

RENDIMIENTO DIAGNÓSTICO DE LAS DIFERENTES TÉCNICAS GENÓMICAS EN TRASTORNOS NEUROLÓGICOS DE LA INFANCIA

Autora: Claudia Gambín García – R3 Pediatría

Tutorizado por:

- Dr. Francisco Gómez Gosálvez – Adjunto Neuropediatría

- Dra. Rocío Jdraque Rodríguez – Adjunta Neuropediatría

Colaboración: Guillermo Díez de Revenga Nieto (R3 pediatría); Ana Gomis Rodríguez (R3 pediatría)

Centro: Hospital General de Alicante



ÍNDICE

1. Introducción
2. Técnicas genómicas: array y exoma
3. Objetivo
4. Material y métodos
5. Resultados
6. Revisión artículos bibliográficos
7. Conclusiones
8. Bibliografía

INTRODUCCIÓN

El gran desarrollo de las tecnologías genómicas y su incorporación a la práctica clínica habitual está suponiendo un gran impacto en la atención médica, particularmente en pediatría, en la que cada vez se tiene más en cuenta la información genética del paciente para su atención médica

A medida que se incrementa el uso de técnicas genómicas se hacen más evidentes algunas **dificultades en el uso:**

1. Falta de unanimidad en los protocolos del uso de cada prueba según la patología
2. Obtención de resultados no concluyentes que pueden dar lugar a error en la interpretación de los mismos
3. Estigmatización del paciente al considerarlo como “enfermo” tras un resultado informativo del que se desconoce su correlación clínica



INTRODUCCIÓN

El uso de estas nuevas técnicas es de especial importancia en neuropediatría, dado que son el pilar fundamental del diagnóstico etiológico de patologías como el retraso intelectual (1-3%) y de los trastornos del espectro autista (TEA) (0,7-2%)

El diagnóstico genético de estos pacientes puede ser de gran utilidad en su manejo clínico, permite un pronóstico preciso y, sobre todo, es fundamental para la prevención de la aparición de nuevos casos (asesoramiento genético familiar)

Actualmente, técnica de primera elección para trastornos del neurodesarrollo es el array de hibridación genómica comparada (arrayCGH) con un rendimiento del 10-20%

Sin embargo, la secuenciación masiva de ADN (NGS) está tomando protagonismo en los últimos años. Permite realizar estudios dirigidos a un conjunto de genes (panel de genes), estudios de exoma completo (WES) o incluso la secuenciación del genoma completo (WGS)

TÉCNICAS GENÓMICAS



ARRAY-CGH

Detección de aneuploidías, deleciones, duplicaciones y/o amplificaciones de cualquier locus del genoma

Algunos ejemplos de enfermedades genéticas por alteración en el número de copias de ciertos fragmentos del genoma:

- **Síndrome de DiGeorge:** causado por la deleción de un fragmento del cromosoma 22
- **Síndrome de Cri-du-Chat:** causado por la deleción de un fragmento en el brazo corto del cromosoma 5

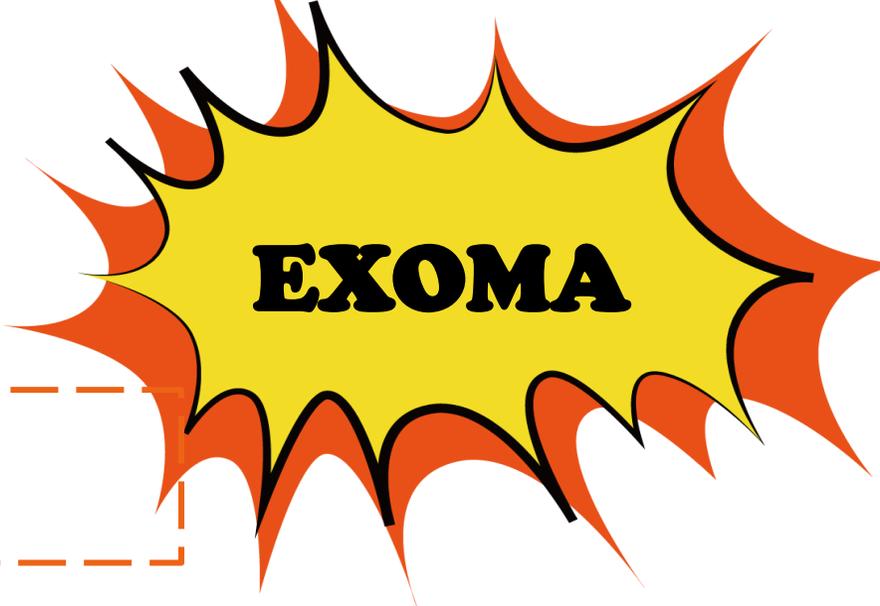
TÉCNICAS GENÓMICAS



LIMITACIONES

1. No identifican reordenamientos cromosómicos equilibrados (como translocaciones e inversiones), en los cuales no se producen pérdidas o ganancias de material genómico
2. No detectan algunos tipos de poliploidía (más de los 2 conjuntos habituales de cromosomas), como la triploidía
3. No detectan mutaciones puntuales en el ADN
4. No detectan mosaicismos

TÉCNICAS GENÓMICAS



EXOMA

Secuenciación del exoma completo (Whole Exome Sequencing - WES)

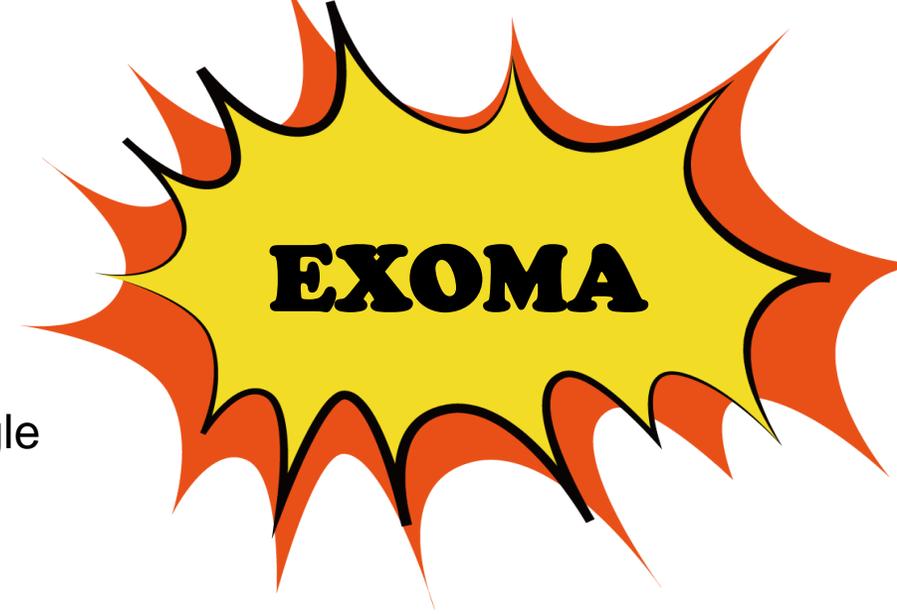
Genoma humano → conjunto de exones (codificante) e intrones

Exoma → conjunto de exones (1-2% del genoma)

Más del 80% de las mutaciones causantes de enfermedad conocidas localizadas en los exones

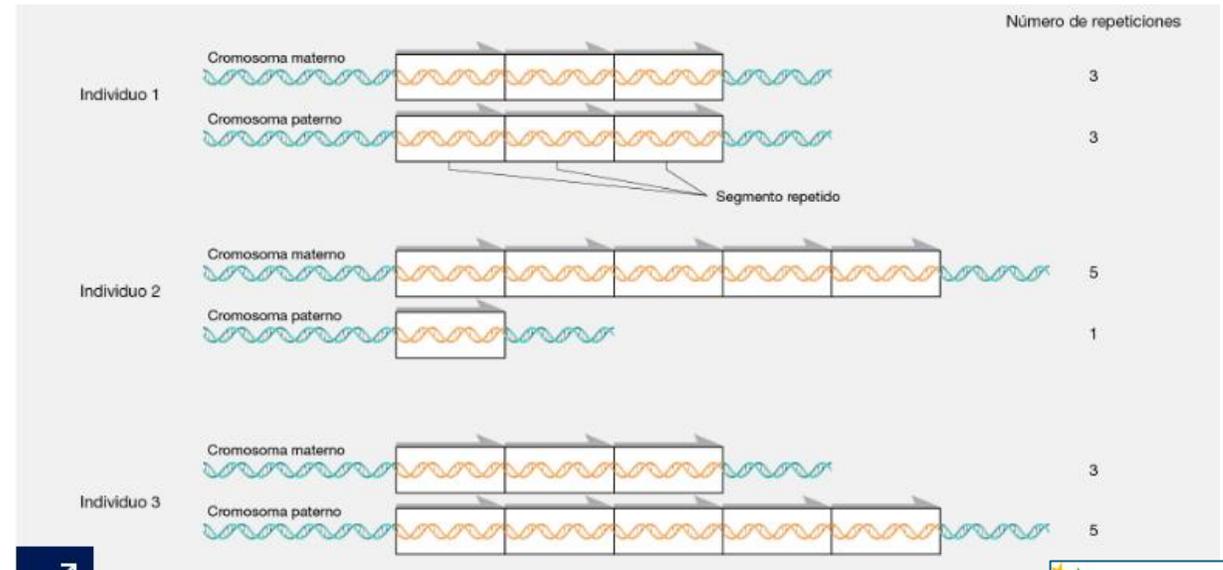
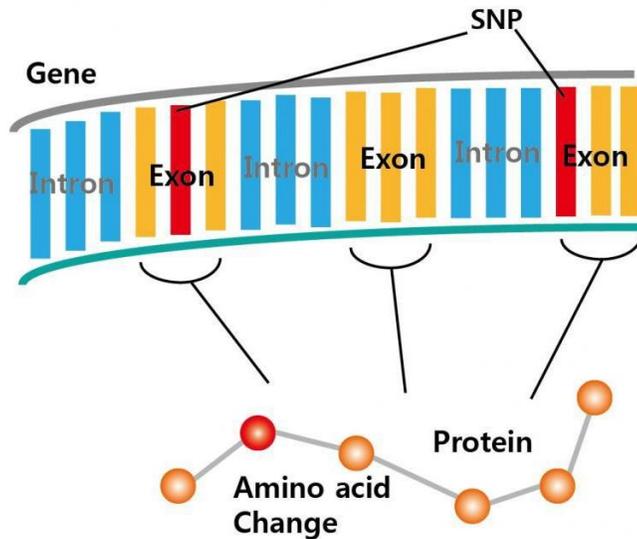
Avance tecnológico → técnica cada vez más económica. Secuenciar el exoma completo brinda muchas posibilidades de hallar la mutación causante de la enfermedad que estamos estudiando

TÉCNICAS GENÓMICAS



Detección de:

- Variantes de un solo nucleótido (SNP de sus siglas en inglés Single Nucleotide Polymorphism)
- InDels (inserciones o deleciones de nucleótidos)
- Variación del número de copias (VNC)



TÉCNICAS GENÓMICAS

CLASIFICACIÓN DE VARIANTES



La patogenicidad de las variantes se determina utilizando la recomendación del Colegio Americano de Genética Médica (ACMG)

Las categorías de variantes establecidas por el ACMG son:

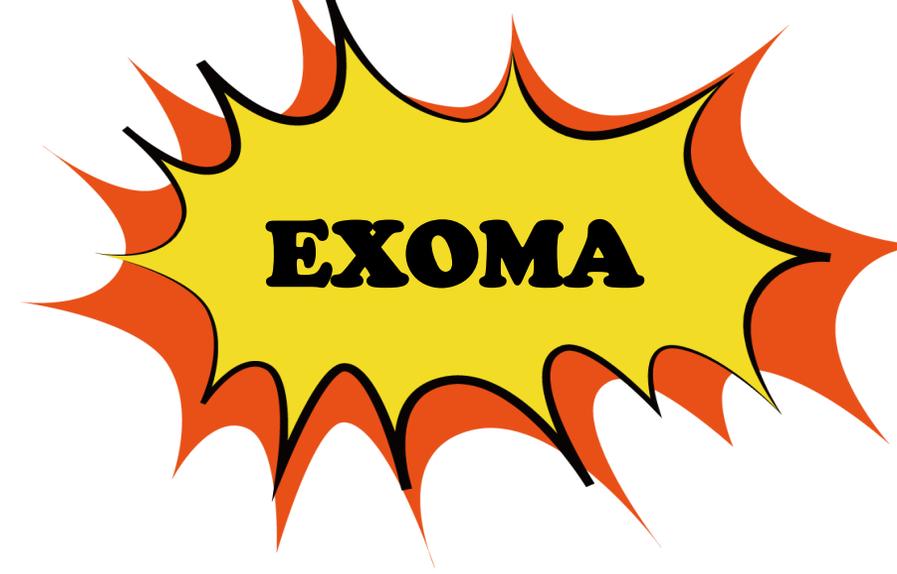
1. Variantes patogénicas
2. Variantes probablemente patogénicas
3. Variantes de significado incierto
4. Variantes probablemente benignas
5. Variantes benignas

Según el ACMG para considerar un resultado informativo han de considerarse las **patogénicas y las probablemente patogénicas**

OJO!

La clasificación de las variantes encontradas en un estudio genético puede cambiar con el tiempo

TÉCNICAS GENÓMICAS



LIMITACIONES

En cuanto al estudio del material genético no detecta:

1. Grandes deleciones/duplicaciones mayores de 40 pares de bases
2. Translocaciones equilibradas ni inversiones
3. Disomía uniparental
4. Variantes que se encuentren en una proporción celular inferior al 50% (mosaicismo)
5. Regiones con expansión de tripletes (síndrome de X frágil, ataxia de Friedreich, enfermedad de Steinert, corea de Huntington...)

OBJETIVO

En nuestro centro, hasta el momento actual, el algoritmo utilizado para el diagnóstico de trastornos neurológicos sigue las directrices existentes → array-CGH y/o X-frágil como pruebas de primer nivel seguidos de secuenciación del exoma en los casos no resueltos por el primer enfoque



Estudiar el **rendimiento de las diferentes técnicas genómicas (entre array y exoma)** para el diagnóstico de enfermedades en el campo de la neuropediatría según la clínica, así como hallar aquellos patrones clínicos que se beneficiarían del diagnóstico mediante un exoma como técnica de elección inicial

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio retrospectivo de casos donde se analizan los datos de **71 pacientes** con clínica neurológica en seguimiento en consultas externas de Neurología Pediátrica del Hospital General Universitario Dr. Balmis a los que se les solicitó estudio genético mediante exoma y array-CGH simultáneamente entre enero del 2021 y enero 2024

Variables principales: edad, sexo, estudio genético (exoma y array-CGH) y clínica (fenotipo)

Según la clínica al debut se clasificó a los pacientes en **4 categorías:**

1. Trastornos epilépticos
2. Trastornos neuromusculares
3. Trastornos del neurodesarrollo (retraso psicomotor, retraso intelectual...)
4. Malformaciones congénitas



RESULTADOS

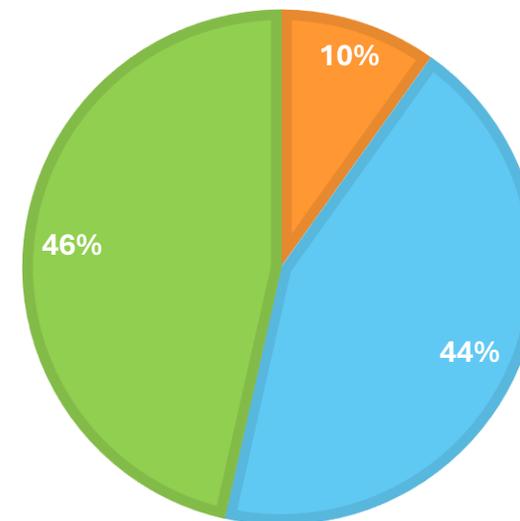
Tamaño muestral - 71 casos

Masculino 73%
Femenino 27%

Trastorno epiléptico	
- Si	24 (33,8%)
- No	47 (66,2%)
Trastorno Neurodesarrollo	
- Si	60 (84,5%)
- No	11 (15,5%)
Trastorno Neuromuscular	
- Si	22 (31%)
- No	49 (69%)
Malformaciones congénitas	
- Si	23 (32,4%)
- No	48 (67,6%)

DISTRIBUCIÓN POR EDAD

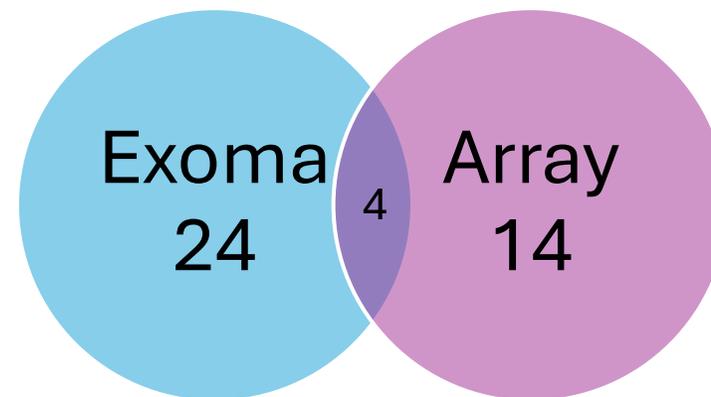
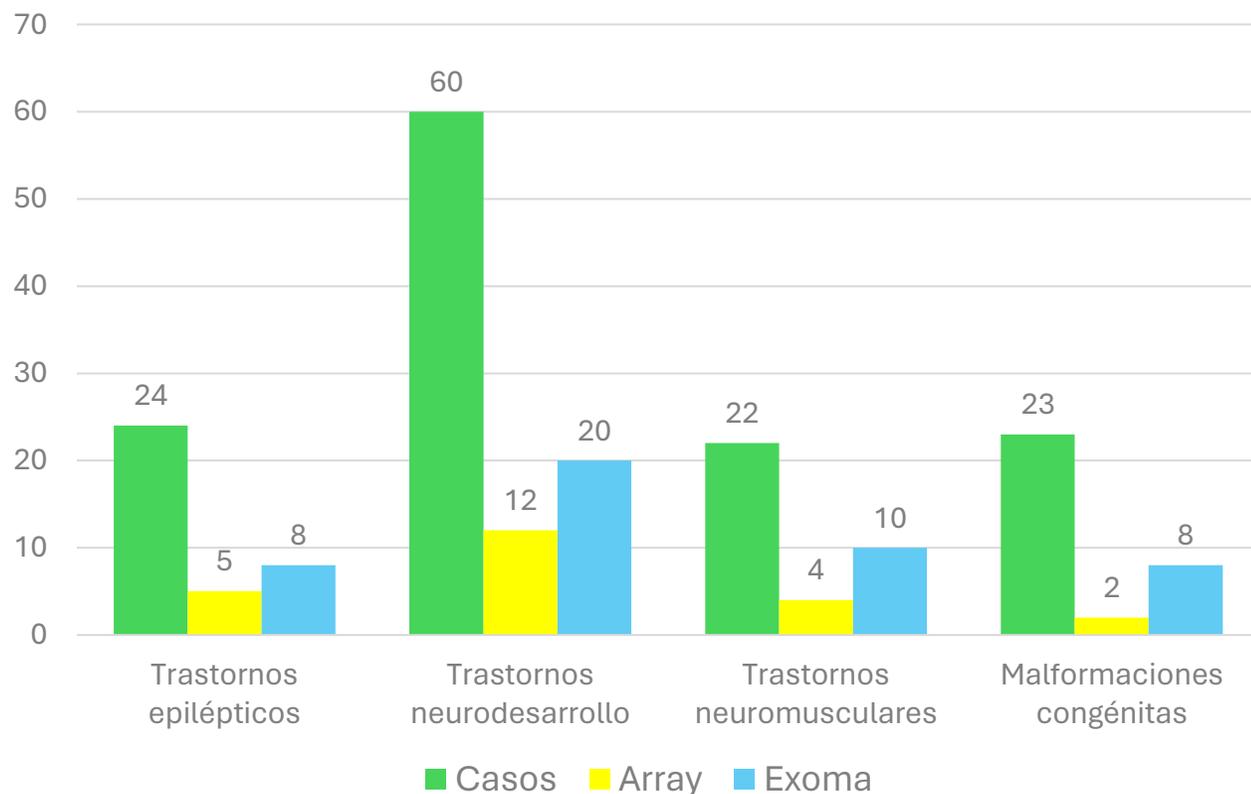
Neonatos Lactantes Escolares



RESULTADOS

38 casos (53%) con estudio genético informativo teniendo en cuenta sólo aquellos con resultados de variantes probablemente patogénicas y variantes patogénicas

Resultados según técnica genómica



Rendimiento del exoma 34,8% frente a un rendimiento del array del 20,5%

Un 60% de los casos con resultado genético informativo para el diagnóstico fue determinado exclusivamente por exoma frente a un 30% por array

RESULTADOS

Según nuestros resultados impresiona de un rendimiento diagnóstico ligeramente mayor con el exoma que con el array.
Cabe destacar que el 46% de los casos no se obtuvo un diagnóstico genético

Meta-analysis and multidisciplinary consensus statement: exome sequencing is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with neurodevelopmental disorders

Siddharth Srivastava, MD¹, Jamie A. Love-Nichols, MS, MPH¹, Kira A. Dies, ScM¹,
David H. Ledbetter, PhD², Christa L. Martin, PhD², Wendy K. Chung, MD, PhD^{3,4},
Helen V. Firth, DM, FRCP^{5,6}, Thomas Frazier, PhD⁷, Robin L. Hansen, MD⁸, Lisa Prock, MD, MPH^{1,9},
Han Brunner, MD^{10,11,12}, Ny Hoang, MS^{13,14,15}, Stephen W. Scherer, PhD^{14,15,16,17},
Mustafa Sahin, MD PhD¹, David T. Miller, MD PhD¹⁸
and the NDD Exome Scoping Review Work Group

Metaanálisis de 30 artículos , año 2019 → el WES supera al array en la evaluación de trastornos del neurodesarrollo (NDD) → rendimiento del 36 % en general, del 31 % para las NDD aislados y del 53 % para las NDD más condiciones asociadas

Comparison of the diagnostic yield of aCGH and genome-wide sequencing across different neurodevelopmental disorders

Francisco Martinez-Granero^{1,4}, Fiona Blanco-Kelly^{1,2,4}, Carolina Sanchez-Jimeno^{1,2}, Almudena Avila-Fernandez^{1,2}, Ana Arteché³, Ana Bustamante-Aragones^{1,2}, Cristina Rodilla¹, Elvira Rodríguez-Pinilla^{1,2}, Rosa Riveiro-Alvarez^{1,2}, Saoud Tahsin-Swafiri^{1,2}, Maria Jose Trujillo-Tiebas^{1,2}, Carmen Ayuso^{1,2}, Marta Rodríguez de Alba^{1,2}, Isabel Lorda-Sanchez^{1,2} and Berta Almoguera^{1,2}✉

Estudio español, año 2021, cohorte 1412 pacientes demostró que el WES era superior al array en el diagnóstico genético de diferentes trastornos del neurodesarrollo en general y también en todas las categorías y subcategorías de fenotipo, salvo en caso del TEA aislado. Se alcanzó significación estadística para retraso global (WES 26,2% vs 8,4% por aCGH). En las diferentes categorías WES logró el mayor rendimiento:

- WES 55,6%, para formas de retraso global con micro o macrocefalia (8,3% por aCGH)
- WES 31,5% para formas sindrómicas de retraso global (12,1% para aCGH)
- WES 26,7% para formas de retraso global con epilepsia (16,7% por aCGH)

The contribution of whole-exome sequencing to intellectual disability diagnosis and knowledge of underlying molecular mechanisms: A systematic review and meta-analysis

[Karen Y Sánchez-Luquez](#)¹, [Marina Xavier Carpena](#)², [Simone M Karam](#)³, [Luciana Tovo-Rodrigues](#)

Revisión sistemática y metaanálisis, año 2022, que demuestran la superioridad del WES en cuanto a rendimiento diagnóstico en retraso intelectual

Genome-Wide Sequencing Modalities for Children with Unexplained Global Developmental Delay and Intellectual Disabilities—A Narrative Review

[Mary Hsin-Ju Ko](#)¹ and [Hui-Ju Chen](#)^{2,3,*}

Revisión, año 2023, que concluye con la superioridad del WES sobre el array en retraso global del desarrollo

A semiautomated whole-exome sequencing workflow leads to increased diagnostic yield and identification of novel candidate variants

[Jianling Ji](#),^{1,2} [Lishuang Shen](#),¹ [Moiz Bootwalla](#),¹ [Catherine Quindipan](#),¹ [Tatiana Tatarinova](#),³ [Dennis T. Maglente](#),¹
[Jonathan Buckley](#),^{1,2} [Gordana Raca](#),^{1,2} [Sulagna C. Saitta](#),^{1,2} [Jaclyn A. Biegel](#),^{1,2} and [Xiaowu Gai](#)^{1,2}

Estudio descriptivo, 106 casos, año 2023, donde se evidencia la superioridad del WES en diferentes patologías

CONCLUSIONES

- Desde el año 2010 las guías recomiendan el array y el estudio de X frágil como pruebas de primer nivel para el diagnóstico de trastornos del neurodesarrollo y TEA con un rendimiento de 10-20%
- Cada vez hay más evidencia de la superioridad, en cuanto al rendimiento diagnóstico, de la secuenciación del exoma (30-40%) para los trastornos del neurodesarrollo frente al array
- Si bien todos los estudios coinciden en el uso de secuenciación del exoma como primer enfoque para el diagnóstico de trastornos del neurodesarrollo, aún no existen directrices aceptadas para su uso sistemático en la práctica clínica

Sugerimos seguir usando el array como prueba de primer nivel en el retraso mental leve/moderado no asociado a otras condiciones y en el TEA no complicado

- Conocer en qué consisten las diferentes técnicas genómicas, así como la base genética de la patología sospechada nos puede ayudar a seleccionar la mejor técnica para su diagnóstico
- Moderar las expectativas con respecto a los resultados de las pruebas genéticas a pesar de los avances tecnológicos dado que aproximadamente en el 50% de los casos no se obtiene un diagnóstico genético

BIBLIOGRAFÍA

1. Igenomix. Secuenciación del exoma completo (WES) :1–2 [Internet]. Disponible en: https://www.igenomix.es/wp-content/uploads/sites/5/2021/10/Secuenciacion-del-exoma-completo_Igenomix.pdf
2. Álvarez Ríos Sofía M. Análisis de Exomas y Genomas. Genotipia [Internet]. 2022. [consultado 20 Abr 2024]. Disponible en: <https://genotipia.com/analisis-de-exoma-y-genoma/>
3. Santos Simarro F, Vallespín García E, Palomares Bralo M. Nuevas metodologías en el estudio de enfermedades genéticas y sus indicaciones. *Pediatr Integr*. [Internet]. 2019;23(5):241–8. Disponible en: https://www.pediatriaintegral.es/wp-content/uploads/2019/xxiii05/02/n5-241-248_FernanSantos.pdf
4. Van El CG, Cornel MC, Borry P, Hastings RJ, Fellmann F, Hodgson S V., et al. Whole-genome sequencing in health care. *Eur J Hum Genet*. 2013;21(6):580–4
5. Moeschler JB, Shevell M, Saul RA, Chen E, Freedenberg DL, Hamid R, et al. Comprehensive evaluation of the child with intellectual disability or global developmental delays. *Pediatrics*. 2014;134(3):e903–18
6. Ji J, Shen L, Bootwalla M, Quindipan C, Tatarinova T, Maglinte DT, et al. A semiautomated whole-exome sequencing workflow leads to increased diagnostic yield and identification of novel candidate variants. *Cold Spring Harb Mol Case Stud*. 2019;5(2):1–19
7. Srivastava S, Love-Nichols JA, Dies KA, Ledbetter DH, Martin CL, Chung WK, et al. Meta-analysis and multidisciplinary consensus statement: exome sequencing is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with neurodevelopmental disorders. *Genet Med* [Internet]. 2019;21(11):2413–21. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41436-019-0554-6>
8. Ko MHJ, Chen HJ. Genome-Wide Sequencing Modalities for Children with Unexplained Global Developmental Delay and Intellectual Disabilities—A Narrative Review. *Children*. 2023;10(3)
9. Martínez-Granero F, Blanco-Kelly F, Sánchez-Jimeno C, Avila-Fernández A, Arteché A, Bustamante-Aragones A, et al. Comparison of the diagnostic yield of aCGH and genome-wide sequencing across different neurodevelopmental disorders. *npj Genomic Med*. 2021;6(1):1–12
10. Sánchez-Luquez KY, Carpena MX, Karam SM, Tovo-Rodrigues L. The contribution of whole-exome sequencing to intellectual disability diagnosis and knowledge of underlying molecular mechanisms: A systematic review and meta-analysis. *Mutat Res Rev Mutat Res*. [Internet]. 2022 [Consultado 20 Abr 2024]; Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35905832/>

RENDIMIENTO DIAGNÓSTICO DE LAS DIFERENTES TÉCNICAS GENÓMICAS EN TRASTORNOS NEUROLÓGICOS DE LA INFANCIA

Autora: Claudia Gambín García – R3 Pediatría

Email: claudiadoble@gmail.com