

## **Análisis de alteraciones cromosómicas estructurales y su distribución por cromosomas en la serie de recién nacidos con defectos congénitos del ECEMC**

### **M.L. Martínez-Fernández**

*Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER). Madrid.  
ECEMC. Centro de Investigación sobre Anomalías Congénitas (CIAC), Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Ciencia e Innovación. Madrid.*

### **A. MacDonald**

*ECEMC. Centro de Investigación sobre Anomalías Congénitas (CIAC), Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Ciencia e Innovación. Madrid.*

### **I. Aceña**

*ECEMC. Centro de Investigación sobre Anomalías Congénitas (CIAC), Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Ciencia e Innovación. Madrid.*

### **E. Bermejo-Sánchez**

*Instituto de Investigación de Enfermedades Raras (IIER), Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Ciencia e Innovación. Madrid.*

*ECEMC. Centro de Investigación sobre Anomalías Congénitas (CIAC), Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Ciencia e Innovación. Madrid.*

*Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER). Madrid.*

### **Grupo Periférico del ECEMC**

*Se incluye en la Sección VIII de este Boletín.*

### **M. L. Martínez-Frías**

*ECEMC. Centro de Investigación sobre Anomalías Congénitas (CIAC), Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Ciencia e Innovación. Madrid.*

*Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER). Madrid.*

*Profa. Depto. de Farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid.*

Corresponsal: m.martinez@isciii.es

Bol ECEMC Rev Dismor Epidemiol VI (n.º 1): 66-82 (2011)

## **Summary**

### **Title: Analysis of the structural chromosomal anomalies and distribution by chromosomes in the ECEMC's series of newborn infants with congenital defects**

This study was aimed at estimating the frequency of unbalanced structural chromosomal anomalies identified in the consecutive series of newborn infants with congenital defects, registered in the Spanish Collaborative Study of Congenital Malformations (ECEMC). These cases were cytogenetically studied at its laboratory since 1981 up to December 2009. A total of 4,681 cases were studied following a protocol established by ECEMC program, which starts by performing a high resolution karyotype (550-850 bands), and if the results are normal, it is followed by the analysis of subtelomeric regions and depending on the clinical manifestations, some FISH and MLPA analyses were applied in order to also rule out microdeletion syndromes. The parents and other relatives were also studied when necessary, according to ECEMC's protocol. A total of 136 cases had unbalanced chromosomal structural anomalies. Data were analyzed either globally

or in two periods including the years 1981-1994, and 1995-2009 which are before and after starting the use of FISH techniques in the ECEMC's laboratory.

Among the 136 total cases having unbalanced structural anomalies, 71.32% were cytogenetically detected, and the remaining 28.68% by FISH. Each type of anomaly was distributed by involved chromosome separating those affecting **p** and **q** arms. In the group of cytogenetically detected anomalies, deletions (42.55% of cases) were 2.1 times more frequent than duplications (20.22%). Deletions affecting short arms were 3 times more frequent than duplications. Among cases detected by FISH techniques, deletions were 15.49 times more frequent than duplications, the 22q11.2 microdeletion being the most common (38.46% of the cases), followed by the deletions in chromosomes 15 (15.38%) and 4 (10.26%). Some of these alterations were identified by the clinical suspicion of their specific syndromes (Wolf-Hirschhorn, Prader-Willi, Williams-Beuren, Miller-Dieker, etc), and this could somehow bias their frequencies (see Table 3). In addition, some other unexpected microdeletion syndromes were detected such as two cases with microdeletion 1p36, one case with each of the following microdeletions: 2q23.1, 5q31, and a deletion 12q13.3-q21.2, including the region of the known microdeletion syndrome 12q14, but it is possible that may be other not hitherto identified.

To our knowledge, this study represents the first one analyzing the frequency of chromosomal alterations globally and by each one of the 23 chromosomes on a consecutive series of newborn infants with congenital defects which are detectable during the first three days of life. It is also remarkable that all the cases were studied with the same protocol and the same team of specialists.

**Palabras clave/Key words:** Alteraciones cromosómicas estructurales, distribución, cromosomas, ECEMC / Structural chromosomal alterations, distribution, chromosomes, ECEMC.

## INTRODUCCIÓN

A partir del año 1971 las técnicas de bandeado cromosómico se transformaron en la técnica citogenética estándar, ya que permitía detectar alteraciones estructurales mucho más pequeñas que con la tinción clásica. Son muchísimos los trabajos publicados (y que se siguen publicando) sobre diferentes tipos de alteraciones estructurales, tanto por exceso (duplicaciones) como por defecto (deleciones), referidas a uno o varios cromosomas, incluyendo las producidas *de novo* y derivadas de alteraciones balanceadas de origen parental<sup>1-6</sup>. En algunos trabajos se han estudiado los tipos de anomalías cromosómicas y sus frecuencias en series de pacientes de distintas procedencias, así como en casos de diagnóstico prenatal<sup>7-8</sup>, o de revisiones de la literatura<sup>9-10</sup>. Sin embargo, no hemos identificado trabajo alguno que analizara una muestra de recién nacidos consecutivos con defectos congénitos (mayores y/o menores) identificados al nacimiento, para calcular la frecuencia de los diferentes tipos de alteraciones identificadas en cada cromosoma y sus potenciales diferencias.

En este trabajo se muestran los resultados obtenidos en el laboratorio del ECEMC, sobre los recién nacidos con defectos congénitos que integran la base de datos del propio registro. El objetivo es analizar la frecuencia de alteraciones cromosómicas estructurales no balanceadas en cada cromosoma, con especial referencia a las pérdidas y ganancias como única alteración del cariotipo (“puras”), independientemente del mecanismo por el que se hayan producido.

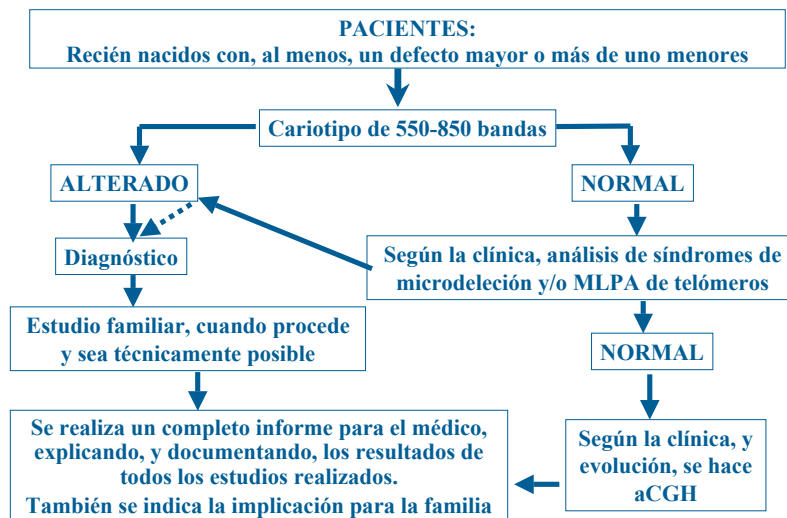
## MATERIAL Y MÉTODOS

El procedimiento que se sigue en el laboratorio del ECEMC, se basa en el siguiente protocolo (Esquema 1). De los recién nacidos que presenten, al menos, un defecto congénito mayor (generalmente grave), y dos o más defectos congénitos menores y/o leves (incluyendo el bajo peso para la edad gestacional y la hipotonía), se debe enviar sangre y/o tejidos al laboratorio. Una vez recibidas las muestras biológicas, el orden de procesos que se sigue es el siguiente:

1. Se realiza el estudio cromosómico de alta resolución (550-850 bandas).
2. Si el cariotipo fuera normal, pero las manifestaciones clínicas sugieren alguno de los síndromes de microdelección o de otro tipo (de los que existen sondas específicas), se estudian mediante las sondas de FISH o MLPA correspondientes.
3. Si lo anterior resulta normal y, más aún, si se sabe que tiene problemas del desarrollo neuro-motor, se realiza el estudio de las regiones subteloméricas mediante MLPA para tratar de descartar microdeleciones a ese nivel.
4. Finalmente, si lo anterior también fue normal, se sugiere la realización de un estudio de array-CGH (aCGH).
5. Si se detecta una alteración, se realiza el estudio de los padres, hermanos y otros familiares, si procede.

El laboratorio del ECEMC se inició en el año 1981 y, desde esa fecha hasta diciembre del año 2009, se ha realizado el estudio citogenético en 4.681 casos, que corresponden sólo a niños con defectos congénitos que integran la base de datos del ECEMC. No obstante, como las técnicas de FISH se iniciaron en el laboratorio en el año 1995, aunque los resultados que se muestran en este trabajo se han obtenido sobre el total de casos, también se reflejan los datos, y sus diferencias, en los dos periodos formados por el comprendido entre los años 1981-1994, en los que sólo se realizaban análisis de citogenética, y el 1995-2009, en el que ya se usaban también técnicas de FISH.

Esquema 1. Protocolo que se sigue en el ECEMC para la identificación de alteraciones cromosómicas como causa de defectos congénitos

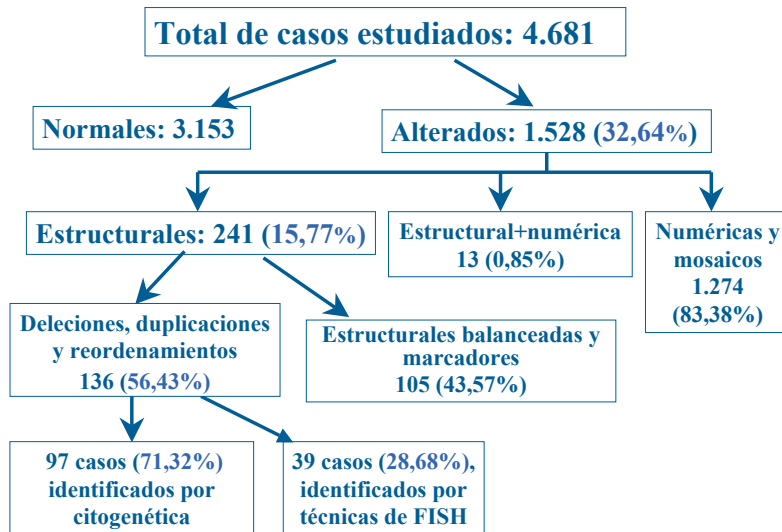


Para el análisis se han calculado los porcentajes de los diferentes tipos de alteraciones estructurales detectadas en los 136 casos, tanto en forma global como por cada uno de los cromosomas, especificando las que afectaron al brazo corto (p) y al brazo largo (q). El cálculo de los porcentajes se ha realizado en forma separada según si la alteración se detectó con bandas o si fue con técnicas de FISH, y en el total. Para las comparaciones se ha calculado la frecuencia relativa (FR), que se obtiene dividiendo los porcentajes que se desean comparar, y cuyo resultado indica las veces que uno de ellos es mayor (o menor) que el otro. El análisis de la ji-cuadrado de la tabla 2x2, nos da el nivel de significación estadística, que se ha establecido a partir de  $p < 0,01$ . Este análisis permite confirmar si las frecuencias de alteración de cada cromosoma, y las que afectan a cada brazo, difieren como cabría esperar, entre las dos técnicas, y cuáles son los cromosomas en los que con mayor frecuencia se observaron alteraciones estructurales que se detectan en los fetos que llegan a nacer.

## RESULTADOS

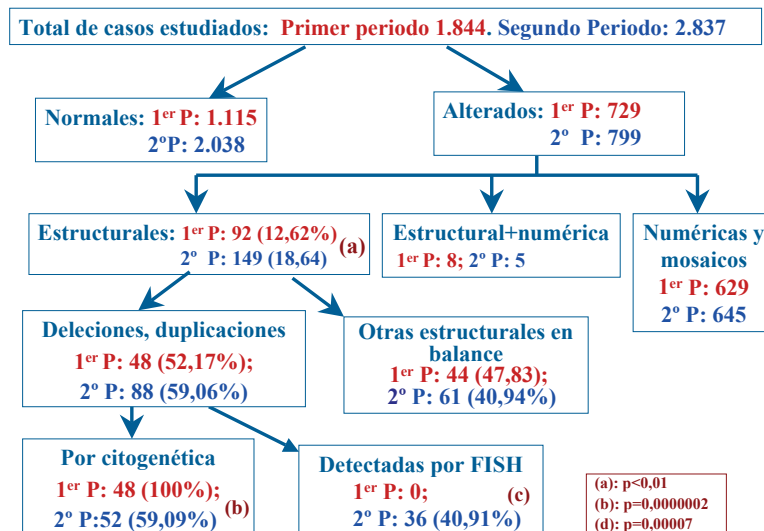
Del total de los 4.681 pacientes estudiados en todo el periodo (Esquema 2), en 1.528 (32,64%) se identificaron alteraciones cromosómicas que, como se observa en el Esquema 2, se separaron según el tipo de alteración en tres grupos: los 1.274 casos con anomalías numéricas (que representan el 83,38% de los casos con alteraciones cromosómicas), 241 casos (15,77%) con alteraciones estructurales, y un pequeño grupo que incluye 13 casos (0,85%) que presentan a la vez una alteración numérica y una estructural (fundamentalmente son trisomía 21, o monosomía X, que además tienen una alteración estructural de otro cromosoma, que puede estar en balance o en desbalance). Por último, el grupo con alteraciones estructurales se separó en los 105 casos que tenían alteraciones balanceadas de cualquier tipo (43,57% del total de estructurales), y los 136 casos restantes (excluyendo los que tenían alteraciones de los cromosomas sexuales) (56,43%) tenían alteraciones estructurales desbalanceadas. Estas últimas se separaron en 97 casos (71,32%) en los que la alteración se identificó por citogenética (alta resolución), y 39 (28,68%) en los que se detectó por FISH (incluyendo sondas de regiones específicas, MLPA y pintado cromosómico-WCP).

Esquema 2. Muestra estudiada (período 1981-2009) por resultados y técnicas



Con objeto de cuantificar las diferencias introducidas por el periodo en que se utilizan las técnicas de FISH, se hizo la misma distribución en dos periodos de tiempo: el primero que corresponde a los años 1981-1994 y el segundo desde que se empezaron a utilizar dichas técnicas, que corresponde al periodo 1995-2009 (Esquema 3). Como era de esperar, las diferencias entre los dos periodos, que son estadísticamente significativas, se corresponden con una mayor frecuencia de detección de alteraciones estructurales cuando se utilizan técnicas de FISH, esencialmente para los síndromes de microdelección. No obstante, es de destacar que durante el primer periodo se detectaron por citogenética deleciones y duplicaciones en el 48% de los casos con alteraciones estructurales. Una vez expuestos estos resultados, los siguientes análisis que se muestran se han realizado considerando globalmente los datos correspondientes a todo el periodo.

Esquema 3. Muestra estudiada en dos periodos de tiempo por resultados y técnicas



En la Tabla 1 se indican los tipos de alteraciones detectadas en los 97 casos diagnosticados mediante citogenética de alta resolución, distribuidas por cromosomas. En la primera columna se indican los cromosomas por su número; la segunda columna se

refiere a las deleciones observadas en cada cromosoma indicando si afectan al brazo corto o al largo; la tercera columna incluye las duplicaciones, indicando también si afectan al brazo corto o al largo; la cuarta y quinta columnas incluyen las alteraciones derivadas de diferentes reordenamientos cromosómicos (translocaciones no robertsonianas, reordenamientos complejos y anillos, así como las derivadas de inversiones e inserciones). La última columna indica el total de alteraciones estructurales observadas en cada uno de los cromosomas. En ella se puede apreciar que mediante el estudio citogenético de alta resolución se han observado alteraciones estructurales en todos los cromosomas, salvo en el cromosoma 20.

**Tabla 1. Distribución de los tipos de alteraciones estructurales identificadas por citogenética, en cada cromosoma**

Cromosomas autosómicos	CITOGENÉTICA						N.º total de alteraciones por citogenética
	Tipos y número de alteraciones identificadas						
	Deleciones		Duplicaciones		Derivados de translocación no robertsoniana y reordenamientos complejos, anillos	Derivados inversión, inserción, Ind/dup,	
	p-	q-	p+	q+			
1	1	0	0	1	0	0	2
2	2	3	1	2	0	2	10
3	0	0	0	0	1	0	1
4	7	1	2	2	0	1	13
5	7	1	0	0	3	2	13
6	0	2	1	1	1	0	5
7	0	1	0	0	0	0	1
8	0	0	1	0	1	2	4
9	3	0	0	0	1	0	4
10	2	1	0	1	1	2	7
11	0	0	0	0	1	1	2
12	0	0	0	0	2	0	2
13	0	2	0	0	0	0	2
14	0	0	0	0	2	0	2
15	0	0	0	2	1	0	3
16	0	0	1	0	0	0	1
17	0	0	1	1	2	0	4
18	0	4	0	1	2	1	8
19	0	0	0	0	0	1	1
20	0	0	0	0	0	0	0
21	0	0	0	1	1	3	5
22	0	3	0	0	1	0	4
<b>TOTAL N.º</b>	<b>22</b>	<b>18</b>	<b>7</b>	<b>12</b>	<b>20</b>	<b>15</b>	<b>94</b>
%	23,40	19,15	7,45	12,77			
%	<b>42,55</b>		<b>20,22</b>		<b>21,28</b>	<b>15,96</b>	<b>100%</b>
<b>Cromosoma X</b>	0	1	0	0	0	0	1
<b>Cromosoma Y</b>	0	1	0	0	1	0	2
<b>Gran TOTAL</b>	<b>23</b>	<b>22</b>	<b>7</b>	<b>10</b>	<b>24</b>	<b>14</b>	<b>97</b>

En los totales de la parte inferior de las columnas de la **Tabla 1**, se observa que la frecuencia total de deleciones es del 42,55%, y la de duplicaciones del 20,22%, lo que ofrece una  $FR=2,10$ , que es estadísticamente significativa ( $p<0,003$ ). Es decir, que en recién nacidos con defectos congénitos a los que se ha realizado estudio citogenético de alta resolución, se observan el doble de deleciones que de duplicaciones. Si se consideran sólo las alteraciones de los brazos cortos (p) de todos los cromosomas, se observa que la

delección se detectó en el 23,40%, de los casos, y la duplicación del brazo corto se presentó en el 7,45%, lo que supone una FR=3,14 ( $p<0,002$ ). Esto indica, que en los niños recién nacidos con defectos congénitos, las delecciones de los brazos cortos de los cromosomas, son 3 veces más frecuentes que las duplicaciones de los mismos, siendo el resultado estadísticamente significativo ( $p<0,003$ ). Por el contrario, las delecciones de los brazos largos sólo superan a las duplicaciones en 1,5 veces, una diferencia que no es estadísticamente significativa ( $p=0,23$ ). De esta tabla es de destacar la alta frecuencia de alteraciones observadas en los cromosomas 2, 4 y 5. Para los cromosomas 3, 7, 16 y 19 sólo se identificaron alteraciones en un caso, respectivamente.

Tabla 2. Distribución de los tipos de alteraciones estructurales identificadas por FISH en cada cromosoma

Cromosomas autosómicos	FISH: Tipos y números de alteraciones					N.º Total de alteraciones por FISH
	Delecciones		Duplicaciones		Derivados de translocación no robertsoniana, o inserción, anillos	
	p-	q-	p+	q+		
1	2	—	—	—	—	2
2	—	—	—	—	—	—
3	—	—	—	—	—	—
4	2	1	—	—	1	4
5	1	—	—	1	1	3
6	—	—	—	—	—	—
7	—	2	—	—	—	2
8	—	—	—	—	—	—
9	—	—	—	—	1	1
10	—	—	—	—	—	—
11	—	1	—	—	—	1
12	—	—	—	—	—	—
13	—	1	—	1	—	1
14	—	—	—	—	—	—
15	—	5	—	—	1	6
16	—	—	—	—	—	—
17	2	—	—	—	1	3
18	—	—	—	—	—	—
19	—	—	—	—	—	—
20	—	—	—	—	1	1
21	—	—	—	—	—	—
22	—	15	—	—	—	15
<b>Total</b>	<b>7</b>	<b>24</b>	<b>—</b>	<b>2</b>	<b>6</b>	<b>39</b>
<b>%</b>	<b>79,49%</b>		<b>5,13%</b>		<b>15,38%</b>	<b>100%</b>
<b>Cromosoma X</b>	—	—	—	—	0	0
<b>Cromosoma Y</b>	—	—	—	—	0	—
<b>Gran TOTAL</b>	<b>31</b>		<b>2</b>		<b>6</b>	<b>39</b>

En la Tabla 2, que tiene la misma estructura que la anterior, se muestran los mismos datos pero referidos a las alteraciones detectadas por técnicas de FISH, utilizadas tanto para detección de microdelecciones intersticiales como de alteraciones de las regiones subteloméricas. Los resultados del cálculo de las FR también muestran que las delecciones (79,49%) son 15,49 veces más frecuentes que las duplicaciones (5,13%), y que esa diferencia es estadísticamente muy significativa ( $p=0,0000001$ ). Sin embargo, al contrario de lo que se observa en la Tabla 1, las delecciones del brazo largo (q), son 3,29 veces más frecuentes ( $p<0,0002$ ) que las del brazo corto (p). No obstante, estos resultados están fuertemente influidos por los resultados de la microdelección 22q11.2, que representa el 38,46% de todas

las alteraciones de la **Tabla 2**, y la delección del cromosoma 15q asociada al síndrome de Prader-Willi. La alta frecuencia que se observa de la microdelección del brazo largo del cromosoma 22 se debe también a que en el ECEMC se suele analizar esa zona (con FISH) en los niños con cardiopatías congénitas que tienen cromosomas de alta resolución normales. De la misma forma, también se aplican las sondas comercializadas para el estudio de otros síndromes de microdelección cuando se sospechan por la clínica o por los resultados de citogenética. El resto de las alteraciones de la **Tabla 2** son mayoritariamente debidas a la aplicación de FISH o MLPA de las regiones subteloméricas, sin sospecha previa de una alteración determinada. En este punto es importante comentar que en este análisis no se han incluido los resultados que corresponden a variantes consideradas polimorfismos, como, por ejemplo, la que afecta a la región subtelomérica del cromosoma 2q.

La **Tabla 3** incluye el total de casos en los que se identificaron alteraciones estructurales en cada cromosoma, separados por los dos tipos de técnicas utilizadas, así como el total, junto con sus respectivos porcentajes. Estos datos muestran no sólo los cromosomas en los que se observó mayor frecuencia de alteraciones, sino su relación con la técnica utilizada. Así, en la columna del total se aprecia, en primer lugar, que se han detectado alteraciones en todos los cromosomas. La mayor frecuencia se observa en el cromosoma 22 (13,97%), seguida por los cromosomas 4 (12,50%) y 5 (11,74%), y es también destacable, que las alteraciones del cromosoma 2 (no polimórficas) representan el 4.º lugar (7,35%) en orden de frecuencia de esta columna.

**Tabla 3. Frecuencias de las alteraciones estructurales por cromosoma y por tipo de técnica utilizada**

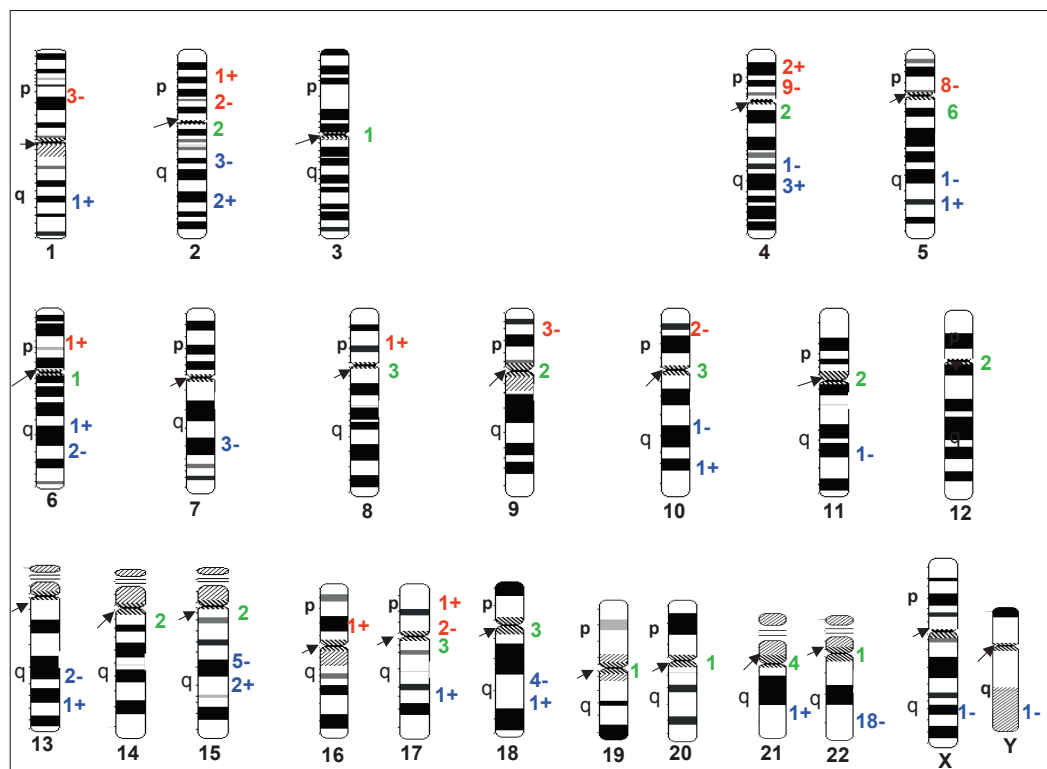
	N.º Total de alteraciones por citogenética		Alteraciones detectadas por FISH		TOTAL	
	N.º	%	N.º	%	N.º	%
1	2	2,12	2	5,13	4	2,94
2	10	10,63	0	—	10	7,35
3	1	1,06	0	—	1	0,73
4	13	13,83	4	10,26	17	12,50
5	13	13,83	3	7,69	16	11,74
6	5	5,31	0	—	5	3,68
7	1	1,06	2	5,13	3	2,21
8	4	4,25	0	—	4	2,94
9	4	4,25	1	2,56	5	3,68
10	7	7,44	0	—	7	5,15
11	2	2,12	1	2,56	3	2,21
12	2	2,12	0	—	2	1,47
13	2	2,12	1	2,56	3	2,21
14	2	2,12	0	—	2	1,47
15	3	3,19	6	15,38	9	6,62
16	1	1,06	0	—	1	0,73
17	4	4,25	3	7,69	7	5,15
18	8	8,51	0	—	8	5,88
19	1	1,06	0	—	1	0,73
20	0	—	1	2,56	1	0,73
21	5	5,32	0	—	5	3,68
22	4	4,25	15	38,46	19	13,97
<b>TOTAL N.º</b>	<b>94</b>	<b>100</b>	<b>39</b>	<b>100</b>	<b>136</b>	<b>100</b>
<b>Cromosoma X</b>	1		0		1	
<b>Cromosoma Y</b>	2		0		2	
<b>Gran TOTAL</b>	<b>97</b>		<b>39</b>		<b>139</b>	



Sin embargo, el orden de frecuencias no es igual en cada técnica utilizada; con el análisis de citogenética de alta resolución, los tres cromosomas más frecuentemente alterados, en orden decreciente, son: el 4 y 5 que tienen la misma frecuencia y representa el 13,83% del total; el segundo lugar corresponde al cromosoma 2 (10,63%) y en tercer lugar el cromosoma 18 (8,51%). Mediante técnicas de FISH la máxima frecuencia es la ya comentada del cromosoma 22 (38,46%), y le siguen muy de lejos el cromosoma 15 (15,38%) y el cromosoma 4 (10,26%). Sin tener en cuenta los cromosomas 22, 4 y 5, como cabría esperar tras el uso de las técnicas de FISH, los porcentajes más altos de esta columna corresponden a los cromosomas en los que se encuentran los síndromes de microdelección más frecuentes y mejor conocidos. Entre ellos, las alteraciones detectadas en los cromosomas 7, 15 y 17, que son las siguientes: los dos casos con el cromosoma 7 alterado corresponden al síndrome de Williams-Beuren (delección 7q11.23), seis de los casos con alteración del cromosoma 15 son síndrome de Prader-Willi (delección 15q11-q13), y los tres del 17 son Miller-Dieker (delección 17p13.3), algunos de los cuales fueron analizados por sospecha clínica. Por tanto, sus frecuencias muy posiblemente pueden estar sobreestimadas porque se aplicó el análisis específico para esos síndromes tras la sospecha clínica. Otros resultados del estudio con FISH, como por ejemplo, los de los cromosomas 11 y 13, fueron detectados mediante el análisis de las regiones subteloéricas (11q- y 13q+).

En la columna del total de la **Tabla 3**, también se aprecia que, cuando se analizan juntos los resultados por citogenética y por técnicas de FISH, se detectaron alteraciones en todos los cromosomas, incluidos los cromosomas sexuales. Los únicos cromosomas para los que se observó un solo paciente con alteración en cada uno tras el estudio citogenético fueron: los cromosomas 3, 16, 19 y 20 (consistente este último en una duplicación derivada de una translocación).

**Figura 1.** Distribución de las duplicaciones y deleciones detectadas en cada cromosoma (según **Tablas 1 y 2**). En rojo se representan las que afectan al brazo corto y en azul las del brazo largo, el signo + indica duplicación y el - delección. En verde se indican el resto de alteraciones por derivados. Las flechas indican los centrómeros.



En cuanto a las alteraciones de los cromosomas 4 y 5, hay que comentar que mientras todos los casos con alteraciones en el brazo corto de esos dos cromosomas detectados por citogenética (Tabla 1) corresponden a los síndromes 4p- y 5p- (Wolf-Hirschhorn y Cri-du-Chat, respectivamente), no lo son todos los identificados por FISH ni se detectaron por sospecha clínica de esos síndromes. Así, en los cuatro niños en los que por FISH se detectaron alteraciones en el cromosoma 4, dos tenían deleciones subteloméricas (4p- y 4q-), un caso presentaba una deleción terminal del brazo corto que incluía la parte final de la región del síndrome de Wolf-Hirschhorn, y el otro caso es un derivado de una translocación de origen paterno. De los tres casos con alteraciones del cromosoma 5 detectados por FISH, uno tenía el síndrome de Cri-du-chat, otro una duplicación 5q31-qter, observada por citogenética, que se confirmó mediante un pintado completo del cromosoma, y el tercero derivado de una translocación 5-11.

Por último, en la Figura 1, que muestra los ideogramas de cada cromosoma, se indica el número de casos que presentan alteraciones en cada cromosoma. Con color rojo se identifican las que afectan al brazo corto y con azul las del brazo largo. Un signo “+” indica exceso y un signo “-” defecto. Por último, con un número verde se indican otros reordenamientos independientemente del brazo al que afecten. De esta forma, se pueden visualizar los tipos de alteraciones y su cantidad, que se han detectado en cada cromosoma.

## DISCUSIÓN

Dada la alta resolución de las nuevas técnicas de citogenética molecular, son muchos los trabajos en los que se vienen describiendo diferentes alteraciones estructurales submicroscópicas, por lo que sería muy prolijo enumerarlos. En algunos se ofrecen cifras de porcentajes calculadas sobre diferentes series de pacientes seleccionados por distintas características como: estudios de diagnóstico prenatal por diferentes causas<sup>7-8,11-13</sup>, en productos de interrupciones voluntarias de la gestación y/o necropsias por defectos fetales<sup>14,15</sup>, en cribados de las regiones subteloméricas de pacientes con retraso mental<sup>16</sup> y en estudios de metanálisis sobre trabajos publicados<sup>17</sup>, entre otros, de los que se hace referencia a algunos de los más recientes en este artículo.

En general, las frecuencias de alteraciones estructurales que se ofrecen en los distintos trabajos presentan magnitudes muy diferentes, y tamaños de muestras muy variables, aunque generalmente muy pequeños, siendo lo más habitual ofrecer las frecuencias por tipo de alteración, como duplicaciones, deleciones, anillos o por el nombre del síndrome (Prader-Willi, Miller-Dieker...). Últimamente, se está produciendo un incremento casi exponencial del número de artículos en los que se describen nuevas alteraciones submicroscópicas y síndromes de microdeleción y de microduplicación<sup>18</sup>. Con frecuencia, estos estudios tienen deficiencias debidas a la selección de los casos, a la inclusión de casos con diferentes edades, así como a la variabilidad en la terminología y descripción clínica que presentan. Estos aspectos son especialmente importantes, porque no sólo pueden estar influidos por las edades de los pacientes, sino por el detalle con el que se realizan las descripciones clínicas, y por la habilidad y experiencia de los profesionales que realizan la exploración y descripción de los pacientes.

No hemos encontrado trabajo alguno sobre la frecuencia de alteraciones cromosómicas analizadas en series consecutivas de recién nacidos con defectos congénitos, o sobre otros tipos de series no sesgadas, que analicen las alteraciones para cada cromosoma. No obstante, esto no es extraño, ya que no es fácil estudiar una población no sesgada y suficientemente grande, para detectar alteraciones cromosómicas que son muy poco frecuentes. En el ECEMC, la muestra que analizamos es sobre recién nacidos consecutivos con defectos congénitos, y todos los casos han sido estudiados con el mismo sistema, y por los mismos profesionales. Además, como se realiza en recién nacidos que presentan alteraciones del desarrollo prenatal, resulta muy eficaz y efectivo desde el punto de vista sanitario, ya que la causa más frecuente de las alteraciones del desarrollo son precisamente las anomalías

cromosómicas. En nuestros datos, de un total de 8.390 niños en los que se llegó a identificar la causa de sus defectos, incluyendo todos los tipos de factores causales (genéticos, cromosómicos y ambientales), el 41,33% fueron causados por alteraciones cromosómicas.

Una de las dificultades y de las potenciales deficiencias que puede tener el análisis de nuestros datos es que no se recibieron muestras de todos los casos del ECEMC que cumplían el criterio para ser objeto de estudio citogenético. También cabe la posibilidad de que la presencia de algunos rasgos clínicos hiciera sospechar al pediatra-neonatólogo que pudiera tener alguno de los síndromes de microdelección, y se seleccionen más esos pacientes para la realización del estudio cromosómico. Igualmente, es posible que en los recién nacidos con malformaciones y/o defectos congénitos graves que nacen muertos o mueren al nacer sea más fácil no recoger muestras para estudio cromosómico. No obstante, y teniendo presentes estas limitaciones, los resultados que se muestran en este trabajo representan una aproximación al análisis de la frecuencia con la que se observan alteraciones en cada uno de los cromosomas, en niños recién nacidos consecutivos con defectos congénitos. Unos resultados que, con las técnicas utilizadas, muestran que las alteraciones de la estructura de cada cromosoma no tienen la misma frecuencia al nacimiento. Además, se han separado las deleciones y duplicaciones que consideramos “puras”, de las que proceden de reordenamientos cromosómicos. Esto ha permitido confirmar y cuantificar también, que esas deleciones son más frecuentes que las duplicaciones en niños con anomalías congénitas. Un resultado conocido, aunque no previamente cuantificado con estas técnicas, y que se ha empezado cuantificar en estudios recientes con técnicas moleculares en los gametos masculinos. Previamente, se habían elaborado algunas hipótesis, como la dificultad para su identificación, ya que tecnológicamente era más fácil detectar las microdeleciones con técnicas de FISH que las microduplicaciones. No obstante, con la generalización del uso del aCGH, esa dificultad disminuye drásticamente y, de hecho, ya se está produciendo un incremento espectacular en la detección de microduplicaciones. Otra de las dificultades se basa en que las manifestaciones clínicas de las microduplicaciones tienden a ser menos graves que sus recíprocas microdeleciones. Para los interesados en estos aspectos, en un número de la revista *Am J Med Genet* publicado en el año 2010, se incluye una sección especial sobre los síndromes de microdelección, constituida por una Introducción y cuatro artículos cuya referencia, incluyendo las páginas de los cinco es: *Am J Med Genet* 2010; 152A:1.063-1.110.

Cabe la posibilidad de que algunas alteraciones de ciertos cromosomas sean más letales que otras, lo que explicaría muchas de las diferencias entre ellos. Incluso, que en un pequeño grupo de cromosomas sólo se observen, y con muy baja proporción, alteraciones que con mayor frecuencia no son “puras”. Por ejemplo, en los cromosomas 3, 16, 19 y 20 (Tabla 3), para los que sólo se identificó un caso respectivamente, sus alteraciones se debían a: en el cromosoma 3 se trataba de un derivado de translocación; en el 19 un derivado de inserción de origen materno, y en el 20 un derivado de translocación; sólo en el cromosoma 16 se observó un exceso en el brazo corto. No obstante, cabe también la posibilidad de que en los cromosomas con menos alteraciones, éstas sean de mucho menor tamaño y no se detecten con las técnicas utilizadas. Una posibilidad que, en cierto modo, se ve apoyada por los resultados que se están publicando de estudios realizados con array-CGH<sup>18-20</sup>. De hecho, y aunque estas técnicas aún presentan algún problema de interpretación, está habiendo un gran incremento de publicaciones sobre microdeleciones patológicas detectadas por array-CGH.

Dado que durante los últimos años se vienen reconociendo cada vez más síndromes de microdelección y microduplicación, en el Cuadro 1 se indican los más reconocidos de la literatura, incluyendo también los que se encuentran en la base de datos DECIPHER (*Database Chromosomal Imbalances and Phenotype in Humans*) (<https://decipher.sanger.ac.uk>) como síndromes de microdelección y microduplicación.

Cuadro 1. Síndromes de microdelección/duplicación descritos

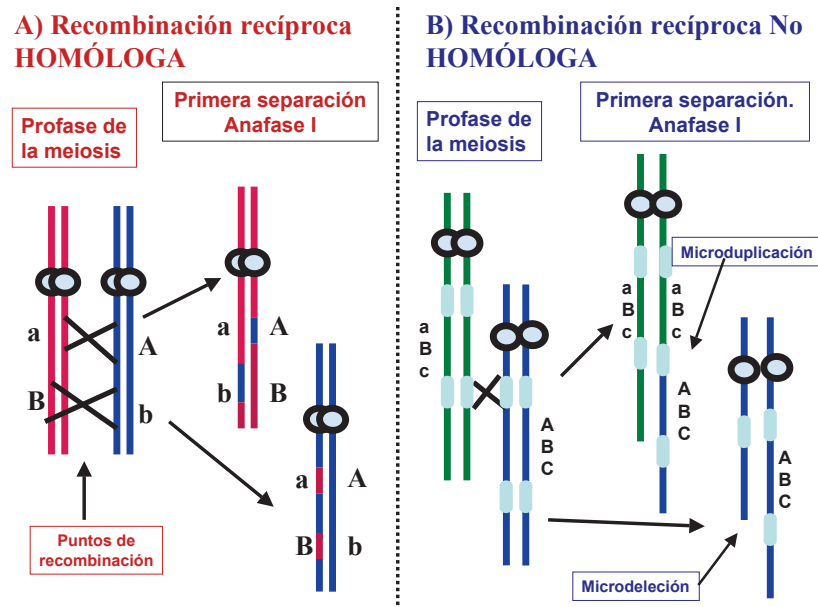
Cromosoma y región	Referencias
1p36-	21, 32, 33
1q14-42-	21
2p15-16.1-	34,35
2q23.1-	18, 23,24
2q31.1-	22,
3q24-25	36
3q29-/+	37, 38
4p14-p15.32-	39
4q21-	40
5q12.1-	41
5q31.3-	25, 26, 42
6q14.1-q15 -	43
6q25.3-29.3-	44
7q12.23-/+	45,
8p12-21-	46, 47
8p23.1-	48
9q22.32+	49, 50
9q34-	27, 51
10p11.12	52
10q22-23-/+	53
12q14-	54, 55
13q21-	56
14q-	57,
15q11.2-/15q13.3	58, 59, 60
15q24-	61, 62
16p11.2-12.2+	63, 64
16p13.3+	65
17p13.3-/+	66, 67
17q12-	68, 69
17q21.31-	70
18q21.2q21.33	71, 72
19q13.11+	73

Tras la revisión de la literatura, podemos considerar que de las alteraciones estructurales que se han identificado en los casos del ECEMC incluidas en las tablas 1 y 2, los tres casos con deleciones 1p tienen en realidad un síndrome ya reconocido como de microdelección 1p36<sup>21-22</sup>. Dos de los tres casos en los que el cromosoma 2 presenta una deleción del brazo largo, uno es un síndrome de microdelección 2q23.1<sup>23</sup> y, muy posiblemente, el otro sea un síndrome de microdelección 2q33.1<sup>24</sup>. Del total de alteraciones del cromosoma 5, el único caso que presenta una deleción 5q corresponde al síndrome de microdelección 5q31<sup>25-26</sup>, y aunque la deleción en nuestro caso es más grande al afectar a la región q23.1-q32, es igual a la de alguno de los siete casos con este síndrome de microdelección descritos en la literatura hasta la fecha<sup>26</sup>. Por último, las dos únicas alteraciones que hemos identificado en el cromosoma 12 son derivadas de una translocación, y una de ellas afecta al brazo largo, concretamente a la región 12q13.3-21.2, que incluye la zona del síndrome de microdelección 12q14<sup>27</sup>, por lo que podría encuadrarse entre los diferentes tamaños de la microdelección de este síndrome. Estos siete casos que se pueden considerar síndromes de microdelección, y que no se sospecharon previamente, representan el 5,15% de las alteraciones estructurales no balanceadas. Además, cinco de los siete casos fueron identificados por citogenética de alta resolución, aunque esta posibilidad va a depender del tamaño que tenga la región afectada y de la mayor resolución que se logre en el estudio.

Desde la identificación de la gran cantidad de variaciones en el número de copias ganadas y perdidas (llamadas CNV de sus siglas en inglés *Copy Number Variations*) que contiene el genoma humano<sup>28</sup>, que se consideran como polimorfismos, han sido numerosos los estudios realizados sobre estas variaciones tanto para tratar de dilucidar su función, como para determinar si sus cambios se relacionan con efectos patológicos.

Aunque estos aspectos quedan fuera del objetivo de este trabajo, es importante comentar brevemente que ya se ha identificado que ciertas CNV pueden afectar la expresión génica, tanto de genes localizados en su misma zona como en las zonas adyacentes<sup>29-30</sup>. En este sentido, es de destacar que ciertas zonas flanqueadas por algunos tipos de CNV son susceptibles de producir deleciones y duplicaciones. Es más, uno de los mecanismos de producción de microdeleciones y microduplicaciones (y sus respectivos síndromes) es que se produzcan recombinaciones no homólogas que se ven favorecidas en las regiones que están flanqueadas por algunos tipos de CNV<sup>31</sup>. Estos tipos de recombinaciones no homólogas producen, por un lado, una microdelección, y por otro, su recombinación recíproca dará lugar a una microduplicación (Figura 2). Además, se puede apreciar en el Cuadro 1, en el que las mismas regiones se ven afectadas tanto por su ausencia como por su duplicación.

Figura 2. Esquema de los tipos de recombinación entre cromosomas homólogos. Panel A: recombinación homóloga. Se produce entre partes homólogas de cromosomas homólogos. Panel B: recombinación no homóloga. Se produce entre partes no homólogas de cromosomas homólogos. Estas dan lugar a dos tipos de alteraciones recíprocas: una microdelección y su recíproca microduplicación



Dadas las dificultades que existen para disponer de muestras adecuadas que permitan no sólo la detección de estas pequeñas alteraciones del genoma, sino sus frecuencias y el espectro clínico que producen, en un reciente trabajo Berg y cols.<sup>18</sup>, comentan que *una buena y controlada base de datos que recoja en forma uniforme los resultados moleculares y la información clínica, puede tener un gran impacto en la comprensión de estas alteraciones raras*. El grupo del ECEMC cumple ampliamente estos requisitos, aunque se debe insistir en la necesidad de aplicar estrictamente la normativa de realizar el estudio citogenético a todos los casos susceptibles según la definición establecida en el Manual Operacional.

Como conclusión y a la vista de los resultados de este análisis, es necesario insistir en que el estudio de todo niño que presente defectos congénitos (del tipo que sean), se debe empezar por un estudio de citogenética de alta resolución (no menos de 550-850 bandas), y seguir el protocolo indicado en el [esquema 1](#). Esta es la única forma de rentabilizar los recursos, sobre todo mientras que las técnicas nuevas no sean menos costosas de lo que todavía son desde el punto de vista económico.

## REFERENCIAS

1. Cyrus C, Kaur H, Koshy T, Thankanadar J, Nallathambi C. A de novo reciprocal t(2;18) translocation with regular trisomy 21. *Genet Test*. 2007;11:459-462.
2. Su PH, Chen JY, Tsao TF, Chen SJ. De novo interstitial deletion of chromosome 2 (p23p24). *Pediatr Neonatol*. 2011;52:46-50.
3. Tyshchenko N, Hackmann K, Gerlach EM, Neuhaus T, Schrock E, Tinschert S. 1.6Mb deletion in chromosome band 3q29 associated with eye abnormalities. *Eur J Med Genet*. 2009;52:128-130.
4. Bonaglia MC, Ciccone R, Gimelli G, Gimelli S, Marelli S, Verheij J, Giorda R, Grasso R, Borgatti R, Pagone F, Rodríguez L, Martínez-Frías ML, Van Ravenswaaij C, Zuffardi O. Detailed phenotype-genotype study in five patients with chromosome 6q16 deletion: narrowing the critical region for Prader-Willi-like phenotype. *Eur J Hum Genet*. 2008;16:1443-1449.
5. MacDonald AH, Rodríguez L, Aceña I, Martínez-Fernández ML, Sánchez-Izquierdo D, Zuazo E, Martínez-Frías ML. Subtelomeric deletion of 12p: description of a third case and review. *Am J Med Genet A*. 2010;152A:1561-1566.
6. Rogers JF. Clinical delineation of proximal and distal partial 13q trisomy. *Clin Genet*. 1984;25:221-229.
7. Cerrillo Hinojosa M, Yerena de Vega MC, González Panzzi ME, Godoy H, Galicia J, Gutiérrez Nájara A. Genetic amniocentesis in high-risk populations. Experience in 3081 cases. *Ginecol Obstet Mex*. 2009;77:173-182.
8. Park SY, Kim JW, Kim YM, Kim JM, Lee MH, Lee BY, Han JY, Kim MY, Yang JH, Ryu HM. Frequencies of fetal chromosomal abnormalities at prenatal diagnosis: 10 years experiences in a single institution. *J Korean Med Sci*. 2001;16:290-293.
9. Kim SS, Jung SC, Kim HJ, Moon HR, Lee JS. Chromosome abnormalities in a referred population for suspected chromosomal aberrations: a report of 4117 cases. *J Korean Med Sci*. 1999;14:373-376.
10. Bateman MS, Mehta SG, Willatt L, Selkirk E, Bedwell C, Zwolinski S, Sparnon L, Simonic I, Abbott K, Barber JC. A de novo 4q34 interstitial deletion of at least 9.3 Mb with no discernible phenotypic effect. *Am J Med Genet A*. 2010;152A:1764-1769.
11. Leung TY, Vogel I, Lau TK, Chong W, Hyett JA, Petersen OB, Choy KW. Identification of submicroscopic chromosomal aberrations in fetuses with increased nuchal translucency and an apparently normal karyotype. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2011 Mar 11. doi: 10.1002/uog.8988. [Epub ahead of print]
12. Evangelidou P, Sismani C, Ioannides M, Christodoulou C, Koumbaris G, Kallikas I, Georgiou I, Velissariou V, Patsalis PC. Clinical application of whole-genome array CGH during prenatal diagnosis: Study of 25 selected pregnancies with abnormal ultrasound findings or apparently balanced structural aberrations. *Mol Cytogenet*. 2010;3:24.
13. Kjaergaard S, Sundberg K, Jørgensen FS, Rohde MD, Lind AM, Gerdes T, Tabor A, Kirchhoff M. Diagnostic yield by supplementing prenatal metaphase karyotyping with MLPA for microdeletion syndromes and subtelomere imbalances. *Prenat Diagn*. 2010;30:995-999.
14. Garne E, Khoshnood B, Loane M, Boyd P, Dolk H; EUROCAT Working Group. Termination of pregnancy for fetal anomaly after 23 weeks of gestation: a European register-based study. *BJOG*. 2010;117:660-666.
15. Wu Y, Ji T, Wang J, Xiao J, Wang H, Li J, Gao Z, Yang Y, Cai B, Wang L, Zhou Z, Tian L, Wang X, Zhong N, Qin J, Wu X, Jiang Y. Submicroscopic subtelomeric aberrations in Chinese patients with unexplained developmental delay/mental retardation. *BMC Med Genet*. 2010;11:72.
16. Hillman SC, Pretlove S, Coomarasamy A, McMullan DJ, Davison EV, Maher ER, Kilby MD. Additional information from array comparative genomic hybridization technology over conventional karyotyping in prenatal diagnosis: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2011;37:6-14. Review.
17. Faas BH, Van der Burgt I, Kooper AJ, Pfundt R, Hehir-Kwa JY, Smits AP, De Leeuw N. Identification of clinically significant, submicroscopic chromosome alterations and UPD in fetuses with ultrasound anomalies using genome-wide 250k SNP array analysis. *J Med Genet*. 2010;47:586-594.
18. Berg JS, Potocki L, Bacino CA. Common recurrent microduplication syndromes: Diagnosis and management in clinical practice. *Am J Med Genet* 2010;152A:1066-1078.
19. Shaffer LG, Bejjani BA. Medical applications of array CGH and the transformation of clinical cytogenetics. *Cytogenet Genome Res*. 2006;115:303-309. Review.
20. Ullmann R, Turner G, Kirchhoff M, Chen W, Tonge B, Rosenberg C, Field M, Vianna-Morgante AM, Christie L, Krepischi-Santos AC, Banna L, Brereton AV, Hill A, Bisgaard AM, Müller I, Hultschig C, Erdogan F, Wiczorek G, Ropers HH. Array CGH identifies reciprocal 16p13.1 duplications and deletions that predispose to autism and/or mental retardation. *Hum Mutat*. 2007;28:674-682.
21. Rosenfeld JA, Crolla JA, Tomkins S, Bader P, Morrow B, Gorski J, Troxell R, Forster-Gibson C, Cilliers D, Hislop RG, Lamb A, Torchia B, Ballif BC, Shaffer LG. Refinement of causative genes in monosomy

- 1p36 through clinical and molecular cytogenetic characterization of small interstitial deletions. *Am J Med Genet A*. 2010;152A:1951-1959.
22. Dimitrov B, Balikova I, De Ravel T, Van Esch H, De Smedt M, Baten E, Vermeesch JR, Bradinova I, Simeonov E, Devriendt K, Fryns JP, Debeer P. 2q31.1 microdeletion syndrome: redefining the associated clinical phenotype. *J Med Genet*. 2011;48:98-104.
  23. Urquhart J, Black GC, Clayton-Smith J. 4.5 Mb microdeletion in chromosome band 2q33.1 associated with learning disability and cleft palate. *Eur J Med Genet*. 2009;52:454-457.
  24. Balasubramanian M, Smith K, Basel-Vanagaite L, Feingold MF, Brock P, Gowans GC, Vasudevan PC, Cresswell L, Taylor EJ, Harris CJ, Friedman N, Moran R, Feret H, Zackai EH, Theisen A, Rosenfeld JA, Parker MJ. Case series: 2q33.1 microdeletion syndrome--further delineation of the phenotype. *J Med Genet*. 2011;48:290-298.
  25. Rosenfeld JA, Drautz JM, Clericuzio CL, Cushing T, Raskin S, Martin J, Tervo RC, Pitarque JA, Nowak DM, Karolak JA, Lamb AN, Schultz RA, Ballif BC, Bejjani BA, Gajicka M, Shaffer LG. Deletions and duplications of developmental pathway genes in 5q31 contribute to abnormal phenotypes. *Am J Med Genet A*. 2011;155:1906-1916.
  26. Shimojima K, Isidor B, Le Caignec C, Kondo A, Sakata S, Ohno K, Yamamoto T. A new microdeletion syndrome of 5q31.3 characterized by severe developmental delays, distinctive facial features, and delayed myelination. *Am J Med Genet A*. 2011;155A:732-736.
  27. Lynch SA, Foulds N, Thuresson AC, Collins AL, Annerén G, Hedberg BO, Delaney CA, Iremonger J, Murray CM, Crolla JA, Costigan C, Lam W, Fitzpatrick DR, Regan R, Ennis S, Sharkey F. The 12q14 microdeletion syndrome: six new cases confirming the role of HMGA2 in growth. *Eur J Hum Genet*. 2011;19:534-539.
  28. Redon R, Ishikawa S, Fitch KR, Feuk L, Perry GH, Andrews TD, Fiegler H, Shaper MH, Carson AR, Chen W, Cho EK, Dallaire S, Freeman JL, González JR, Gratacòs M, Huang J, Kalaitzopoulos D, Komura D, MacDonald JR, Marshall CR, Mei R, Montgomery L, Nishimura K, Okamura K, Shen F, Somerville MJ, Tchinda J, Valsesia A, Woodwark C, Yang F, Zhang J, Zerjal T, Zhang J, Armengol L, Conrad DF, Estivill X, Tyler-Smith C, Carter NP, Aburatani H, Lee C, Jones KW, Scherer SW, Hurles ME. Global variation in copy number in the human genome. *Nature*. 2006;444:444-454.
  29. Merla G, Howald C, Henrichsen CN, Lyle R, Wyss C, Zobot MT, Antonarakis SE, Reymond A. Submicroscopic deletion in patients with Williams-Beuren syndrome influences expression levels of the nonhemizygous flanking genes. *Am J Hum Genet*. 2006;79:332-341.
  30. Rodríguez L, Zollino M, Mansilla E, Martínez-Fernández ML, Pérez P, Murdolo M, Martínez-Frías ML. The first 4p euchromatic variant in a healthy carrier having an unusual reproductive history. *Am J Med Genet A*. 2007;143A:995-998.
  31. Chen KS, Manian P, Koeuth T, Potocki L, Zhao Q, Chinault AC, Lee CC, Lupski JR. Homologous recombination of a flanking repeat gene cluster is a mechanism for a common contiguous gene deletion syndrome. *Nat Genet*. 1997;17:154-163.
  32. Saito S, Kawamura R, Kosho T, Shimizu T, Aoyama K, Koike K, Wada T, Matsumoto N, Kato M, Wakui K, Fukushima Y. Bilateral perisylvian polymicrogyria, periventricular nodular heterotopia, and left ventricular noncompaction in a girl with 10.5-11.1 Mb terminal deletion of 1p36. *Am J Med Genet A*. 2008;146A:2891-2897.
  33. Neal J, Apse K, Sahin M, Walsh CA, Sheen VL. Deletion of chromosome 1p36 is associated with periventricular nodular heterotopia. *Am J Med Genet A*. 2006;140:1692-1695.
  34. Chabchoub E, Vermeesch JR, De Ravel T, De Cock P, Fryns JP. The facial dysmorphism in the newly recognised microdeletion 2p15-p16.1 refined to a 570 kb region in 2p15. *J Med Genet*. 2008;45:189-192.
  35. Liu X, Malenfant P, Reesor C, Lee A, Hudson ML, Harvard C, Qiao Y, Persico AM, Cohen IL, Chudley AE, Forster-Gibson C, Rajcan-Separovic E, Lewis MS, Holden JJ. 2p15-p16.1 microdeletion syndrome: molecular characterization and association of the OTX1 and XPO1 genes with autism spectrum disorders. *Eur J Hum Genet*. 2011. doi: 10.1038/ejhg.2011.112. [Epub ahead of print]
  36. Willemsen MH, De Leeuw N, Mercer C, Eisenhauer H, Morris J, Collinson MN, Barber JC, Lam ST, Lo IF, Rensen H, Ferwerda A, Hamel BC, Kleefstra T. Further molecular and clinical delineation of the Wisconsin syndrome phenotype associated with interstitial 3q24q25 deletions. *Am J Med Genet A*. 2011;155A:106-112.
  37. Quintero-Rivera F, Sharifi-Hannauer P, Martínez-Agosto JA. Autistic and psychiatric findings associated with the 3q29 microdeletion syndrome: case report and review. *Am J Med Genet A*. 2010;152A:2459-67. Review.
  38. Dasouki MJ, Lushington GH, Hovanes K, Casey J, Gorre M. The 3q29 microdeletion syndrome: Report of three new unrelated patients and in silico "RNA binding" analysis of the 3q29 region. *Am J Med Genet A*. 2011;155:1654-1660.

39. Gawlik-Kuklinska K, Wierzba J, Wozniak A, Iliszko M, Debiec-Rychter M, Dubaniewicz-Wybieralska M, Limon J. Periventricular heterotopia in a boy with interstitial deletion of chromosome 4p. *Eur J Med Genet.* 2008;51:165-1671.
40. Bonnet C, Andrieux J, Béri-Dexheimer M, Leheup B, Boute O, Manouvrier S, Delobel B, Copin H, Receveur A, Mathieu M, Thiriez G, Le Caignec C, David A, De Blois MC, Malan V, Philippe A, Cormier-Daire V, Colleaux L, Flori E, Dollfus H, Pelletier V, Thauvin-Robinet C, Masurel-Paulet A, Faivre L, Tardieu M, Bahi-Buisson N, Callier P, Mugneret F, Edery P, Jonveaux P, Sanlaville D. Microdeletion at chromosome 4q21 defines a new emerging syndrome with marked growth restriction, mental retardation and absent or severely delayed speech. *J Med Genet.* 2010;47:377-384.
41. Jaillard S, Andrieux J, Plessis G, Krepischi AC, Lucas J, David V, Le Brun M, Bertola DR, David A, Belaud-Rotureau MA, Mosser J, Lazaro L, Treguier C, Rosenberg C, Odent S, Dubourg C. 5q12.1 deletion: delineation of a phenotype including mental retardation and ocular defects. *Am J Med Genet A.* 2011;155A:725-731.
42. Shimojima K, Isidor B, Le Caignec C, Kondo A, Sakata S, Ohno K, Yamamoto T. New microdeletion syndrome of 5q31.3 characterized by severe developmental delays, distinctive facial features, and delayed myelination. *Am J Med Genet A.* 2011;155A:732-736.
43. Wentzel C, Lynch SA, Stattin EL, Sharkey FH, Annerén G, Thuresson AC. Interstitial Deletions at 6q14.1-q15 Associated with Obesity, Developmental Delay and a Distinct Clinical Phenotype. *Mol Syndromol.* 2010;1:75-81.
44. Nagamani SC, Erez A, Eng C, Ou Z, Chinault C, Workman L, Coldwell J, Stankiewicz P, Patel A, Lupski JR, Cheung SW. Interstitial deletion of 6q25.2-q25.3: a novel microdeletion syndrome associated with microcephaly, developmental delay, dysmorphic features and hearing loss. *Eur J Hum Genet.* 2009;17:573-581.
45. Okamoto N, Hatsukawa Y, Shimojima K, Yamamoto T. Submicroscopic deletion in 7q31 encompassing CADPS2 and TSPAN12 in a child with autism spectrum disorder and PHPV. *Am J Med Genet A.* 2011;155:1568-1573.
46. Fisch GS, Davis R, Youngblom J, Gregg J. Genotype-phenotype association studies of chromosome 8p inverted duplication deletion syndrome. *Behav Genet.* 2011;41:373-380.
47. Willemsen MH, de Leeuw N, Pfundt R, De Vries BB, Kleefstra T. Clinical and molecular characterization of two patients with a 6.75 Mb overlapping deletion in 8p12p21 with two candidate loci for congenital heart defects. *Eur J Med Genet.* 2009;52:134-139.
48. Barber JC, Maloney VK, Huang S, Bunyan DJ, Cresswell L, Kinning E, Benson A, Cheetham T, Wyllie J, Lynch SA, Zwiolinski S, Prescott L, Crow Y, Morgan R, Hobson E. 8p23.1 duplication syndrome; a novel genomic condition with unexpected complexity revealed by array CGH. *Eur J Hum Genet.* 2008;16:18-27.
49. Shimojima K, Yamamoto T, Ignatius J, Knuutila S. 9q22 Deletion - First Familial Case. *Orphanet J Rare Dis.* 2011;6:45.
50. Siggberg L, Peippo M, Sipponen M, Miikkulainen T, Shimojima K, Yamamoto T, Ignatius J, Knuutila S. 9q22 Deletion - First Familial Case. *Orphanet J Rare Dis.* 2011;6:45. [Epub ahead of print]
51. Gawlik-Kuklinska K, Iliszko M, Wozniak A, Debiec-Rychter M, Kardas I, Wierzba J, Limon J. A girl with duplication 9q34 syndrome. *Am J Med Genet A.* 2007;143A:2019-2023.
52. Wentzel C, Rajcan-Separovic E, Ruivenkamp CA, Chantot-Bastaraud S, Metay C, Andrieux J, Annerén G, Gijssbers AC, Druart L, Hyon C, Portnoi MF, Stattin EL, Vincent-Delorme C, Kant SG, Steinraths M, Marlin S, Giurgea I, Thuresson AC. Genomic and clinical characteristics of six patients with partially overlapping interstitial deletions at 10p12p11. *Eur J Hum Genet.* 2011;April 27. [Epub ahead of print]
53. Van Bon BW, Balciuniene J, Fruhman G, Nagamani SC, Broome DL, Cameron E, Martinet D, Roulet E, Jacquemont S, Beckmann JS, Irons M, Potocki L, Lee B, Cheung SW, Patel A, Bellini M, Selicorni A, Ciccone R, Silengo M, Vetro A, Knoers NV, De Leeuw N, Pfundt R, Wolf B, Jira P, Aradhya S, Stankiewicz P, Brunner HG, Zuffardi O, Selleck SB, Lupski JR, de Vries BB. The phenotype of recurrent 10q22q23 deletions and duplications. *Eur J Hum Genet.* 2011;19:400-408.
54. Buysse K, Reardon W, Mehta L, Costa T, Fagerstrom C, Kingsbury DJ, Anadiotis G, McGillivray BC, Hellemans J, De Leeuw N, De Vries BB, Speleman F, Menten B, Mortier G. The 12q14 microdeletion syndrome: additional patients and further evidence that HMG2 is an important genetic determinant for human height. *Eur J Med Genet.* 2009;52:101-107.
55. Filges I, Röthlisberger B, Noppen C, Boesch N, Wenzel F, Necker J, Binkert F, Huber AR, Heinimann K, Miny P. Familial 14.5 Mb interstitial deletion 13q21.1-13q21.33: clinical and array-CGH study of a benign phenotype in a three-generation family. *Am J Med Genet A.* 2009;149A:237-241.
56. Kirchoff M, Bisgaard AM, Stoeva R, Dimitrov B, Gillissen-Kaesbach G, Fryns JP, Rose H, Grozdanova L, Ivanov I, Keymolen K, Fagerberg C, Tranebjaerg L, Skovby F, Stefanova M. Phenotype and 244k array-CGH characterization of chromosome 13q deletions: an update of the phenotypic map of 13q21.1-qter. *Am J Med Genet A.* 2009;149A:894-905.



57. Torgykes E, Shanske AL, Anyane-Yeboah K, Nahum O, Pirzadeh S, Blumfield E, Jobanputra V, Warburton D, Levy B. The proximal chromosome 14q microdeletion syndrome: Delineation of the phenotype using high resolution SNP oligonucleotide microarray analysis (SOMA) and review of the literature. *Am J Med Genet A*. 2011 Jul 8. doi: 10.1002/ajmg.a.34090. [Epub ahead of print]
58. Von der Lippe C, Rustad C, Heimdal K, Rødningen OK. 15q11.2 microdeletion - seven new patients with delayed development and/or behavioural problems. *Eur J Med Genet*. 2011;54:357-360.
59. Sempere Pérez A, Manchón Trives I, Palazón Azorín I, Alcaraz Más L, Pérez Lledó E, Galán Sánchez F. 15Q11.2 (BP1-BP2) microdeletion, a new syndrome with variable expressivity. *An Pediatr (Barc)*. 2011;75:58-62.
60. Masurel-Paulet A, Andrieux J, Callier P, Cuisset JM, Le Caignec C, Holder M, Thauvin-Robinet C, Doray B, Flori E, Alex-Cordier MP, Beri M, Boute O, Delobel B, Dieux A, Vallee L, Jaillard S, Odent S, Isidor B, Beneteau C, Vigneron J, Bilan F, Gilbert-Dussardier B, Dubourg C, Labalme A, Bidon C, Gautier A, Pernes P, Pinoit JM, Huet F, Mugneret F, Aral B, Jonveaux P, Sanlaville D, Faivre L. Delineation of 15q13.3 microdeletions. *Clin Genet*. 2010;78:149-161.
61. Van Esch H, Backx L, Pijkels E, Fryns JP. Congenital diaphragmatic hernia is part of the new 15q24 microdeletion syndrome. *Eur J Med Genet*. 2009;52:153-156.
62. Roetzer KM, Schwarzbraun T, Obenauf AC, Hauser E, Speicher MR. Further evidence for the pathogenicity of 15q24 microduplications distal to the minimal critical regions. *Am J Med Genet A*. 2010;152A:3173-3178.
63. Battaglia A, Novelli A, Bernardini L, Iglizzo R, Parrini B. Further characterization of the new microdeletion syndrome of 16p11.2-p12.2. *Am J Med Genet A*. 2009;149A:1200-1204.
64. Fernández BA, Roberts W, Chung B, Weksberg R, Meyn S, Szatmari P, Joseph-George AM, Mackay S, Whitten K, Noble B, Vardy C, Crosbie V, Luscombe S, Tucker E, Turner L, Marshall CR, Scherer SW. Phenotypic spectrum associated with de novo and inherited deletions and duplications at 16p11.2 in individuals ascertained for diagnosis of autism spectrum disorder. *J Med Genet*. 2010;47:195-203.
65. Marangi G, Leuzzi V, Orteschi D, Grimaldi ME, Lecce R, Neri G, Zollino M. Duplication of the Rubinstein-Taybi region on 16p13.3 is associated with a distinctive phenotype. *Am J Med Genet A*. 2008;146A:2313-2317.
66. Bruno DL, Anderlid BM, Lindstrand A, Van Ravenswaaij-Arts C, Ganesamoorthy D, Lundin J, Martin CL, Douglas J, Nowak C, Adam MP, Kooy RF, Van der Aa N, Reyniers E, Vandeweyer G, Stolte-Dijkstra I, Dijkhuizen T, Yeung A, Delatycki M, Borgström B, Thelin L, Cardoso C, Van Bon B, Pfundt R, De Vries BB, Wallin A, Amor DJ, James PA, Slater HR, Schoumans J. Further molecular and clinical delineation of co-locating 17p13.3 microdeletions and microduplications that show distinctive phenotypes. *J Med Genet*. 2010;47:299-311.
67. Shimojima K, Sugiura C, Takahashi H, Ikegami M, Takahashi Y, Ohno K, Matsuo M, Saito K, Yamamoto T. Genomic copy number variations at 17p13.3 and epileptogenesis. *Epilepsy Res*. 2010;89:303-309.
68. Mefford HC, Clauin S, Sharp AJ, Moller RS, Ullmann R, Kapur R, Pinkel D, Cooper GM, Ventura M, Ropers HH, Tommerup N, Eichler EE, Bellanne-Chantelot C. Recurrent reciprocal genomic rearrangements of 17q12 are associated with renal disease, diabetes, and epilepsy. *Am J Hum Genet*. 2007;81:1057-1069.
69. Nagamani SC, Erez A, Shen J, Li C, Roeder E, Cox S, Karaviti L, Pearson M, Kang SH, Sahoo T, Lalani SR, Stankiewicz P, Sutton VR, Cheung SW. Clinical spectrum associated with recurrent genomic rearrangements in chromosome 17q12. *Eur J Hum Genet*. 2010;18:278-284.
70. Dubourg C, Sanlaville D, Doco-Fenzy M, Le Caignec C, Missirian C, Jaillard S, Schluth-Bolard C, Landais E, Boute O, Philip N, Toutain A, David A, Edery P, Moncla A, Martin-Coignard D, Vincent-Delorme C, Mortemousque I, Duban-Bedu B, Drunat S, Beri M, Mosser J, Odent S, David V, Andrieux J. Clinical and molecular characterization of 17q21.31 microdeletion syndrome in 14 French patients with mental retardation. *Eur J Med Genet*. 2011;54:144-151.
71. Andrieux J, Lepretre F, Cuisset JM, Goldenberg A, Delobel B, Manouvrier-Hanu S, Holder-Espinasse M. Deletion 18q21.2q21.32 involving TCF4 in a boy diagnosed by CGH-array. *Eur J Med Genet*. 2008;51:172-177.
72. Kato Z, Morimoto W, Kimura T, Matsushima A, Kondo N. Interstitial deletion of 18q: comparative genomic hybridization array analysis of 46, XX,del(18)(q21.2.q21.33). *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2010;88:132-135.
73. Malan V, Raoul O, Firth HV, Royer G, Turleau C, Bernheim A, Willatt L, Munnich A, Vekemans M, Lyonnet S, Cormier-Daire V, Colleaux L. 19q13.11 deletion syndrome: a novel clinically recognisable genetic condition identified by array comparative genomic hybridisation. *J Med Genet*. 2009;46:635-640.