos de ellos se pudo detectar el origen del material genético extra, a través del CMA en el cromosoma X y en el cromosoma 7; mientras que, en los otros dos el CMA fue normal. En tres niños con diagnóstico de retraso del desarrollo psicomotor (n=2) y discapacidad intelectual (n=1) se encontró material adicional (*add*) en el cromosoma 8, 15 y 13 respectivamente. Al realizarles el CMA se encontró CNV en los cromosomas 7 y 8, 15 y 16, y 20 respectivamente.

La concordancia entre el cariotipo y el CMA fue bajo (valor kappa =0,62). En 21 pacientes no hubo relación entre los resultados



ROH: regiones de homocigosidad; Mb: mega pares de bases; CNV: variantes en el número de copias.

Figura 1. Distribución según los diagnósticos y los resultados de los análisis cromosómicos por micromatrices en pacientes con trastornos del neurodesarrollo, talla baja y síndrome malformativo.

del análisis cromosómico por micromatrices y el cariotipo en sangre periférica, mostrando que en dos de los casos en los que el cariotipo se realizó *a priori*, se tenía un cromosoma marcador; sin embargo, en el CMA no se pudo detectar el origen del material genético extra. En los otros 19 pacientes, quienes también tenían un estudio citogenético convencional normal previo, éstos acudieron al servicio para realizar el CMA en el que se pudo detectar CNVs patogénicas por encima de la resolución de un cariotipo convencional. En 22 niños se encontró una relación de los resultados entre el cariotipo y el CMA hallando una CNV patogénica; además, en 186 casos tuvieron un resultado normal en los que hubo relación entre el cariotipo y el CMA. Los valores de sensibilidad y especificidad fueron de 53,7% y 98,9% respectivamente. Mientras que los resultados del valor predictivo positivo y negativo (asumiendo un 1% de prevalencia en la población), están en el 33,7% y 99,5% respectivamente.

DISCUSIÓN

Sabemos que la etiología de la discapacidad intelectual, retraso del desarrollo psicomotor, síndromes malformativos y trastorno del espectro autista es genética. En este estudio se

observaron más CNVs patogénicas y probablemente patogénicas en pacientes con DI (36,1%) en comparación a lo reportado en la literatura que es alrededor del 15-28% [22,25,30]; sin embargo, en pacientes con DI y dismorfia facial el rango puede llegar hasta en el 33,3% [31]. En ese mismo sentido, se identificaron más CNVs patogénicas o probablemente patogénicas en los pacientes con retraso psicomotor aislado o sintromico (32,14% vs 15-22%). Al comparar el hallazgo de las CNVs que ocasionan talla baja idiopática sintromica se encontró una frecuencia mayor a lo reportado (33,3% vs 2,5%) [23]; mostrando que estos porcentajes se encuentran por encima de lo reportado previamente.

Por otro lado, no se encontró diferencias en los pacientes diagnosticados con TEA ya que coincidió con lo reportado de las CNVs en otros estudios previos (20%). Estas diferencias de mayor tasa de detección son esperadas, debido a que en muchos países los médicos solicitan el CMA como primer test para el diagnóstico [32]; mientras que en nuestra institución es solicitada exclusivamente por los médicos genetistas, quienes tendrían mayor posibilidad de diferenciar y excluir condiciones monogénicas o teratogénicas.

En los pacientes que presentaban RDPM y DI con CNVs de significado incierto, se concluyó que por la frecuencia aumentada

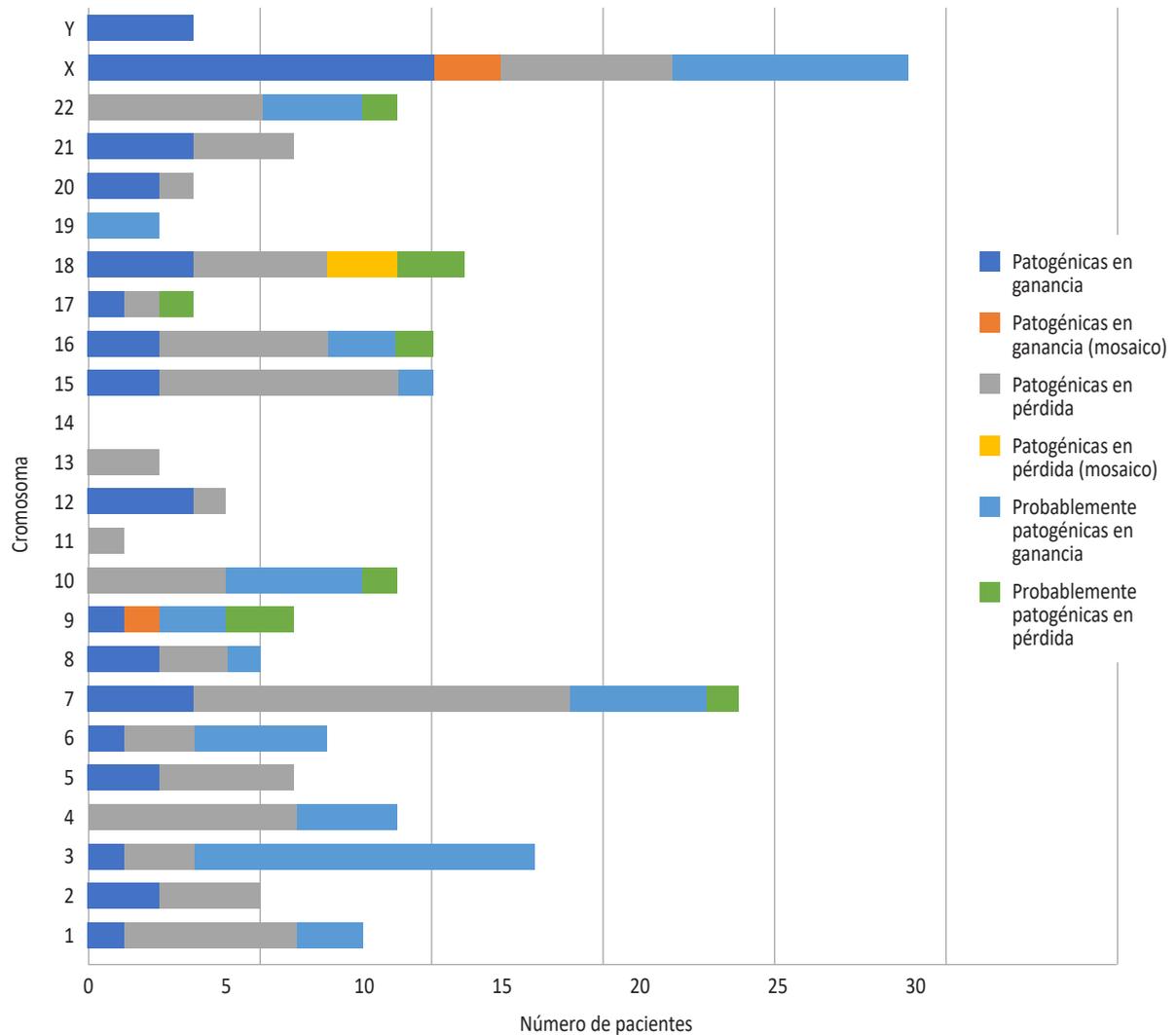


Figura 2. Frecuencia de aparición de variantes en el número de copias patogénicas o probablemente patogénicas según ubicación cromosómica.

de estas variantes y su tamaño menor a 500 kpb, es probable que muchas de ellas estarían siendo reclasificadas en probablemente benignas o benignas [16]. Sin embargo, es importante precisar que cuando el tamaño es mayor a 500 kpb podría estar a favor de que la CNV sea interpretado como probablemente patogénico observando nueve CNVs no reportados previamente (Tabla 2) [33].

En el 6,2% de los pacientes se observó ROH por encima de 68 Mb de los cromosomas autosómicos. Esto significa, que los padres de los niños evaluados eran consanguíneos con un grado de parentesco correspondiente hasta de cuarto grado. Esta proporción de pacientes con consanguinidad parental no declarada, se encuentra por encima de lo descrito en otras regiones, como en Brasil, con una frecuencia de 3,2% de los casos [19]. En este mismo sentido, hemos observado de manera muy preocupante que el 2% de los padres de los pacientes eran consanguíneos de primer grado no declarado previamente (Tabla 3), lo cual también se encuentra por encima de lo reportado previamente (0,5%) [19].

Sólo en uno de los pacientes se demostró DUP materna parcial en el cromosoma 7 utilizando las pruebas de CMA y PCR *multiplex* a

los padres; quien tenía fibrosis quística por una deleción completa del gen *CFTR* [34]. Otra alteración rara fue el de una paciente con un síndrome de genes contiguos (tricotodistrofia tipo 4 / aciduria glutárica III), de herencia recesiva autosómica, donde ambos padres eran portadores recesivos de la microdeleción [35].

En el 4,7% de los casos con CNVs patogénicas por encima de 5 Mb, estos contaban con un estudio cromosómico convencional previo normal. Esto se podría deber a dos razones, la primera sería que el cariotipo no se realizó con los estándares de confiabilidad; y la segunda estaría en razón que algunas clonas con las anomalías cromosómicas tienden a desaparecer en el tiempo con el fin de corregir esos errores [36,37] y que el análisis cromosómico por micromatrices tiene una posibilidad de detectar mosaicismos con una mayor precisión.

Por otro lado, en un paciente se detectó un cromosoma marcador; sin embargo, el CMA resultó normal, lo cual se debería a que los marcadores utilizados en con esta plataforma no estarían ubicados en el cromosoma marcador, o que este sea conformado por más de un cromosoma, y la otra posibilidad es que el cromosoma

Tabla 2. Variantes en el número de copias de significado incierto raras que podrían ser clasificadas como probablemente patogénicas.

Paciente	Sexo	Nomenclatura CMA	Tipo	Tamaño (kpb)	Genes candidatos	Haploinsuficiencia o triplosensibilidad	Diagnóstico
16173	M	arr[hg19] 2q12.2q12.3(106,917,263-108,440,138)x3	Ganancia	1523		ER	Retraso psicomotor sintomático
16176	F	arr[hg19] 3q26.3q26.33(178,637,953-179,552,698)x3	Ganancia	915	PIK3CA, GNB4	ER	Retraso psicomotor sintomático
16219	F	arr[hg19] 17q21.31(44,188,450-44,789,831)x3	Ganancia	601	KANSL1	ER	DI sintomática
16256	F	arr[hg19] 20q13.33(60,594,885-61,187,232)x3	Ganancia	592	GATA5	ER	Persistencia del ductus arterioso, talla corta
16284	F	arr[hg19] 2q36.3(226,910,820-228,254,215)x3	Ganancia	1343	IRS1, COL4A4, COL4A3, MFF, TM4SF20	ER	CIA, CIV, facies dismórficas
16288	F	arr[hg19] 2q12.2q12.3(107,086,747-108,507,424)x3	Ganancia	1421			Retraso psicomotor sintomático
16188	F	arr[hg19] 10q25.1(110,420,129-111,128,992)x1	Pérdida	709			Hemihiperplasia, macrocefalia, máculas lineales, hemangiomas planos
17008	F	arr[hg19] Xp22.33(1,356,040-1,891,047)x1	Pérdida	535	CSF2RA, SLC25A6	ER	DI, hipomelanosis de Ito
17063	M	arr[hg19] 6q22.33(129,246,902-129,944,346)x1	Pérdida	697	LAMA2	4,68%	DI

Kpb: kilopares de bases; ER: en revisión; DI: discapacidad intelectual; CIA: comunicación interauricular; CIV: comunicación interventricular; F: sexo femenino; M: sexo masculino.

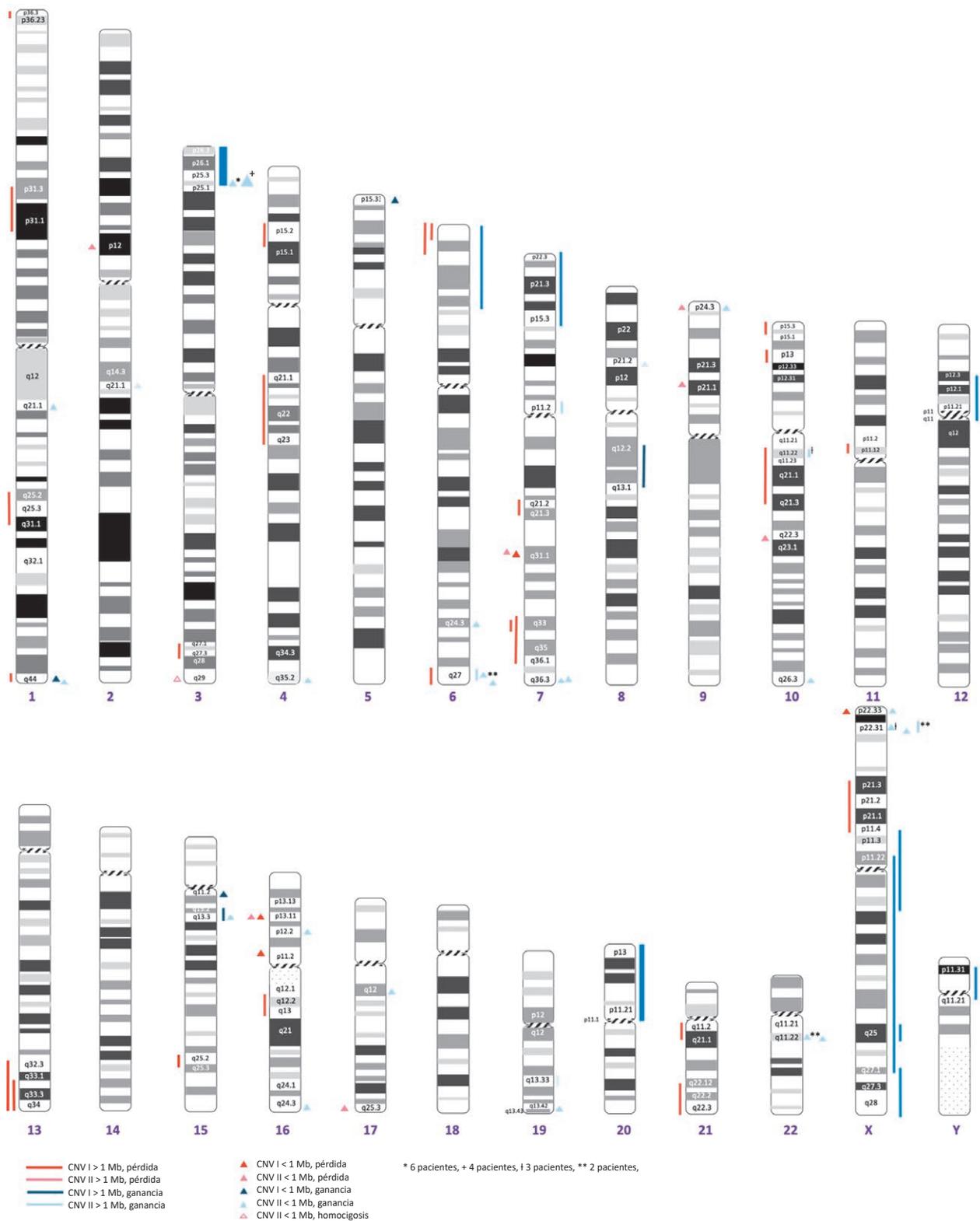
marcador este conformado sólo por heterocromatina [38]. Evaluando esta información, con los valores de sensibilidad y especificidad encontradas en este estudio (53,7% y 98,9%), y los valores predictivos positivo y negativo, asumiendo que el 1% de la población tiene un CNV patogénico [39]; se encontró que estos valores son muy similares a los encontrados por Saldarriaga et al (2015) donde la sensibilidad fue de 62,6 % (IC 95% 40,8%-80,2%) y la especificidad de 99,9% (IC 95% 99,8%-100,0%) [40].

Doce niños eran portadores heterocigotos del síndrome de hipoacusia/infertilidad (MIM # 611102) de herencia recesiva autosómica, causado por la variante en delección homocigota de los genes *STRC* y *CATSPER2* [41,42]. Según la ley de Hardy-Weinberg, el número de heterocigotos es de 3 por cada 100 personas y que la incidencia de los homocigotos estaría en 22,5/100 000 habitantes el cual estaría por encima de muchas entidades genéticas.

Por otro lado, este análisis muestra que los padres tenían más de 30 años de edad, lo que es coherente con lo mostrado por estudios previos, en los que se evidencia que la edad parental es un factor de riesgo [43,44].

Dentro de las limitaciones del estudio están la no realización del CMA a los padres de los niños con CNVs patogénicas, probablemente patogénicas o significado incierto, esta información hubiese sido importante para verificar si éstas fueron de *novo* o heredadas, evaluar la penetrancia, así como para la reclasificación de las CNVs de significado incierto. En ese mismo sentido, en el Perú no tenemos bases previas sobre la frecuencia de las CNVs en población en general.

El análisis cromosómico por micromatrices en niños que presentan retraso del desarrollo psicomotor, discapacidad intelectual, y síndrome malformativos; es una prueba que tiene una eficacia superior para determinar CNVs patogénicas o probablemente patogénicas a los test convencionales utilizados en nuestro medio (ej. cariotipo). Se ha observado una tasa de detección en el INSN, según la patología, entre el 47,0% y 54,5%. Estos resultados reflejan la necesidad de brindar el asesoramiento genético exacto, pues permitirá conocer el pronóstico de la entidad y realizar un manejo mucho más adecuado. En este sentido, esta información demuestra ser también superior al promedio reportado. Además, al detectar los ROH mayor a 2,56%



CNV: variantes en el número de copias, OMIM: *on line Mendelian Inheritance in Man*, Mb: mega pares de bases.

Figura 3. Ideograma con las CNVs patogénicas o probablemente patogénicas. Se ha excluido a CNVs que están registrados en el OMIM y aquellos como producto de un cromosoma derivado (material suplementario 1). Las líneas y los triángulos más gruesos y largos representan a triplicaciones.

Tabla 3. Tamaño de ROH y coeficiente de endogamia en los pacientes evaluados en el INSN.

Parentesco	Grado de relación	Coficiente de endogamia	Proporción teórica idéntica en descendientes	Rango de Mb	Promedio Mb	Rango de %	Número de pacientes en el INSN
Padres-hijos; hermanos	Primer	1/4	25,0%	540 1080	720	19,0 38,0	8
Tío-sobrino; primos de primer grado doble	Segundo	1/8	12,5%	270 539	360	9,4 19,0	1
Primos de primer grado	Tercer	1/16	6,2%	135 269	180	4,7 9,3	3
Primos de segundo grado	Cuarto	1/32	3,1%	68 134	90	2,4 4,7	13

ROH: regiones de homocigoidad; Mb: megapares de base; INSN: Instituto Nacional de Salud del Niño.

a través del CMA, identificamos que existe una consanguinidad no declarada hasta en dos veces lo reportado en otras regiones, lo cual podría estar relacionado a situaciones de abuso sexual intrafamiliar en nuestro medio. Sin embargo, existe un grupo de pacientes que no tuvieron diagnóstico etiológico, por lo que es de suma importancia implementar otras técnicas masivas como el secuenciamiento por paneles, exómico o genómico, así como una masificación de estas pruebas en otras instituciones de nuestro país.

Agradecimientos

A los padres de los pacientes que permitieron la recolección de los datos personales. A las Doctoras Anahí Venero Núñez y María del Carmen Castro Mujica, por su contribución valiosa en la sintaxis del manuscrito.

Contribuciones de autoría: todos los autores declaran haber participado en el diseño y concepción del estudio, la recolección y análisis de datos; así como en la elaboración y aprobación del manuscrito final para publicación. Así mismo, todos los autores se comprometen a responder sobre todos los aspectos del artículo de cara a asegurar que las cuestiones relacionadas con la exactitud o integridad de cualquier parte del trabajo están adecuadamente investigadas y resueltas.

Potenciales conflictos de interés. ninguno declarado por los autores.

Fuente de financiamiento: esta investigación se realizó con recursos propios del Instituto Nacional de Salud del Niño-Breña, perteneciente al Ministerio de Salud del Perú. No hubo ningún patrocinio por parte de Instituciones públicas, ni privadas.

ORCID

Hugo Hernán Abarca Barriga: <https://orcid.org/0000-0002-0276-2557>

Flor de Milagros Vásquez Sotomayor: <https://orcid.org/0000-0003-1695-0409>

Milana Trubnykova: <https://orcid.org/0000-0001-5254-0920>

Félix Chavesta Velásquez: <https://orcid.org/0000-0002-4441-9167>

Miguel Angel Chávez Pastor: <https://orcid.org/0000-0002-0852-3696>

Bertha Elena Gallardo Jugo: <https://orcid.org/0000-0002-4747-9325>

Julio Poterico Rojas: <https://orcid.org/0000-0001-7838-3505>

Nathaly Caballero Bedón: <https://orcid.org/0000-0002-0336-6396>

Jorge La Serna Infantes: <https://orcid.org/0000-0003-2270-7173>

Tania Vásquez Loarte: <https://orcid.org/0000-0002-8361-7668>

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Reiss AL. Childhood developmental disorders: an academic and clinical convergence point for psychiatry, neurology, psychology and pediatrics. *J Child Psychol Psychiatry*. 2009;50(1-2):87-98. doi: 10.1111/j.1469-7610.2008.02046.x.
- Brown KA, Parikh S, Patel DR. Understanding basic concepts of developmental diagnosis in children. *Transl Pediatr*. 2020;9(Suppl 1):S9-22. doi: 10.21037/tp.2019.11.04.
- Boat TF, Wu JT, Committee to Evaluate the Supplemental Security Income Disability Program for Children with Mental Disorders., et al. *Clinical Characteristics of Intellectual Disabilities*. Washington, DC: National Academies Press (US); 2015.
- Hodges H, Fealko C, Soares N. Autism spectrum disorder: definition, epidemiology, causes, and clinical evaluation. *Transl Pediatr*. 2020;9(Suppl 1):S55-65. doi: 10.21037/tp.2019.09.09.
- Cohen P, Rogol AD, Deal CL, Saenger P, Reiter EO, Ross JL, et al. Consensus statement on the diagnosis and treatment of children with idiopathic short stature: a summary of the Growth Hormone Research Society, the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society, and the European Society for Paediatric Endocrinology Workshop. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(11):4210-7. doi: 10.1210/jc.2008-0509.
- Rasmussen SA, Olney RS, Holmes LB, Lin A, Keppler-Noreuil KM, Moore CA, et al. Guidelines for case classification for the National Birth Defects Prevention Study. *Birt Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2003;67(3):193-201. doi: 10.1002/bdra.10012.
- Willemsen MH, Kleefstra T. Genetic diagnostics in intellectual disability: what is the benefit?. *Ned Tijdschr Geneeskd*. 2014;158:A8098.

8. Anazi S, Maddirevula S, Faqeih E, Alsedairy H, Alzahrani F, Shamseldin HE, et al. Clinical genomics expands the morbid genome of intellectual disability and offers a high diagnostic yield. *Mol Psychiatry*. 2017;4(22):615-24. doi: 10.1038/mp.2016.113.
9. Srivastava S, Love-Nichols JA, Dies KA, Ledbetter DH, Martin CL, Chung WK, et al. Meta-analysis and multidisciplinary consensus statement: exome sequencing is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with neurodevelopmental disorders. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet*. 2019;21(11):2413-21. doi: 10.1038/s41436-019-0554-6.
10. Katz G, Lazcano-Ponce E. Intellectual disability: definition, etiological factors, classification, diagnosis, treatment and prognosis. *Salud Pública México*. 2008;50(S2):s132-41. doi: 10.1590/S0036-36342008000800005.
11. Maenner MJ. Prevalence of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years — Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United States, 2016. *MMWR Surveill Summ*. 2020;69(4):1-12. doi: 10.15585/mmwr.ss6904a1.
12. Poletti OH, Barrios L. Estudio de prevalencia de talla baja y factores de riesgo relacionados en escolares de Corrientes (Argentina). *An Pediatría*. 2001;55(4):300-4. doi: 10.1016/S1695-4033(01)77689-8.
13. Stevenson R, Hall J, Everman D, Solomon B. *Human Malformations and Related Anomalies*. 3oed. Nueva York: Oxford University Press; 2015.
14. Guio H, Poterico JA, Levano KS, Cornejo-Olivas M, Mazzetti P, Manassero-Morales G, et al. Genetics and genomics in Peru: Clinical and research perspective. *Mol Genet Genomic Med*. 2018;6(6):873-86. doi: 10.1002/mgg3.533.
15. Carreira IM, Ferreira SI, Matoso E, Pires LM, Ferrao J, Jardim A, et al. Copy number variants prioritization after array-CGH analysis – a cohort of 1000 patients. *Mol Cytogenet*. 2015;8:103-11. doi: 10.1186/s13039-015-0202-z.
16. Riggs ER, Andersen EF, Cherry AM, Kantarci S, Kearney H, Patel A, et al. Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen). *Genet Med*. 2019;22:1-13. doi: 10.1038/s41436-019-0686-8.
17. Hu L, Yao X, Huang H, Guo Z, Cheng X, Xu Y, et al. Clinical significance of germline copy number variation in susceptibility of human diseases. *J Genet Genomics Yi Chuan Xue Bao*. 2018;45(1):3-12. doi: 10.1016/j.jgg.2018.01.001.
18. Sagoo GS, Butterworth AS, Sanderson S, Shaw-Smith C, Higgins JPT, Burton H. 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 Off J Am Coll Med Genet*. 2009;11(3):139-46. doi: 10.1097/GIM.0b013e318194ee8f.
19. Fan Y-S, Ouyang X, Peng J, Sacharow S, Tekin M, Barbooth D, et al. Frequent detection of parental consanguinity in children with developmental disorders by a combined CGH and SNP microarray. *Mol Cytogenet*. 2013;6:38-43. doi: 10.1186/1755-8166-6-38.
20. Pyeritz RE, Korf B, Grody WW. *Emery and Rimoin's Principles and Practice of Medical Genetics and Genomics: Foundations*. 7th ed. Academic Press; 2019.
21. Kaufman L, Ayub M, Vincent JB. The genetic basis of non-syndromic intellectual disability: a review. *J Neurodev Disord*. 2010;2(4):182-209. doi: 10.1007/s11689-010-9055-2.
22. Malinowski J, Miller DT, Demmer L, Gannon J, Pereira EM, Schroeder MC, et al. Systematic evidence-based review: outcomes from exome and genome sequencing for pediatric patients with congenital anomalies or intellectual disability. *Genet Med*. 2020;22:986-1004. doi: 10.1038/s41436-020-0771-z.
23. Hu G, Fan Y, Wang L, Yao R, Huang X, Shen Y, et al. Copy number variations in 119 Chinese children with idiopathic short stature identified by the custom genome-wide microarray. *Mol Cytogenet*. 2016;9:16. doi: 10.1186/s13039-016-0225-0.
24. Mefford HC, Batshaw ML, Hoffman EP. Genomics, Intellectual Disability, and Autism. *N Engl J Med*. 2012;366:733-43. doi: 10.1056/NEJMra1114194.
25. 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(5):749-64. doi: 10.1016/j.ajhg.2010.04.006.
26. Chiurazzi P, Pirozzi F. Advances in understanding – genetic basis of intellectual disability. *F1000Research*. 2016;5. doi: 10.12688/f1000research.7134.1.
27. Vissers LELM, Gilissen C, Veltman JA. Genetic studies in intellectual disability and related disorders. *Nat Rev Genet*. 2016;17(1):9-18. doi: 10.1038/nrg3999.
28. Thevenon J, Duffourd Y, Masurel-Paulet A, Lefebvre M, Feillet F, Chehadeh-Djebbar SE, et al. Diagnostic odyssey in severe neurodevelopmental disorders: toward clinical whole-exome sequencing as a first-line diagnostic test. *Clin Genet*. 2016;89(6):700-7. doi: 10.1111/cge.12732.
29. Lee JS, Hwang H, Kim SY, Kim KJ, Choi JS, Woo MJ, et al. Chromosomal Microarray With Clinical Diagnostic Utility in Children With Developmental Delay or Intellectual Disability. *Ann Lab Med*. 2018;38(5):473-80. doi: 10.3343/alm.2018.38.5.473.
30. 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(6):589-99. doi: 10.1016/j.ejpn.2013.04.010.
31. Pratte-Santos R, Ribeiro KH, Santos TA, Cintra TS. Analysis of chromosomal abnormalities by CGH-array in patients with dysmorphic and intellectual disability with normal karyotype. *Einstein*. 2016;14(1):30-4. doi: 10.1590/S1679-45082016AO3592.
32. McKay V, Efron D, Palmer EE, White SM, Pearson C, Danchin M. Current use of chromosomal microarray by Australian paediatricians and implications for the implementation of next generation sequencing. *J Paediatr Child Health*. 2017;53(7):650-6. doi: 10.1111/jpc.13523.
33. Nowakowska B. Clinical interpretation of copy number variants in the human genome. *J Appl Genet*. 2017;58(4):449-57. doi: 10.1007/s13353-017-0407-4.
34. Sotomayor FV, Abarca-Barriga HH. Homozygous Deletion of the CFTR Gene Caused by Interstitial Maternal Isodisomy in a Peruvian Child with Cystic Fibrosis. *J Pediatr Genet*. 2019;8(3):147-152. doi: 10.1055/s-0039-1678682.
35. La Serna-Infantes J, Chávez Pastor M, Trubnykova M, Velásquez FC, Vásquez Sotomayor F, Abarca Barriga H. Novel contiguous gene deletion in peruvian girl with Trichothiodystrophy type 4 and glutaric aciduria type 3. *Eur J Med Genet*. 2018;61(7):388-92. doi: 10.1016/j.ejmg.2018.02.004.
36. Disteche CM. How to correct chromosomal trisomy. *Cell Res*. 2013;23:1345-6. doi: 10.1038/cr.2013.135.
37. Plona K, Kim T, Halloran K, Wynshaw-Boris A. Chromosome therapy: Potential strategies for the correction of severe chromosome aberrations. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2016;172(4):422-30. doi: 10.1002/ajmg.c.31530.
38. Sun M, Zhang H, Li G, Guy CJ, Wang X, Lu X, et al. Molecular characterization of 20 small supernumerary marker chromosome cases using array comparative genomic hybridization and

- fluorescence in situ hybridization. *Sci Rep.* 2017;7:10395. doi: 10.1038/s41598-017-10466-z.
39. Martin CL, Kirkpatrick BE, Ledbetter DH. CNVs, Aneuploidies and Human Disease. *Clin Perinatol.* 2015;42(2):227-42. doi: 10.1016/j.clp.2015.03.001.
40. Saldarriaga W, García-Perdomo HA, Arango-Pineda J, Fonseca J. Karyotype versus genomic hybridization for the prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities: a metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2015;212(3):330.e1-10. doi: 10.1016/j.ajog.2014.10.011.
41. Zhang Y, Malekpour M, Al-Madani N, Kahrizi K, Zanganeh M, Lohr NJ, et al. Sensorineural deafness and male infertility: a contiguous gene deletion syndrome. *J Med Genet.* 2007;44(4):233-40. doi: 10.1136/jmg.2006.045765.
42. Karger L, Khan WA, Calabio R, Singh R, Xiang B, Babu A, et al. Maternal uniparental disomy of chromosome 15 and concomitant STRC and CATSPER2 deletion-mediated deafness-infertility syndrome. *Am J Med Genet A.* 2017;173(5):1436-9. doi: 10.1002/ajmg.a.38154.
43. Sharma R, Agarwal A, Rohra VK, Assidi M, Abu-Elmagd M, Turki RF. Effects of increased paternal age on sperm quality, reproductive outcome and associated epigenetic risks to offspring. *Reprod Biol Endocrinol RBE.* 2015;13:35-54. doi: 10.1186/s12958-015-0028-x.
44. Conti SL, Eisenberg ML. Paternal aging and increased risk of congenital disease, psychiatric disorders, and cancer. *Asian J Androl.* 2016;18(3):420-4. doi: 10.4103/1008-682X.175097.