

## a-CGH en el diagnòstic de pacients pediàtrics amb desordres del neurodesenvolupament i anomalies congènites. Experiència a Catlab.

La prevalença en la població general de patologies del neurodesenvolupament no és gens menyspreable, així, s'estima en un 1-3% [1] per retard del desenvolupament/discapacitat intel·lectual (RGD/DI), en un 0'7% [2] per trastorns de l'espectre autista (TEA) i en un 2-3% [3] per anomalies congènites (AC).

Les proves genètiques són una pràctica estàndard pel diagnòstic d'aquest pacients, sent de gran utilitat en el maneig clínic, permetent un pronòstic més precís, i sobre tot, sent fonamental per determinar el risc de recurrència i/o ocurrència, i per tant millorant l'assessorament genètic familiar.

El diagnòstic genètic d'aquests pacients es realitzava clàssicament mitjançant un conjunt de proves de laboratori, sent l'anàlisi cromosòmic convencional (cariotip) el més utilitzat, detectant grans pèrdues/guanys de material genètic i reordenaments estructurals, en un 3-5% dels pacients amb RGD/ID i/o AC [4]. Per tal de millorar aquest rendiment diagnòstic, en els casos amb cariotip aparentment normal, i especialment en aquells que presentaven un quadre sindròmic, es complementava amb tècniques d'hibridació "in situ" fluorescent (FISH) i amplificació de sondes múltiples dependents de lligació (MLPA).

Al 2010, es va recomanar la tècnica d'array d'hibridació genòmica comparada (aCGH) com a primera opció en pacients amb patologies del neurodesenvolupament, ja que es va demostrar que els resultats d'aquesta tècnica tenien una concordança perfecta amb els resultats obtinguts per les tècniques de FISH i MLPA, i proporcionava un major rendiment diagnòstic que el cariotip convencional (15% vs 3%) [5, 6], ja que detecta de manera ràpida i rentable les microduplicacions i microdeleccions més recurrents associades a síndromes i altres variants de número de còpia (CNV) amb rellevància clínica.

Existeixen un gran número de plataformes de aCGH, amb diferències notables en el seu rendiment diagnòstic. La comparació de les principals plataformes comercials duta a terme en un estudi multicèntric [7] va concloure que els arrays d'oligonucleòtids CGH amb disseny mixt i format 8x60K són els que proporcionen major rendiment cost/benefici.

### Les nostres dades

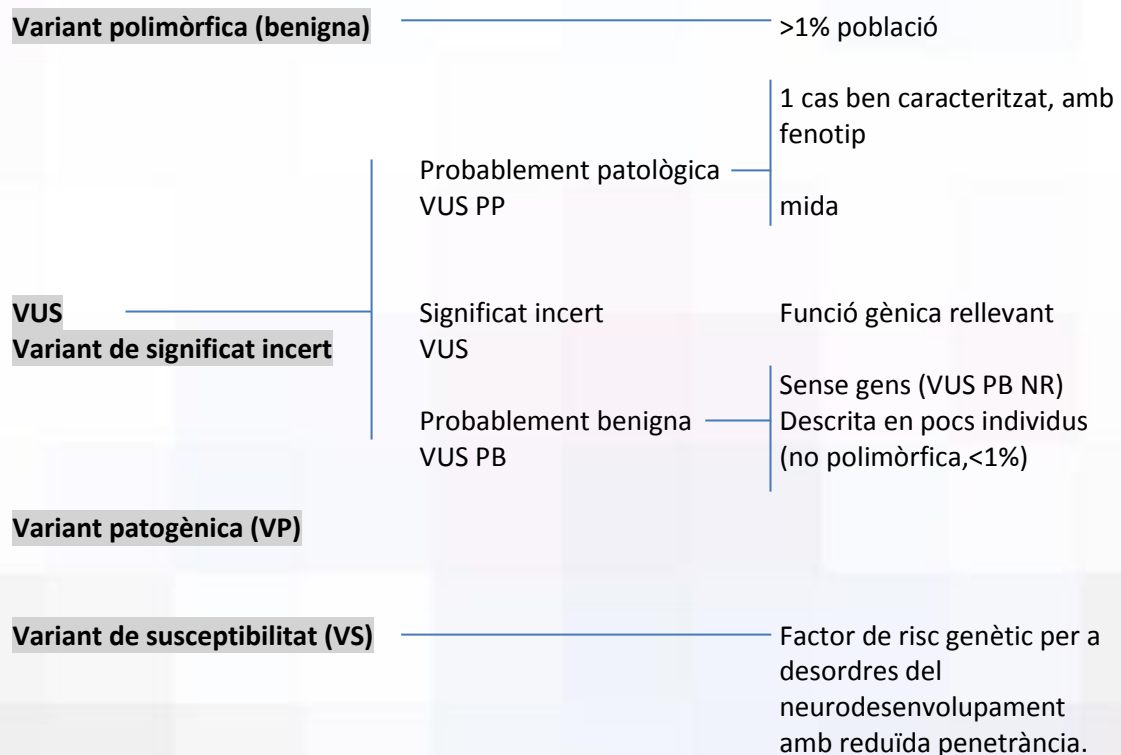
En el període d'abril de 2014 a juliol de 2020 hem realitzat 410 estudis postnatsals pediàtrics mitjançant la tècnica de aCGH, procedents dels serveis de neuropediatria, Centre de salut mental infantil i juvenil (CSMIJ), Unitat hospitalària de TEA (UHTEA), Pediatria, Neonatologia i Ginecologia, amb un 29% de pacients de sexe femení i un 71% masculí.

# Catlab Informa

El motiu de sol·licitud ha estat: RGD/DI, TEA, AC/trets dismòrfics, trastorn del llenguatge (TEL), trastorn per dèficit d'atenció i hiperactivitat (TDAH), epilèpsia, alteracions Sistema Nerviós Central (SNC), trastorn del comportament, hipotonia, talla baixa.

Utilitzem l'array qChip<sup>®</sup>CM de qGenomics (8X60K), amb 60.000 sondes de tipus oligonucleòtid, distribuïdes de manera mixta; uniforme al llarg de tot el genoma (backbone) i amb una major densitat en les regions d'interès (regions candidates associades a trastorns genòmics recurrents).

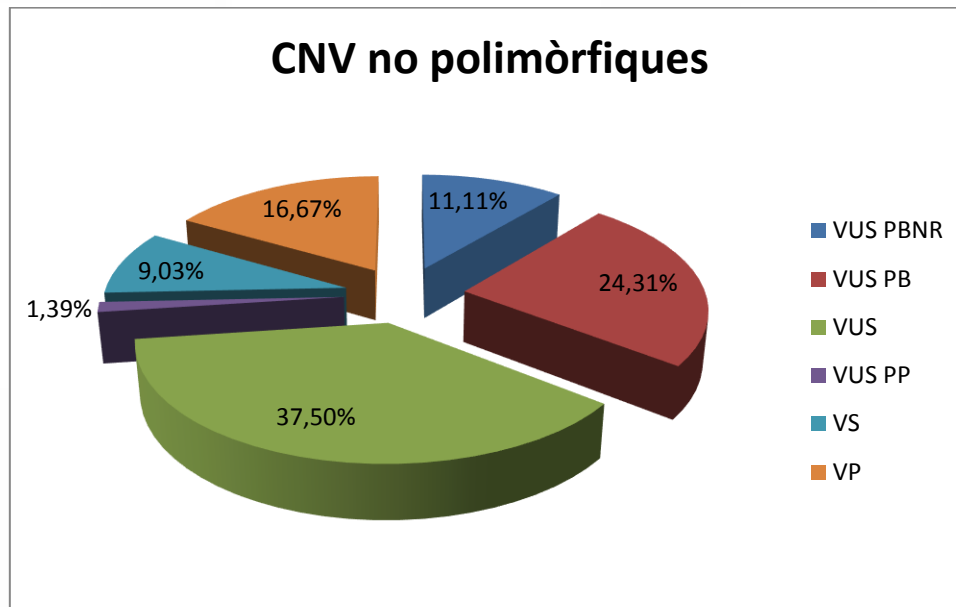
Les variants de numero de còpia (CNV) detectades es comparen amb les registrades a diferents bases de dades, preferentment a Database of Genomic Variants[8] i DECIPHER [9] i es valoren seguint les recomanacions del American College of Medical Genetics [10] classificant-les de la següent manera:



# Catlab Informa

El percentatge i classificació de les variants detectades es resumeix a la figura 1

Figura1:



En el 33'65% (138/410) dels casos es detecten CNV que no es poden considerar polimòrfiques. El 16'67% (23/138) es van classificar com a variants patogèniques, el 9'03% (12/138) com a variants de susceptibilitat, el 37'50% (54/138) com a variants de significat incert, el 1'39% (2/138) com a VUS probablement patogèniques, i el 35'41 (52/138) com a VUS probablement benigna (el 11'11%(16/138) sense contingut gènic, no es van reflectir a l'informe VUS PB NR).

El rendiment diagnòstic total assolit per la tècnica es del 8'53% (35/410) considerant com a resultat patològic la detecció de variants patogèniques o de susceptibilitat a desordres del neurodesenvolupament.

En 33 casos on es van detectar variants patogèniques, de susceptibilitat o VOUS es va determinar l'herència a partir de mostres parentals, en el 64% es va confirmar que era d'herència materna, en el 15% de herència paterna i el 21% *de novo*.

En dos casos es van detectar variants classificades com a "troballes incidentals", ja que no tenien relació amb el motiu de sol·licitud, però sí que tenien conseqüències tant pel proband com per a la família.

El rendiment assolit varia molt (4'54%-24'25%) en funció del motiu de consulta, coincidint els nostres resultats amb els estudis descrits a la literatura. També varia segons si la indicació per l'estudi és única, o relacionada amb un fenotip mixt així, el 76% dels pacients amb resultat patològic tenen més d'un tret coexistent.

# Catlab Informa

## Conclusions

El retard de desenvolupament, la discapacitat intel·lectual i les anomalies congènites són trets comuns en una àmplia varietat de síndromes genètics, o bé poden manifestar-se de forma aïllada. Degut a l'heterogeneïtat clínica i genètica, establir un diagnòstic en base a signes i símptomes clínics pot suposar un desafiament, especialment en el període neonatal. És per això que l'estudi genètic amb la utilització de la tecnologia apropiada pot ajudar a confirmar o establir el diagnòstic, el que pot resultar en canvis en el maneig clínic, i també a acabar amb el que en ocasions és una odissea diagnòstica, i per tant traduir-se en una millora pels pacients i les famílies [11].

Avui en dia, les tècniques de seqüenciació massiva (NGS) proporcionen un rendiment diagnòstic global superior al del aCGH en aquests pacients [12,13]. Existeixen els primers treballs en que s'avalua com es tradueix aquest rendiment diagnòstic en la millora del maneig clínic dels pacients i les seves famílies. Es conclou que cal obtenir més dades, per a generar evidència que suporti el benefici final sobre la salut, per tal de confeccionar una guia robusta respecte l'ús de l'exoma/genoma en l'atenció de pacients amb AC, RD i DI [11].

Amb les dades obtingudes podem concloure que a Catlab assolim un bon rendiment diagnòstic amb la tècnica de aCGH, que es pot comparar amb el descrit a la literatura [5].

Els bons resultats són producte de l'estreta relació amb els facultatius clínics, i el treball conjunt en l'orientació diagnòstica i l'abordatge a seguir en cada cas, amb el valor afegit de l'orientació cap a l'assessorament a les famílies.

La interpretació de les variants classificades com a VUS (12% del total dels casos analitzats) és encara a dia d'avui un desafiament alhora de classificar-les i reportar-les, així com també ho és l'existència de troballes incidentals. La utilització de tecnologies d'anàlisi global del genoma, i la quantitat creixent de dades obtingudes no fan sinó que reforçar la importància de l'assessorament genètic. L'experiència dels professionals del laboratori i dels clínics enfrontant aquests reptes suposen un valor afegit a l'hora d'incorporar noves rutines diagnòstiques, com les basades en la utilització de la seqüenciació exòmica.

## Bibliografia

- [1] Shevell M, Ashwal S, Donley D. Practice parameter: Evaluation of the child with global developmental delay: Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and The Practice Committee of the Child Neurology Society. *Neurology*. 2003;60:367---80.
- [2] Newschaffer CJ, Croen LA, Daniels J, Giarelli E, Grether JK, Levy SE, et al. The epidemiology of autism spectrum disorders. *Annu Rev Public Health*. 2007;28:235---58.
- [3] Corsello G, Giuffrè M. Congenital malformations. *J Matern Neonatal Med*. 2012;25:25---9.
- [4] Shaffer LG, Bejjani BA, Torchia B, Kirkpatrick S, Coppinger J, Ballif BC. The identification of microdeletion syndromes and other chromosome abnormalities: Cytogenetic methods of the past, new technologies for the future. *Am J Med Genet*. 2007;145C:335---45.
- [5] 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;86:749---64.

# Catlab Informa

- [6] Castells-Sarret N, Cueto-González AM, Borregan M, López-Grondona F, Miró R, Tizzano E, Plaja A. Array CGH como primera opción en el diagnóstico genético: 1.000 casos y análisis de coste-beneficio [Comparative genomic hybridisation as a first option in genetic diagnosis: 1,000 cases and a cost-benefit analysis]. *An Pediatr (Barc)*. 2018 Jul;89(1):3-11. Spanish. doi: 10.1016/j.anpedi.2017.07.011. Epub 2017 Sep 27. PMID: 28958749.
- [7] Huang S, Crolla J. Comparison for cytogenetics array platforms hardware and software for use in identifying copy number aberrations in constitutional disorders. 2010. National Genetics Reference Laboratory (Wessex). NGRWLW aCGH 1.0 [internet] Disponible en: <http://www.ngrl.org.uk/> consultat octubre 2020 [8] Database of Genomic Variants [internet] disponible a: <http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home>. Consultat octubre 2020
- [9] DECIPHER: Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans using Ensembl Resources. Firth, H.V. *et al.*, 2009. *Am.J.Hum.Genet* 84, 524-533 (DOI:[dx.doi.org/10.1016/j.ajhg.2009.03.010](https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2009.03.010))
- [10] Riggs E, 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). *Genetics in Medicine*, 2019.
- [11] Malinowski J, Miller DT, Demmer L, Gannon J, Pereira EM, Schroeder MC, Scheuner MT, Tsai AC, Hickey SE, Shen J; ACMG Professional Practice and Guidelines Committee. Systematic evidence-based review: outcomes from exome and genome sequencing for pediatric patients with congenital anomalies or intellectual disability. *Genet Med*. 2020 Jun;22(6):986-1004. doi: 10.1038/s41436-020-0771-z. Epub 2020 Mar 23. PMID: 32203227; PMCID: PMC7222126.
- [12] Smith HS, Swint JM, Lalani SR, et al. Clinical application of genome and exome sequencing as a diagnostic tool for pediatric patients: a scoping review of the literature. *Genet Med*. 2019;21:3–16.
- [13] Srivastava S, Love-Nichols JA, Dies KA, Ledbetter DH, Martin CL, Chung WK, Firth HV, Frazier T, Hansen RL, Prock L, Brunner H, Hoang N, Scherer SW, Sahin M, Miller DT; NDD Exome Scoping Review Work Group. Meta-analysis and multidisciplinary consensus statement: exome sequencing is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with neurodevelopmental disorders. *Genet Med*. 2019 Nov;21(11):2413-2421. doi: 10.1038/s41436-019-0554-6. Epub 2019 Jun 11. Erratum in: *Genet Med*. 2020 Oct;22(10):1731-1732. PMID: 31182824; PMCID: PMC6831729.

## **Maria Jiménez**

Genètica  
CATLAB  
Tel. 93.748.56.00 - ext. 35018, 35044  
Mòbil: 630649820  
[mjimenezn@catlab.cat](mailto:mjimenezn@catlab.cat)  
[www.catlab.cat](http://www.catlab.cat)

## **Dra. Emma Triviño**

Responsable Genètica  
CATLAB  
Tel. +34.93.748.56.00 - ext. 35018 / 628203392  
[etrivino@catlab.cat](mailto:etrivino@catlab.cat)  
[www.catlab.cat](http://www.catlab.cat)