

Pacientes con inserción cromosómica estudiados en el Centro Nacional de Genética Médica (2005 – 2013).

Patients with chromosome insertions studied at the National Center of Medical Genetics (2005 – 2013).

*Arlay Castelví López,^I Anduriña Barrios Martínez,^{II} Michel Soriano Torres,^{III}
Enny Morales Rodríguez,^{IV} Luis A. Méndez Rosado,^V Luanda Maceiras
Rosales,^{VI} Ursulina Suárez Mayedo,^{VI} Kalia Lavaut Sánchez.^{VII}*

Resumen

Las inserciones cromosómicas son rearrreglos cromosómicos poco frecuentes que implican tres puntos de ruptura. Su incidencia para los estudios convencionales se estima en un caso cada 80 000, sin embargo se han detectado hasta uno en 500 casos empleando técnicas de citogenética molecular. Se describen los casos estudiados postnatalmente con hallazgo de inserción cromosómica entre los años 2005 y 2013 en el laboratorio de Citogenética. Durante el periodo mencionado se realizaron 8050 estudios citogenéticos por técnicas convencionales que incluyó el cultivo con linfocitos, la obtención de metafases y su tinción con bandas GTG estándar. Se identificaron cuatro casos con diagnóstico positivo de inserción cromosómica. Se corroboró la baja incidencia de esta aberración cromosómica en estudios convencionales y su presencia en pacientes sin una afectación fenotípica.

Palabras clave: Trastornos de los cromosomas, mutagénesis insercional, translocación genética, aberraciones cromosómicas, análisis citogenético.

Abstract

Chromosome insertions are rare chromosomal rearrangements with three breakpoints. The incidence in classical studies is estimated in 1: 80 000; although an incidence of 1:500 has been detected by molecular cytogenetic techniques. We describe cases postnatally studied with a diagnosis of chromosome insertion between 2005 and 2013 in the cytogenetic laboratory. During the mentioned period, 8050 investigations were carried out using conventional cytogenetic techniques such as lymphocyte cultura, metaphase harvest and staining with estándar GTG banding. Results: Four cases were identified with a positive diagnosis of chromosome insertion among intrachromosomal and interchromosomal insertions. The low incidence for this chromosome aberration was showed in classical studies and its presence in no phenotypically affected patients.

Keywords: Chromosome disorders, mutagenesis, insertional, genetics, translocation, chromosomes aberrations, cytogenetic analysis.

^I Licenciada en Bioquímica. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana, Cuba

^{II} Master en Ciencias en Genética Médica. Investigador Agregado. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana, Cuba.

^{III} Master en Ciencias. Investigador Agregado. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana, Cuba.

^{IV} Master en Ciencias en Genética Médica. Licenciada en Biología. Investigador Auxiliar. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana, Cuba.

^V Doctor en Ciencias de la Salud. Licenciado en Biología. Investigador Titular. Profesor Titular. Centro Nacional Genética Médica. Universidad de Ciencias Médicas. La Habana, Cuba.

^{VI} Técnico de Laboratorio. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana, Cuba.

^{VII} Especialista de primer grado en Genética Clínica. Doctora en Medicina. Instituto de Hematología e Inmunología. La Habana, Cuba.

Introducción

Las inserciones son un modo de rearrreglo cromosómico poco frecuente que implica tres puntos de ruptura; dos rupturas iniciales liberan un fragmento que se inserta en la brecha dejada por la tercera ruptura. Si el fragmento se inserta en un cromosoma no homólogo se conoce como inserción intercromosómica pero si lo hace en otra región del mismo cromosoma se conoce como inserción intracromosómica. El segmento puede insertarse con la misma orientación con respecto al centrómero que en el cromosoma original y se denomina inserción directa (dir ins) o en sentido contrario siendo la inserción invertida (inv ins). Las inserciones cromosómicas suelen considerarse como un modo de translocación, por lo cual en ocasiones se emplea la expresión “translocación insercional”.^{1,2}

La incidencia de las inserciones al emplear métodos de citogenética clásica ha sido estimada en aproximadamente 1 por cada 80 000 nacidos vivos,^{3,4} esta baja incidencia parece probable ya que los rearrreglos que involucran tres puntos de ruptura se consideran 10 veces menos frecuentes que los rearrreglos que involucran dos puntos de ruptura.⁵ Sin embargo, recientemente con el empleo combinado de análisis de CGH (siglas en inglés de la Hibridación de Genomas Comparados) mediante arreglos y FISH (siglas en inglés de la Fluorescencia con hibridación *in situ*), han podido identificarse en un rango de aproximadamente 1:500, una frecuencia 20 veces mayor que la establecida por la literatura.⁶ La detección incrementada de los eventos de inserción ha apoyado la necesidad de confirmar la ganancia del número de copias usando metodologías como el FISH para determinar la posición genómica o localización del material adicional.^{7,8}

Las inserciones suelen tener dos características comunes: (1) los pacientes con fenotipos alterados están mayormente asociados con un desbalance genómico por monosomía o por trisomía pura, y (2) los portadores balanceados tienen un riesgo alto de una descendencia desbalanceada, teóricamente superior al 50%. Un estudio reporta que las inserciones heredadas fueron de origen materno en un 59.5%, paterno en un 26.6% y un 13.9% se consideran *de novo*.⁷ Aunque es menos probable que las inserciones balanceadas tengan consecuencias clínicas, una mala segregación de las inserciones balanceadas presente en un progenitor portador puede resultar en una forma desbalanceada de rearrreglo.⁹

En la formación de las inserciones cromosómicas

no existe un intercambio recíproco de segmentos por lo cual los desbalances producidos mediante la segregación resultan en monosomías y trisomías puras.¹⁰

En este trabajo son analizados los casos positivos con inserción cromosómica y que fueron identificados a partir de estudios asistenciales postnatales realizados entre los años 2005 y 2013 en el laboratorio de Citogenética del Centro Nacional de Genética Médica de Cuba.

Materiales y métodos

Pacientes estudiados

En un periodo de 14 años fueron estudiados aproximadamente 10 mil pacientes remitidos de las consultas de Genética Clínica de la Red Nacional de Genética. Las razones para solicitar un estudio citogenético son entre otros: infertilidad, discapacidad intelectual y dismorfias, hijos previsto afectados o familiares de primer grado con discapacidad intelectual, presentación de un fenotipo que recuerda algún síndrome identificado como de causa cromosómica.

Análisis citogenético

Se utilizó la técnica de cultivo de linfocitos con suero exógeno y bandas GTG, según técnicas estandarizadas en el laboratorio. Las láminas fueron observadas en un microscopio Olympus BX51. Se analizaron 10 metafases y dos de estas fueron fotografiadas empleando el paquete informático CytoVision de Applied Imaging Corporation (San Jose, CA).

El análisis de los cromosomas coloreados con bandas GTG fue realizado a una resolución de aproximadamente 400 bandas por genoma haploide, de acuerdo al International System for Human Cytogenetic Nomenclature (ISCN) 2005.¹¹

Resultados

Después de estudiar aproximadamente 10 mil pacientes remitidos por sospecharse la presencia de alguna aberración cromosómica fueron identificados cuatro pacientes en cuyas muestras se identificó una aberración cromosómica estructural, específicamente una inserción cromosómica. Estos hallazgos confirman su baja frecuencia de aparición en estudios citogenéticos convencionales. Los cariotipos obtenidos y la naturaleza de las inserciones aparecen de manera resumida en la tabla 1.

Tabla 1. Pacientes identificados con inserciones. ND: no disponible, DPC: estudio complementario a un diagnóstico prenatal citogenético, TL: trastorno del lenguaje.

Paciente	Fórmula	Intra/Intercromosómica	Directa/Invertida	Motivo
Caso 1	ins(18;4)(p11.3;p15.1p16)	Intercromosómica	ND	DPC
Caso 2	ins(3;X)(q29;q21.2;q22.3)	Intercromosómica	ND	Amenorrea lria
Caso 3	ins(1)(q44;p34.1p36.3)	Intracromosómica	ND	DPC
Caso 4	dir ins (5)(p15.3;q32q35)	Intracromosómica	directa	TL

Los motivos referidos para solicitar el estudio citogenético fueron: estudio complementario a un análisis citogenético prenatal (dos casos), amenorrea primaria (un caso) y discapacidad intelectual (un caso). En ninguno de los estudios identificados como positivos se realizó un estudio a los progenitores, aquellos que llegaron como parte de una comprobación complementaria a un estudio citogenético prenatal habían transmitido el rearrreglo mediante una segregación alterna a su descendencia pero no se corroboró la naturaleza heredada o *de novo* en los mismos. Los hallazgos cromosómicos en la paciente que acudió por presentar amenorrea primaria fueron asociados directamente con el motivo de indicación y se sospechó que esta aberración no podría en este caso, ser heredada pero esto no pudo ser demostrado. En el caso 4 se sospecha que puede ser heredado pues se presentan afectaciones en otros miembros de la familia pero no fue posible realizar un estudio a los padres.

Discusión

Las inserciones son detectadas con muy baja frecuencia en el estudio cromosómico de rutina. La frecuencia de aparición fue estimada en 1:10 000 pacientes cariotipados en dos reportes presentes en la literatura científica. Algunos autores han reconocido que el aumento de la resolución alcanzada por las nuevas tecnologías en el campo de la genética permite una mayor detección de rearrreglos cromosómicos que provocan afectaciones fenotípicas pero que no son detectados mediante un estudio convencional de rutina.^{10,12}

Los factores que influyen en el fenotipo de los pacientes con inserción cromosómica son muchos, incluyendo el tamaño y contenido génico de los segmentos insertados, los cuales pueden provocar una aneusomía funcional de genes sensibles a dosis; la orientación de la inserción; los efectos de posición provocados por los genes ubicados en el fragmento insertado y/o en el sitio de inserción; la interrupción de un gen por la inserción; y la presencia o ausencia de alteraciones adicionales cerca de los puntos de ruptura de la inserción.^{13, 14}

El empleo de técnicas moleculares como son el FISH y la amplificación lineal acoplada con CGH de arreglos puede determinar si la ganancia en el número de copias detectadas por el CGH de arreglos representa duplicaciones en tándem o si constituyen desbalances producto de las inserciones. La caracterización de alta resolución en el sitio de la inserción puede también permitir que se determinen los genes involucrados en el sitio de inserción.¹²

El caso 2 presenta una clínica que parece validar la relevancia del hallazgo al estar asociado el cromosoma X. Se plantea en la literatura que entre el 10 al 25% de las mujeres con una función ovárica anormal presenta alguna anomalía que involucra al cromosoma X.¹⁵

En nuestro estudio, el caso 4 con dir ins (5) (p15.3;q32q35) corresponde a un niño con trastorno del lenguaje sin dismorfias al estudio clínico en el cual uno de los puntos de ruptura coincide con una banda asociada al síndrome de Cri-Du-Chat. Algunos estudios reportados en la literatura plantean la existencia de una descendencia afectada como producto de rearrreglos balanceados que incluyen la banda 5p15.3.¹⁶ En nuestro caso la aberración cromosómica fue detectada en el paciente y su madre por lo cual se considera de naturaleza heredada, el estudio fue realizado debido a la detección de una aberración cromosómica no precisada a la hermana de la paciente en un laboratorio de Alemania (datos no publicados). Se presume que la afectación en la hermana de la madre del paciente sea la identificada en estos, lo cual significaría su presencia en tres generaciones. Lo anterior constituye un hallazgo poco frecuente ya que los portadores de una inserción intracromosómica presentan un riesgo de aproximadamente el 15% de tener un bebé con un cromosoma recombinante que conduzca a un desbalance genético, algunos estudios estiman que el riesgo puede llegar a ser de 30 - 50% para ciertos rearrreglos.¹⁷

En un estudio realizado por Kang y colaboradores el cromosoma heredado que presenta la inserción proviene generalmente de la madre, un porcentaje menor es de origen paterno y el resto lo constituyeron aberraciones *de novo*. Algunos pacientes compartían el mismo rearrreglo desbalanceado que uno de sus

padres aunque los autores no descartan la ocurrencia de cambios en el número de variaciones de copia ya que la prueba empleada fue FISH y no permite la identificación del número de copias de un mismo segmento de ADN.⁶

No se puede descartar un subdiagnóstico, especialmente de inserciones intracromosómicas debido a que en ocasiones pueden ser confundidas con inversiones paracéntricas, y solo un estudio molecular puede determinar su verdadera naturaleza.¹⁸ Algunos estudios donde el paciente presentaba una inserción cromosómica fueron dados en un inicio como una inversión y solo el uso de pruebas moleculares permitió corregir un diagnóstico erróneo.^{5,19,20} Se han encontrado inserciones incluso como causa de azoospermia.²¹ En nuestro laboratorio han sido identificadas por métodos convencionales algunas inversiones paracéntricas que involucran segmentos pequeños que podrían tratarse hipotéticamente de inserciones, esto solo puede ser descartado si se emplean métodos moleculares específicos, tal es el caso de los siguientes cariotipos: 46,XX, inv(19)(p12;p13.1), 46,XX, inv(4)(p12;p16.1), 15p+, 46,XX, inv(10)(q21;q25), 46,XY y inv(21)(q11.2;q21). Tres de estos casos en los cuales la aberración cromosómica fue interpretada como una inversión fueron remitidos debido a la ocurrencia de abortos, los cuales se reporta que los portadores de inserciones tienen un riesgo incrementado de generar gametos desbalanceados con respecto a los portadores de inversiones.

A diferencia de las inserciones intercromosómicas, la descendencia afectada en los portadores de inserciones intracromosómicas está asociada sólo con cromosomas recombinantes.¹⁰ Se considera

que las inserciones intracromosómicas son aún más infrecuentes, pero debido a los escasos reportes publicados sobre estos su frecuencia permanece sin ser conocida.¹⁰ Las inversiones pueden ser difíciles de diferenciar de las inserciones, especialmente si el segmento que separa el sitio original de la nueva localización es muy pequeño. Se plantea que para los portadores de inserciones el riesgo de tener una descendencia afectada podría ser mayor que para los portadores de inversiones cromosómicas y algunas inversiones podrían tratarse de inserciones intracromosómicas de segmentos pequeños.²²

Conclusiones

La mayoría de los casos identificados en el laboratorio no presentan una repercusión directa en su fenotipo, lo cual pudiese provocar que individuos portadores de inserciones pudieran no ser diagnosticados debido a no presentar ningún signo dismórfico o afectación de otra naturaleza. Igualmente la carencia de métodos moleculares de mayor resolución podría constituir una limitante a la identificación correcta de todos los casos portadores de una inserción cromosómica. En este sentido se recomienda realizar otros estudios de citogenética molecular para el abordaje de las inserciones en los miembros afectados de estas familias estudiadas y ofrecerles asesoramiento genético adecuado a los individuos en edad reproductiva.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer a Elsa Ávila Santí por recoger y poner a disposición del grupo de autores los datos de interés recuperados a partir de la base de datos del laboratorio de Citogenética.

Referencias bibliográficas

1. Matoso E, Melo JB, Ferreira SI, Jardim A, Castelo TM, Weise A, et al. Insertional translocation leading to a 4q13 duplication including the EPHA5 gene in two siblings with attention-deficit hyperactivity disorder. *American journal of medical genetics Part A*. 2013;161A(8):1923-8.
2. Gardner M, Sutherland GR, Shaffer LG. Insertions. In: Gardner M, Sutherland GR, Shaffer LG, editors. *Chromosome abnormalities and genetic counseling*. 4th ed. New York: Oxford University Press; 2012. p. 183-200.
3. Han JY, Kim KH, Jun HJ, Je GH, Glotzbach CD, Shaffer LG. Partial trisomy of chromosome 10(q22-q24) due to maternal insertional translocation (15;10). *American journal of medical genetics Part A*. 2004;131(2):190-3.
4. de Pater JM, Ippel PF, van Dam WM, Loneus WH, Engelen JJ. Characterization of partial trisomy 9p due to insertional translocation by chromosomal (micro)FISH. *Clinical genetics*. 2002;62(6):482-7.
5. Ardalán A, Prieur M, Choiset A, Turleau C, Goutieres F, Girard-Orgeolet S. Intrachromosomal insertion mimicking a pericentric inversion: molecular cytogenetic characterization of a three break rearrangement of chromosome 20. *American journal of medical genetics Part A*. 2005;138A(3):288-93.
6. Kang SH, Shaw C, Ou Z, Eng PA, Cooper ML, Pursley AN, et al. Insertional translocation detected using FISH confirmation of array-comparative genomic hybridization (aCGH) results. *American journal of medical genetics Part A*. 2010;152A(5):1111-26.
7. Van Hemel JO, Eussen HJ. Interchromosomal insertions. Identification of five cases and a review. *Human genetics*.

- 2000;107(5):415-32.
8. Kang S-HL, Shaw C, Ou Z, Eng PA, Cooper ML, Pursley AN, et al. Insertional translocation detected using FISH confirmation of array-comparative genomic hybridization (aCGH) results. *American Journal of Medical Genetics Part A*. 2010;152A(5):1111-26.
 9. Fogu G, Bandiera P, Cambosu F, Carta AR, Pilo L, Serra G, et al. Pure partial trisomy of 6p12.1-p22.1 secondary to a familial 12/6 insertion in two malformed babies. *European journal of medical genetics*. 2007;50(2):103-11.
 10. Nowakowska BA, de Leeuw N, Ruivenkamp CAL, Sikkema-Raddatz B, Crolla JA, Thoelen R, et al. Parental insertional balanced translocations are an important cause of apparently de novo CNVs in patients with developmental anomalies. *European Journal of Human Genetics*. 2012;20:166-70.
 11. Shaffer LG, Tommerup N. *ISCN 2005: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature (2005) : Recommendations of the International Standing Committee on Human Cytogenetic Nomenclature*: Karger Medical and Scientific Publishers; 2005 2005/01/01/. 137 p.
 12. Neill NJ, Ballif BC, Lamb AN, Parikh S, Ravnar JB, Schultz RA, et al. Recurrence, submicroscopic complexity, and potential clinical relevance of copy gains detected by array CGH that are shown to be unbalanced insertions by FISH. *Genome research*. 2011;21(4):535-44.
 13. Baptista J, Mercer C, Prigmore E, Gribble SM, Carter NP, Maloney V, et al. Breakpoint mapping and array CGH in translocations: comparison of a phenotypically normal and an abnormal cohort. *American journal of human genetics*. 2008;82(4):927-36.
 14. Baptista J, Prigmore E, Gribble SM, Jacobs PA, Carter NP, Crolla JA. Molecular cytogenetic analyses of breakpoints in apparently balanced reciprocal translocations carried by phenotypically normal individuals. *European journal of human genetics : EJHG*. 2005;13(11):1205-12.
 15. L Rao BA, Padmalatha V, Kanakavalli M, Deenadayal M, Singh L. Novel X-chromosomal defect associated with abnormal ovarian function. *J Obstet Gynaecol Res*. 2005;31(1):12-5.
 16. South ST, Swensen JJ, Maxwell T, Rope A, Brothman AR, Chen Z. A new genomic mechanism leading to cri-du-chat syndrome. *American journal of medical genetics Part A*. 2006;140(24):2714-20.
 17. Madan K, Menko FH. Intrachromosomal insertions: a case report and a review. *Human genetics*. 1992;89(1):1-9.
 18. Collinson MN, Roberts SE, Crolla JA, Dennis NR. A familial balanced inverted insertion ins(15)(q15q13q11.2) producing Prader-Willi syndrome, Angelman syndrome and duplication of 15q11.2-q13 in a single family: Importance of differentiation from a paracentric inversion. *American journal of medical genetics Part A*. 2004;126A(1):27-32.
 19. Dauwerse JG, Ruivenkamp CA, Hansson K, Marijnissen GM, Peters DJ, Breuning MH, et al. A complex chromosome 7q rearrangement identified in a patient with mental retardation, anxiety disorder, and autistic features. *American journal of medical genetics Part A*. 2010;152A(2):427-33.
 20. Tadin M, Braverman E, Cianfarani S, Sobrino AJ, Levy B, Christiano AM, et al. Complex cytogenetic rearrangement of chromosome 8q in a case of Ambras syndrome. *American journal of medical genetics*. 2001;102(1):100-4.
 21. Li L, Chen H, Yin C, Yang C, Wang B, Zheng S, et al. Mapping breakpoints of a familial chromosome insertion (18,7) (q22.1; q36.2q21.11) to DPP6 and CACNA2D1 genes in an azoospermic male. *Gene*. 2014;547(1):43-9.
 22. Madan K, Nieuwint AW. Reproductive risks for paracentric inversion heterozygotes: Inversion or insertion? That is the question. *American journal of medical genetics*. 2002;107(4):340-3.