

¿Cuál es el papel actual del estudio genético con CGH-Array en Neurología Infantil?



Dra. Rocío Jadraque Rodríguez

Sección de Neurología Pediátrica, HGUA



Respecto a esta conferencia

"¿Cuál es el papel actual del estudio genético con CGH-Array en Neurología infantil?"

No hay potenciales conflictos de intereses que declarar.



Introducción

- Evidencias genéticas de los trastornos del neurodesarrollo (**discapacidad intelectual o trastornos del espectro autista**)
Ampliamente demostradas
- Los avances en genética:
Incremento de la rentabilidad diagnóstica de un 3-5% a un 30-40%



- Los estudios por microarrays cromosómicos muestran un mayor poder diagnóstico que las técnicas convencionales

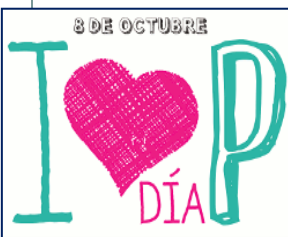
Protocolos diagnósticos: análisis de primera línea.
Otros estudios específicos: según las características clínicas del paciente

- **En otros trastornos del neurodesarrollo (TDAH, TEL,..) u otras patologías neurológicas (dismorfias, epilepsia...)**

No existen protocolos.

Individualizar cada caso.

Sí beneficios diagnósticos en casos sin etiología clara



Nociones básicas genéticas

-Trastornos genéticos:

- . alteración del número de genes (dosis)
- . variación en su secuencia (mutaciones)

-Técnicas de citogenética, convencionales:

1. Cariotipo:

Analiza tamaño de cromosomas y tinción de bandas

Microscopio óptico

Células en crecimiento

Detecta variaciones de dosis

(mínimo de cientos de genes -5Mb-)

2. FISH (sonda de hibridación fluorescente in situ):

Sondas específicas para regiones ricas en genes



-Técnicas de citogenética molecular:

Variaciones de dosis de unas pocas kb

Problema: “¿cuáles son las variaciones normales?”

1. CGH- Array:

Técnica CGH (hibridación genómica competitiva)

Hibridación competitiva de dos ADN

ADN problema y control que se trocean y se mezclan

Compiten por hibridar en los mismos lugares cromosómicos

Técnica CGH Array:

Fragmentos de ADN de menor tamaño (sondas).

Resolución miles de veces mayor

Excluye alteración de dosis. No una mutación puntual



2. Secuenciación masiva: (el futuro):

- ... de nueva generación
- Complica aún más la correlación con el fenotipo
- Paneles validados para un número limitado de genes:
 - Alta cobertura y fiabilidad de la secuencia
 - Paneles de epilepsia: secuenciación masiva de los genes más frecuentes. (Exoma)
- Detecta variaciones de dosis de secuencia, del exoma y en el futuro, de todo el genoma
- Problema: asignación de patogeneidad y consejo genético



COMPARATIVA:

Cariotipo:

Resolución microscópica (3-5 megabases)

Utilidad: alteraciones equilibradas y alteración en el número de cromosomas

Fish:

Como un array de menor resolución

Detecta variaciones que no impliquen número de copias (traslocaciones o inversiones)

Muy sensible a los mosaicismos.

MLPA: (amplificación por PCR)

Bajo coste y fácil de manejar

El array da mucha más información en una sola prueba



Ventajas del cgh-Array:

- ADN de cualquier muestra biológica. No células “vivas”.
- Mucha información en poco tiempo (48-72 horas).
- Medicina “individualizada”.
- Predictivo.
- Detecta al menos un 10% más de alteraciones en los casos de RM, TEA o dismorfias que un cariotipo convencional.

Desventajas del cgh-Array:

- no detecta alteraciones genéticas equilibradas.
Jutifican menos del 1% de los TND.
- no detecta poliploidías ni distintas poblaciones clonales.
- Alteraciones con fenotipos muy variables con penetrancia incompleta e impredecible: Bases de datos



Caso clínico

-Motivo de seguimiento en c. ext de neuropediatría:

Recién nacido de riesgo neurológico

RNPT (33S) PAEG (1970 gr)

EHI grado II/III

Eco cerebral neonatal: dilatación de ventrículos

-Evolución:

Seguido de manera periódica en consultas externas de neurología, neonatología y rehabilitación

Atención temprana

RM al año de vida: asimetría ventricular mayor izquierda y colpocefalia

EF: Patrón de retraso psicomotor moderado y espasticidad mayor en hemicuerpo derecho



Diagnóstico a los dos años:

“parálisis cerebral infantil secundaria a factores perinatales”

A los 4 años:

Se aprecian claramente microcefalia adquirida y dismorfias:

occipucio plano,

frente prominente,

ojos de orientación antimongoloide,

raíz nasal ancha,

boca grande con dientes separados,

micropene, testículos en canal inguinal, ...

Retraso mental grave,...muy alegre...

¡y sin hipertonía, ni claro problema motor iniciando deambulación con andador en esa época!

Reconsideramos el diagnóstico. ???????

Se solicita estudio genético.



-Cariotipo 46, XY. Normal.

No anomalías numéricas ni estructurales

No mosaicismos

-Cromosoma X-frágil: normal

-Estudio molecular del Síndrome de Angelman:

(estudio de metilación y de dosis del gen SNRPN (15q11-q12))

Se descartan deleciones y disomías uniparentales o

anomalías en la impronta en la región cromosómica estudiada

-Array CGH:

Delección en 18q21.2 de 0.467 Mb que afecta al gen TCF4 compatible con retraso mental y síndrome de Pitt Hopkins

Delección en 2q37.3 de 0.018 Mb sin patología asociada hasta la fecha



El síndrome de Pitt Hopkins (SPH):

Déficit intelectual, dismorfia facial característica y un patrón de respiración anormal e irregular

Se han descrito alrededor de 50 casos en todo el mundo

Los rasgos faciales:

macrostomía con dientes muy espaciados

paladar amplio y poco profundo,

labios gruesos, ojos hundidos, fosas nasales separadas y orejas con hélices grandes

Problemas psicomotores tempranos y graves:

hipotonía, marcha inestable y adquirida tardíamente y ausencia de lenguaje

Otros: microcefalia, retraso en el crecimiento postnatal y crisis epilépticas graves





El síndrome está causado por mutaciones de novo heterocigotas en el gen TCF4 (18q21), que codifica para el factor de transcripción b-HLH ubícuo

El diagnóstico es de sospecha según examen clínico

El diagnóstico diferencial incluye el síndrome de Angelman, el síndrome de Rett

El manejo requiere de un enfoque multidisciplinar

El curso de la enfermedad es no progresivo



Protocolo diagnóstico para alteraciones del neurodesarrollo y dismorfias únicas o múltiples:

1. RM/TEA:

Evaluación por especialistas (neuropediatra/psiquiatra):

- Valorar RM craneal. EEG, estudio metabólicos...
- Aquellos niños con sospecha de enfermedad MONOGÉNICA concreta: cribado de gen único (X-frágil, sd Rett, Angelman...)

2. Niño dismórfico: valoración por genetista o dismorfólogo para pruebas pertinentes (ecografías, radiologías)...



No es recomendable que desde atención primaria se solicite CGH arrays como primera prueba diagnóstica

Plantear cariotipo si se sospechan: monosomías o trisomías completas (sobre todo aneuploidías sexuales (X0, XYY,...))

Valorar siempre X-Frágil (en niños) y sd de Rett (en niñas)

Si la etiología permanece desconocida: CGH Array

Tipifican en su origen genético hasta el 30%

sobre todo en casos severos o si se acompañan de dismorfias , epilepsia...

Con técnicas anteriores un 3%



En nuestro hospital: (por cortesía Dra. Gutiérrez)

(Mayo de 2009 a mayo de 2011)

Peticiones de CGH-Array en TEA/ RPM y/o rasgos dismórficos y/o malformados/ sindrómicos.

242 cgh-arrays con cariotipo previo normal

- Normales: 198 (81,8 %)
- **Anomalías patológicas justificantes de la clínica (exceptuando los dudosos): 29 (11,98 %)**
- Dudosos: 15 (6,2 %)
 - DPB: 5 (33,3 %) dudosos probablemente benignos.
 - DPP: 7 (46,7 %) dudosos probablemente patológicos.
 - D: 3 (20%) dudosos.

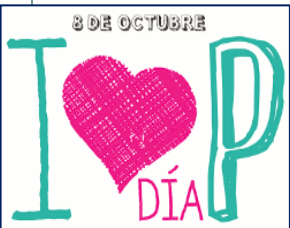
De las anomalías detectadas hay 8 con un tamaño igual o superior a 4 Mb. Deberían detectarse con un cariotipo



Conclusiones: TND y dismorfias:

- Etiología:
 - base genética en un 40%
 - teratógenos ambientales y prematuridad en un 20%
 - enfermedades metabólicas en un 1-5%
 - causas multifactoriales en un 3-12%.
- El orden de los estudios los guiará la clínica
- Los AF, la HC y el EF permitirán sospechar un diagnóstico en 2/3 de los casos
- En 1/3 las pruebas de barrido podrían confirmar una etiología. El rendimiento genético diagnóstico estimado:
 - cariotipo 9%, X frágil 5%, anomalías subteloméricas 4%
 - y **nuevas técnicas de microarrays, 19%**

A pesar de los avances: el 50% de los niños con TND permanecen sin diagnóstico etiológico



Muchas gracias



Puente Oresund. Dinamarca-Suecia

