



## OPORTUNIDADES PERDIDAS DE DIAGNÓSTICO GENÉTICO PRENATAL DE SÍNDROMES NEUROLÓGICOS, CUANDO EL CARIOTIPO ES NORMAL Y NO REALIZAMOS ESTUDIOS MOLECULARES PRENATALES

Canonero I<sup>•\*</sup>◇, Méjico G<sup>\*</sup>, Gosso MF<sup>\*</sup>, Ruggieri AL<sup>\*</sup>, Madeira F<sup>\*</sup>, Pautaso J<sup>•</sup>, Sfaello Z<sup>◇</sup>, Sfaello I<sup>◇</sup>, Bogado C<sup>•</sup>, Ochoa S<sup>•</sup>, Mangupli P<sup>•</sup>, Vazquez M<sup>\*</sup>, Fay F<sup>\*</sup>, Ochoa J<sup>•</sup>

•DIAGNUS, \*HÉRITAS, ◇CETES

•DIAGNUS, Centro de Diagnóstico, docencia e investigación

\*Héritas, laboratorio de medicina de precisión

◇CETES , Instituto de Neurología Infanto Juvenil

# Objetivo

- Describir el rendimiento del diagnóstico molecular postnatal para identificar las oportunidades perdidas de diagnóstico prenatal, usando microarray de hibridación genómica comparada (Array CGH) y la secuenciación de próxima generación (NGS)
- Se incluirán pacientes con cariotipo normal, evaluación molecular postnatal, en seguimiento desde el período prenatal o con evaluación retrospectiva de los hallazgos prenatales

# Materiales y métodos

- Estudio observacional, retrospectivo, descriptivo de implementación de técnicas moleculares y valoración de su capacidad diagnóstica, que incluyó pacientes pediátricos evaluados prenatalmente en DIAGNUS, con seguimiento por Neurología y Genética del Instituto CETES de Córdoba, y estudiados molecularmente en el laboratorio Héritas de Rosario durante el período 2016-2018

## Criterios de inclusión

- pacientes con retraso del desarrollo
- déficit intelectual
- Dismorfias y/o malformaciones
- cariotipo de alta resolución, microarray CGH y exoma clínico dirigido

## Criterios de exclusión

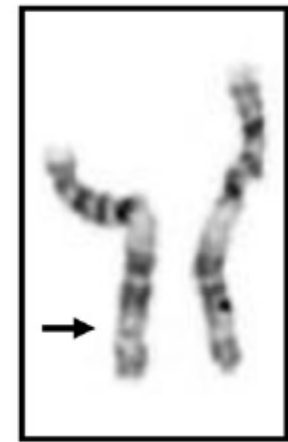
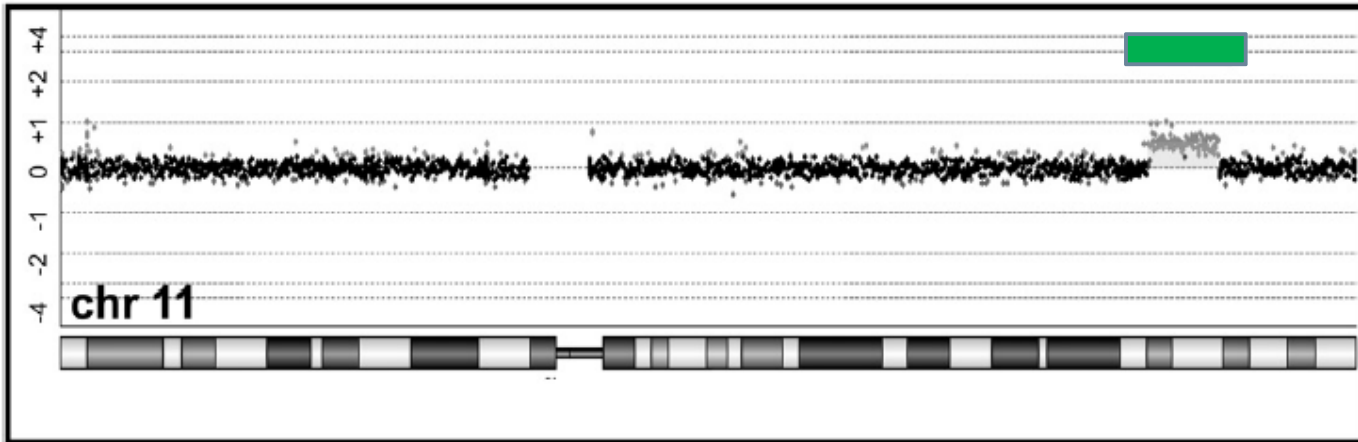
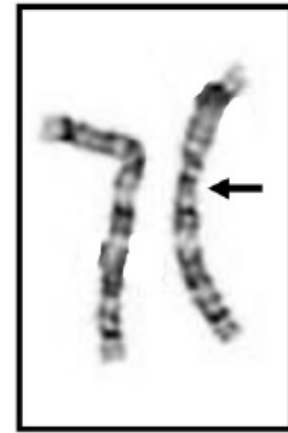
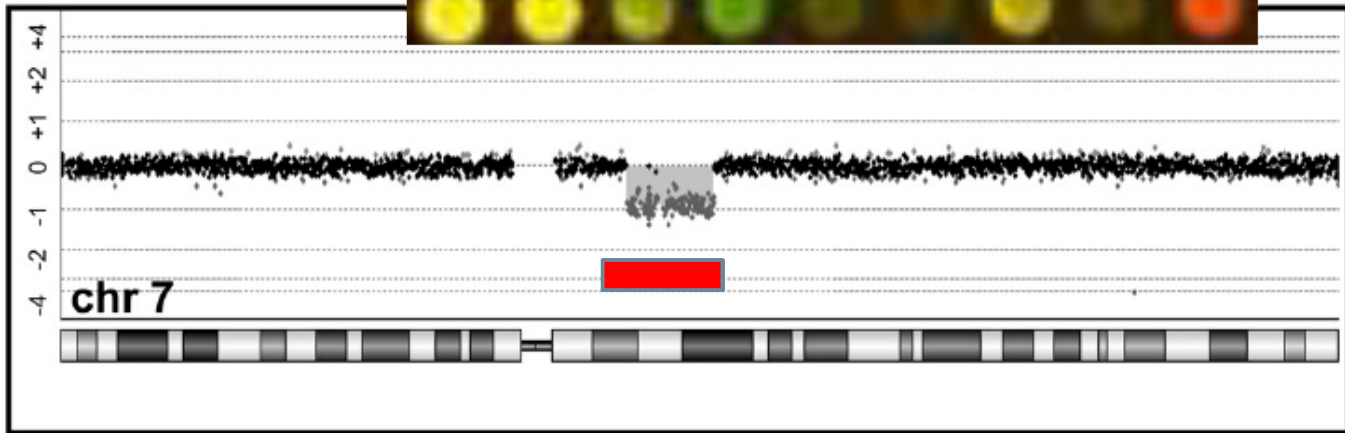
- Anomalías cromosómicas (Trisomías y monosomías)
- Ausencia de datos prenatales

# Plataformas empleadas

## Array CGH

- La plataforma utilizada tiene una resolución media a lo largo de todo el genoma de  $\sim 150\text{kb}$  y una resolución media de  $50\text{kb}$  en las regiones de interés. Uso del kit SurePrint-G3 Human Genome CGH Microarray (4x180K) de Agilent

- 160 × cobertura, con al menos el 93% de las secuencias con un mínimo de 20 × cobertura
- Análisis de las secuencias exónicas e intrónicas adyacentes ( $\pm 10$  pb), de los genes contenidos en los paneles de retraso madurativo, déficit intelectual, autismo y déficit de atención con hiperactividad
- Análisis bioinformático que utilizó un protocolo basado en el de GATK (Genome Analysis Toolkit) del Broad Institute
- Clasificación de las variantes: Colegio Americano de Genética Médica y Genómica (ACMG)



# Array postnatal

ARTICLE

## Consensus Statement: Chromosomal Microarray Is a First-Tier Clinical Diagnostic Test for Individuals with Developmental Disabilities or Congenital Anomalies

David T. Miller,<sup>1,\*</sup> Margaret P. Adam,<sup>2,3</sup> Swaroop Aradhya,<sup>4</sup> Leslie G. Biesecker,<sup>5</sup> Arthur R. Brothman,<sup>6</sup> Nigel P. Carter,<sup>7</sup> Deanna M. Church,<sup>8</sup> John A. Crolla,<sup>9</sup> Evan E. Eichler,<sup>10</sup> Charles J. Epstein,<sup>11</sup> W. Andrew Faucett,<sup>2</sup> Lars Feuk,<sup>12</sup> Jan M. Friedman,<sup>13</sup> Ada Hamosh,<sup>14</sup> Laird Jackson,<sup>15</sup> Erin B. Kaminsky,<sup>2</sup> Klaas Kok,<sup>16</sup> Ian D. Krantz,<sup>17</sup> Robert M. Kuhn,<sup>18</sup> Charles Lee,<sup>19</sup> James M. Ostell,<sup>8</sup> Carla Rosenberg,<sup>20</sup> Stephen W. Scherer,<sup>21</sup> Nancy B. Spinner,<sup>17</sup> Dimitri J. Stavropoulos,<sup>22</sup> James H. Tepperberg,<sup>23</sup> Erik C. Thorland,<sup>24</sup> Joris R. Vermeesch,<sup>25</sup> Darrel J. Waggoner,<sup>26</sup> Michael S. Watson,<sup>27</sup> Christa Lese Martin,<sup>2</sup> and David H. Ledbetter<sup>2,\*</sup>

Hallazgos clínicamente significativos se han reportado en el 15%-20% de los pacientes con cariotipos normales



# Array Prenatal

## Detección de anomalías cromosómicas relevantes en fetos con cariotipo normal y anomalías

Estudio	Tasa de detección
Fiorentino	6.1%
Rosenfeld/Shaffer	6.6%
Schwartz	5.7
NICHD	6.0%

## Detección aumenta de acuerdo al tipo de anomalía

Sistema afectado	N=752	CNV (n)	Detección adicional
Cardíaco	154	24	15,6 %
Facial	66	10	15,2 %
Tórax	40	8	15 %
Renal	69	8	11,6 %
RCIU	79	9	11,4 %
SNC	149	14	9,4 %
Pared abdominal	40	1	2,5 %

ORIGINAL ARTICLE

## Clinical Whole-Exome Sequencing for the Diagnosis of Mendelian Disorders

Yaping Yang, Ph.D., Donna M. Muzny, M.Sc., Jeffrey G. Reid, Ph.D., Matthew N. Bainbridge, Ph.D., Alecia Willis, Ph.D., Patricia A. Ward, M.S., Alicia Braxton, M.S., Joke Beuten, Ph.D., Fan Xia, Ph.D., Zhiyv Niu, Ph.D., Matthew Hardison, Ph.D., Richard Person, Ph.D., Mir Reza Bekheirnia, M.D., Magalie S. Leduc, Ph.D., Amelia Kirby, M.D., Peter Pham, M.Sc., Jennifer Scull, Ph.D., Min Wang, Ph.D., Yan Ding, M.D., Sharon E. Plon, M.D., Ph.D., James R. Lupski, M.D., Ph.D., Arthur L. Beaudet, M.D., Richard A. Gibbs, Ph.D., and Christine M. Eng, M.D.

tasa de diagnóstico molecular del 25%

Primary Phenotype Category	No. of Patients Tested	Positive Diagnosis					Total	Rate of Positive Diagnosis (95% CI)
		Autosomal Dominant Trait	Autosomal Recessive Trait	X-Linked Trait	Two Traits			
		<i>number of patients</i>						<i>percent</i>
Neurologic disorder	60	9	6	4	1	20	33 (23–46)	
Neurologic disorder and other organ-system disorder	140	19	4	5	3	31	22 (16–30)	
Specific neurologic disorder	13	1	3	0	0	4	31 (13–58)	
Non-neurologic disorder	37	4	3	0	0	7	19 (9–34)	
Total	250	33	16	9	4	62	25 (20–31)	

# Secuenciación de exoma prenatal

The Lancet

## Prenatal exome sequencing analysis in fetal structural anomalies detected by ultrasonography (PAGE): a cohort study

*Jenny Lord\*, Dominic J McMullan\*, Ruth Y Eberhardt\*, Gabriele Rinck, Susan J Hamilton, Elizabeth Quinlan-Jones, Elena Prigmore, Rebecca Keelagher, Sunayna K Best, Georgina K Carey, Rhiannon Mellis, Sarah Robart, Ian R Berry, Kate E Chandler, Deirdre Cilliers, Lara Cresswell, Sandra L Edwards, Carol Gardiner, Alex Henderson, Simon T Holden, Tessa Homfray, Tracy Lester, Rebecca A Lewis, Ruth Newbury-Ecob, Katrina Prescott, Oliver W Quarrell, Simon C Ramsden, Eileen Roberts, Dagmar Tapon, Madeleine J Tooley, Pradeep C Vasudevan, Astrid P Weber, Diana G Wellesley, Paul Westwood, Helen White, Michael Parker, Denise Williams, Lucy Jenkins, Richard H Scott, Mark D Kilby†, Lyn S Chitty†, Matthew E Hurles†, Eamonn R Maher†, for the Prenatal Assessment of Genomes and Exomes Consortium‡.*

Estudio de cohorte prospectivo de **610 fetos** con una amplia gama de anomalías estructurales fetales que se detectaron mediante ecografía prenatal, se identificó una variante genética de diagnóstico relevante en un gen de trastorno del desarrollo en **52 fetos (8, 5%)**. En 24 fetos adicionales (**3 · 9%**), se identificó e informó **una variante de utilidad clínica potencial**. En general, se identificó una variante diagnóstica o potencialmente relevante clínicamente en 76 fetos (**12.5%**)

## 224 pacientes con compromiso neurológico y estudio molecular postnatal

**Exclusión: 48 pacientes**

Estudios moleculares

12 casos: microdelecciones conocidas detectadas por MLPA/FISH  
 6 casos: síndrome de Noonan  
 8 casos: Síndrome de X Frágil  
 10 casos: Encefalopatía epiléptica  
 1 caso Cornelia de Lange  
 2 casos de Sd. de Rubinstein Taybi  
 5 casos: Ataxias  
 4 casos: Paraplejía espástica

**Inclusión : 176 pacientes**

**Cariotipo**

8 anomalías estructurales  
4,54 %

4 desbalanc.  
4 balancead.

**Microarray CGH**

**Patogénicas**  
38 casos  
21,60%

**Patogénicas**  
72 casos  
48,58%

**VOUS**  
7 casos  
3,97%

**VOUS**  
14 casos  
9,66%

**NGS**

**Patogénicas**  
34 casos  
26,98%

**VOUS**  
7 casos  
5,55%

**Negativos**  
90  
51,13%

**Detección postnatal**  
**58,24%**

224 pacientes con compromiso neurológico y estudio molecular

Inclusión : 176 pacientes

### Cariotipo

8 anomalías estructurales  
5,70%

46,XX, t(1;2)(q32;q32)  
45,XX,der(18;21)(18pter::21qter)  
46, XX, add (4) (q35)(30))  
46, XY, t (1;5;12)  
47, XX, + Mar  
46, XY, t(9;18)  
46, XY, t(8;10)  
46, XX, t(8,12)

4 desbalanceadas  
4 balanceadas

### Microarray CGH

#### Patogénicas

38 casos (21,60%)

Deleción 10q26.13q26.3  
deleción 1q21.1  
deleción 17p13.3  
deleción 13q21.33q31.3  
deleción 17p13.1  
deleción 4q21.22q22.1  
deleción 18p11.32p11.31  
deleción 10p12.1  
Deleción 16p13.11p12.3  
Deleción 15q24.1q24.2  
Deleción 8q21.11  
Deleción 5q14.3q15  
Deleción 4q31.21q31.23  
Deleción 18p11.32p11.31  
Deleción 1q42.2q44

#### VOUS

7 casos (3,97%)

deleción Xq21.31  
duplicación16p13.11  
deleción 5q21.1  
deleción 7q33  
deleción 1p36.32  
deleción 17p13.2

Tasa de detección del  
array CGH postnatal  
**25,57%**

**Inclusión : 176 pacientes**

**Microarray CGH**

**PATOGÉNICAS**

38 casos (21,60%)

**VOUS**

7 casos (3,97%)

**Tasa de detección del array CGH postnatal 25,57%**

**Hallazgos prenatales 29 CASOS (17,26%)**

**ANOMALÍAS AISLADAS**

AGENESIA CUERPO CALLOSO  
CARDIOPATÍA CONGÉNITA  
RCIU  
VENTRÍCULOMEGALIA  
AKINESIA FETAL  
LISENCEFALIA  
POLIHIDRAMNIOS  
MICROCEFALIA  
HOLOPROCENCEFALIA  
TN AUMENTADA  
FISURA PALATINA

**ANOMALÍAS MÚLTIPLES**

AGENESIA CUERPO CALLOSO + CARDIOPATÍA CONGÉNITA  
AGENESIA CUERPO CALLOSO + AGENESIA RENAL  
HIDROCEFALIA + POLIHIDRAMNIOS  
CARDIOPATÍA CONGÉNITA + POLIHIDRAMNIOS  
RCIU + DISPLASIA DE CUERPO CALLOSO  
HIDROCEFALIA + POLIHIDRAMNIOS  
MICROCEFALIA + CARDIOPATÍA CONGÉNITA  
HOLOPROCENCEFALIA + CARDIOPATÍA CONGÉNITA  
FISURA PALATINA + AGENESIA DEL CUERPO CALLOSO  
AGENESIA RENAL + HIPOSPADIAS

**ARRAY  
POSTNATAL  
PATOGENICO CON  
HALLAZGOS  
PRENATALES**  
**19 casos  
(11,31%)**

**224 pacientes con compromiso neurológico y estudio molecular postnatal**

**Inclusión : 176 pacientes**

**126 pacientes**

**NGS (EXOMA CLÍNICO DIRIGIDO)**

**PATOGÉNICAS**

34 casos  
26,98%

**VOUS**

7 casos  
5,55%

**NORMALES**

86 casos  
68,25%

**Tasa de detección por NGS 33,98%**

**Hallazgos prenatales 18 CASOS (14,28%)**

**ANOMALÍAS AISLADAS**

AGENESIA CUERPO CALLOSO  
CARDIOPATÍA CONGÉNITA  
RCIU  
VENTRÍCULOMEGALIA  
PIE BOT BILATERAL  
AKINESIA FETAL  
LISENCEFALIA  
POLIHIDRAMNIOS  
MICROCEFALIA

**ANOMALÍAS MÚLTIPLES**

AGENESIA CUERPO CALLOSO + CATARATAS CONG.  
AGENESIA CUERPO CALLOSO + RCIU  
HIDROCEFALIA  
VENTRÍCULOMEGALIA + ENCEFALOCELE  
ARTROGRIFOSIS + RCIU  
AGENESIA DE CUERPO CALLOSO + CARDIOPATÍA

**EXOMA  
POSTNATAL  
PATOGENICO  
CON HALLAZGOS  
PRENATALES**  
10 casos  
(7,93%)

## Variantes patogénicas por NGS

GEN	Clasificación	Fenotipo
<b>FOXG1</b> NM_005249.4: c.453_454insG NP_005240.3: p.Glu154GlyfsTer301	<b>Patogénica</b>	Retraso del desarrollo, microcefalia postnatal, hipotonía, epilepsia, retraso psicomotriz, ausencia del lenguaje, automatismos, irritabilidad, escaso contacto visual
<b>PTEN</b> NM 00314:exon1:c.C72G;p.D24E	<b>Patogénica</b>	Autismo, retraso del lenguaje, macrocefalia
<b>GRIN2B</b> NM_000834.3:c.2472G>A, NP_000825.2:p.Met824Ile	<b>Probable patogénica</b>	Hipotonía, retraso del desarrollo, trastorno deglutorio, escaso contacto visual, irritabilidad, automatismos
<b>DLV1</b> NM 004421:exon15: c.G1703A;p.R568Q	<b>patogénica</b>	Retraso del desarrollo, hiperactividad, conducta autista, ausencia del lenguaje

D)

**DIAGNUS**

DIAGNÓSTICO · DOCENCIA · INVESTIGACIÓN

  
**Héritas**  
Medicina de precisión  
CIBIC + INDEAR



MECP2 NM_001110792.1:c.844C>T; NP_001104262.1:p.Arg282Ter, rs61750240	patogénica	Microcefalia, automatismos, epilepsia, retraso de pautas psicomotrices adquiridas
MECP2 NM_001110792.1:c.433C>T, NP_001104262.1:p.Arg145Cys, rs28934904	Patogénica	Microcefalia, pérdida de habilidades manuales, retraso de pautas psicomotrices adquiridas
PTPN11 NM_002834.3:c.1232C>T, rs121918467. Exón 11	Patogénica	Hipotonía, retraso del desarrollo
SOS p.Lys170Glu	Patogénica	Hipotonía, retraso del desarrollo
MF5D8 p.R465Q	Patogénica	
GJC2 NM_020435.3:c.219_220delCC, NP_065168.2:p.Leu74ValfsTer33 y NM_020435.3:c.740G>C, NP_065168.2:p.Arg247Pro	Patogénica	<u>Leucodistrofia</u> , retraso del desarrollo, trastorno en la marcha, trastorno del lenguaje
TSC1	Patogénica	Manchas <u>hipocrómicas</u> , retraso del desarrollo
GFAP	Patogénica	Retraso psicomotriz y del desarrollo
NSD1	Patogénica	<u>Macrosomía</u> , <u>dismorfias</u> , edad ósea acelerada, <u>ventrículomegalia</u>
SEZGL2 p.Arg386His	Patogénica	Déficit intelectual, hipotonía, hiperactividad
CTNNB1 p.Arg582Gly	Patogénica	Déficit intelectual, trastorno generalizado del desarrollo
<u>SCN1A</u> (NM_001202435.1: c.302G>A) (NP_001189364.1:p.Arg101Gln).	Patogénica	Epilepsia, retraso del desarrollo
SCN1A	Patogénica	Retraso madurativo, epilepsia
SCN9A NM_002977.3 c.1964A>G NP_002968.1 p.Lys655Arg	Probable Patogénico	Retraso del desarrollo, hipotonía, epilepsia
CNTNAP2 Gly1155Glu	Patogénica	retraso madurativo, microcefalia, epilepsia, automatismos y pérdida habilidades manuales, marcha atáxica, retroceso psicomotriz , conducta autista

# Conclusión

## Rendimiento diagnóstico Postnatal

- Array CGH 22,60%
- Exoma clínico 33,98%

**Rendimiento  
postnatal  
58,24%**

## Oportunidades perdidas de diagnóstico prenatal

- Array CGH 11,31%
- Exoma clínico 7,93 %

**Rendimiento prenatal  
19,24%**

# Desafíos

- Variantes inciertas
- Penetrancia incompleta
- Expresividad variable
- Hallazgos incidentales
- Variantes de susceptibilidad al Cáncer (RET, TP53)
- Complejidad en el asesoramiento de trastornos del desarrollo en el período prenatal