

**IMPORTANCIA DE LAS TÉCNICAS DE SECUENCIACIÓN
DE NUEVA GENERACIÓN Y LA HIBRIDACIÓN GENOMICA
COMPARATIVA – ARRAY EN EL DIAGNÓSTICO
ETIOLÓGICO DE PACIENTES QUE ACUDEN A
CONSULTA MÉDICA DE GENÉTICA.**

Tesis presentada al Programa de
Postgrado en Genética como
requisito parcial para obtener
el grado de Magister.

Pablo Andrés Robayo Gómez

Tutor: MSc. Henry Ostos Alfonso

Cotutor: PhD. Cristiano Trindade

Barranquilla (Atlántico), Colombia

2020

RESUMEN

Las técnicas de Secuenciación de nueva generación (NGS) y la hibridación genómica comparativa con *microarrays* (a-CGH) permiten el estudio de las anomalías cromosómicas. Su utilidad en la aproximación diagnóstica de los pacientes con retraso global del desarrollo, alteraciones dismórfológicas, alteraciones en talla, peso y neoplasias es importante. Sin embargo, no han sido estudiadas en poblaciones colombianas en centros de salud periféricos. Por lo anterior, se realizó un estudio observacional descriptivo y retrospectivo transversal de serie de casos, con 208 pacientes que asistieron a la consulta médica de genética del Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo de la ciudad de Neiva (Huila), el cual tuvo como objetivo principal evaluar el rendimiento diagnóstico de las NGS y la aCGH; el uso de estas técnicas permitió la identificación de patologías que no fueron detectadas mediante ejercicio clínico, u otro tipo de exámenes de apoyo, incluyendo técnicas de citogenética clásica, arrojando en conjunto un rendimiento diagnóstico del 44% en la población estudiada. De esta manera, se evidencio que estos exámenes moleculares son efectivos en la aproximación diagnóstica etiológica de pacientes con enfermedades de base genética y deben ser utilizados como técnicas de primera línea en los casos indicados.

PALABRAS CLAVE: Exoma, microarrays, retraso global del desarrollo, cromosomopatías.

ABSTRACT

New generation sequencing techniques (NGS) and comparative genomic hybridization with microarrays (a-CGH) allow the study of chromosomal abnormalities. Its utility in the diagnostic approach of patients with global developmental delay, dysmorphological alterations, alterations in height, weight, and malignancies is important. However, we have not been studied in Colombian populations in peripheral health centers. Therefore, an observational descriptive and retrospective cross-sectional study of case series was carried out with 208 patients who attended the genetic consultation at the Hernando Moncaleano Perdomo University Hospital in the city of Neiva (Huila), whose main objective was to evaluate the diagnostic performance of the NGS and the a-CGH; The use of these techniques allowed the identification of pathologies that were not detected through clinical exercise, or other types of support exams, including classical cytogenetic techniques, together yielding a diagnostic yield of 44% in the study population. In this way, it is evident that these molecular exams are effective in the etiological diagnostic approach of patients with genetically based diseases and should be used as first-line techniques in the indicated cases.

KEYWORDS: Exome, Microarrays, Global developmental delay, Chromosomal disorders

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Castells-Sarret N, Cueto-Gonzalez AM, Borregan M, Lopez-Grondona F, Miro R, Tizzano E, et al. Comparative genomic hybridisation as a first option in genetic diagnosis: 1000 cases and a cost–benefit analysis. 2018;89(1):3-11.
2. Carrillo Fontalvo G. Contribución al diagnóstico oportuno en un paciente con síndrome Williams-Beuren SWB. 2019.
3. Soto Insuga V. Análisis de utilidad del estudio genético en las epilepsias percibido por familiares y personal médico. 2018.
4. Calabria I, Pedrola L, Berlanga P, Aparisi MJ, Sánchez-Izquierdo D, Cañete A, et al. El nuevo reto en oncología: la secuenciación NGS y su aplicación a la medicina de precisión. Anales de Pediatría. 2016;85(5):273.e1-.e7.
5. Saldarriaga W, García-Perdomo HA, Arango-Pineda J, Fonseca JJAjoo, gynecology. Karyotype versus genomic hybridization for the prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities: a metaanalysis. 2015;212(3):330. e1-. e10.
6. Zarate I, Castillo MC, Garcia N, Suarez F, Gutierrez CA, Umaña AJUm. Análisis clínico epidemiológico de factores asociados a malformaciones congénitas ECLAMC-Hospital Universitario San Ignacio junio-diciembre de 2001. 2002;121-7.
7. Md SS-G, Diego-Álvarez D, Buades C, Romera-López A, Pérez-Cabornero L, Valero-Hervás D, et al. DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE ENFERMEDADES GENÉTICAS: DEL DIAGNÓSTICO GENÉTICO AL DIAGNÓSTICO GENÓMICO CON LA SECUENCIACIÓN MASIVA. 2015;26(4):458-69.
8. Lay-Son RG, León PLJRcdp. Perspectivas actuales sobre el diagnóstico genómico en pediatría. 2015;86(1):3-11.
9. Guillén DMGJErldfcdls. Las enfermedades raras, un reto histórico. 2017(47):1-2.
10. González-Lamuño D, García Fuentes M, editors. Enfermedades de base genética. Anales del Sistema Sanitario de Navarra; 2008: SciELO Espana.
11. Silva CT, Contreras NC, Fonseca DJJAMC. Utilidad de la citogenética en la medicina actual. Visión histórica y aplicación. 2008;33(4):309-16.
12. Méndez Rosado LA, Nodarse Rodríguez A, Morales Rodríguez E, Barrios Martínez A, Soriano Torres M, Castelvi López AJRCdOyG. Diagnóstico prenatal citogenético mediante la hibridación in situ con fluorescencia. 2012;38(1):1-10.
13. 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. 2010;86(5):749-64.
14. Moeschler JB, Shevell MJP. Clinical genetic evaluation of the child with mental retardation or developmental delays. 2006;117(6):2304-16.
15. Osorio VA, Guerrón LGG, Cheyne JARJRMU. Hibridación genómica comparativa: su interpretación y uso como herramienta diagnóstica en retardo mental inespecífico y síndromes de microdelección/microduplicación. 2016;29(2):11.

16. Coe BP, Lockwood WW, Chari R, Lam WL. Comparative genomic hybridization on BAC arrays. *Microarray Analysis of the Physical Genome*: Springer; 2009. p. 7-19.
17. Lee C, Iafrate AJ, Brothman ARJNg. Copy number variations and clinical cytogenetic diagnosis of constitutional disorders. 2007;39(7s):S48.
18. Heather JM, Chain BJG. The sequence of sequencers: The history of sequencing DNA. 2016;107(1):1-8.
19. Dovichi NJJE. DNA sequencing by capillary electrophoresis. 1997;18(12-13):2393-9.
20. Bello Lemus Y. Asociación del polimorfismo FCGR2B-I232T con lupus eritematoso sistémico y nefritis lúpica en una población del Caribe colombiano. 2019.
21. Hert DG, Fredlake CP, Barron AEJE. Advantages and limitations of next-generation sequencing technologies: a comparison of electrophoresis and non-electrophoresis methods. 2008;29(23):4618-26.
22. Demkow U, Ploski R. Clinical applications for next-generation sequencing: Academic Press; 2015.
23. Xuan J, Yu Y, Qing T, Guo L, Shi LJCl. Next-generation sequencing in the clinic: promises and challenges. 2013;340(2):284-95.
24. Mardis ERJTig. The impact of next-generation sequencing technology on genetics. 2008;24(3):133-41.
25. Bautista RJEelB. Las tres generaciones de la secuenciación. 2010;3(128):4.
26. Metzker MLJNrg. Sequencing technologies—the next generation. 2010;11(1):31.
27. Martín IMDL, de Nanclares Leal GP. Nuevas tecnologías aplicadas en la detección de alteraciones genéticas. 2018.
28. Carroll C, Brilhante V, Suomalainen AJBjop. Next-generation sequencing for mitochondrial disorders. 2014;171(8):1837-53.
29. Ribate MP, Ramos FJJAdPC. Dismorfología clínica genética II: técnicas de diagnóstico molecular en los síndromes pediátricos. 2008;6(3):147-54.
30. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. 2015;17(5):405.
31. Matthijs G, Souche E, Alders M, Corveleyn A, Eck S, Feenstra I, et al. Guidelines for diagnostic next-generation sequencing. 2016;24(1):2.
32. Yska HA, Elsink K, Kuijpers TW, Frederix GW, van Gijn ME, van Montfrans MJJoci. Diagnostic yield of next generation sequencing in genetically undiagnosed patients with primary immunodeficiencies: a systematic review. 2019;39(6):577-91.
33. de Trocóniz LLFJAmeep. Conceptos básicos para la solicitud e interpretación de estudios genético-moleculares en la clínica. 2015:15.
34. Tabarestani S, Ghaderian S, Rezvani HJAPJCP. Detection of gene amplification by multiplex ligation-dependent probe amplification in comparison with in situ hybridization and immunohistochemistry. 2015;16(17):7997-8002.

35. Llorente JL, Aldama P, Álvarez-Marcos C, Escudero J, Alonso-Guervós M, Fresno F, et al. Análisis genético molecular con MLPA en los adenocarcinomas nasosinusales. 2008;59(4):151-8.
36. Estrada-Juárez H, Fernández-Hernández L, Rivera-Pedroza C, Grether-González PJPyrh. MLPA (Amplificación de sondas dependiente de ligandos múltiples) en el diagnóstico perinatal rápido de las principales aneuploidías. 2012;26(3):172-9.
37. Vianna G, Medeiros P, Alves A, Silva T, Jehee FJGMR. Array-CGH analysis in patients with intellectual disability and/or congenital malformations in Brazil. 2016;15(1).
38. Cokyaman T, Silan FJF, Pathology P. Diagnostic Utility of Array Comparative Genomic Hybridization in Children with Neurological Diseases. 2020:1-9.
39. Baccarin M, Picinelli C, Tomaiuolo P, Castronovo P, Costa A, Verdecchia M, et al. Appropriateness of array-CGH in the ADHD clinics: A comparative study. 2020:e12651.
40. Lee C-L, Lee C-H, Chuang C-K, Chiu H-C, Chen Y-J, Chou C-L, et al. Array-CGH increased the diagnostic rate of developmental delay or intellectual disability in Taiwan. 2019;60(4):453-60.
41. Wayhelova M, Smetana J, Vallova V, Hladilkova E, Filkova H, Hanakova M, et al. The clinical benefit of array-based comparative genomic hybridization for detection of copy number variants in Czech children with intellectual disability and developmental delay. 2019;12(1):111.
42. Rochtus A, Olson HE, Smith L, Keith LG, El Achkar C, Taylor A, et al. Genetic diagnoses in epilepsy: The impact of dynamic exome analysis in a pediatric cohort. 2020;61(2):249-58.
43. Castellanos E, Rosas I, Negro A, Gel B, Alibés A, Baena N, et al. Mutational spectrum by phenotype: panel-based NGS testing of patients with clinical suspicion of RASopathy and children with multiple café-au-lait macules. 2020;97(2):264-75.
44. Castilla-Vallmanya L, Selmer KK, Dimartino C, Rabionet R, Blanco-Sánchez B, Yang S, et al. Phenotypic spectrum and transcriptomic profile associated with germline variants in TRAF7. 2020:1-12.
45. Lay-Son G, Espinoza K, Vial C, Rivera JC, Guzmán ML, Repetto GMJJdp. Chromosomal microarrays testing in children with developmental disabilities and congenital anomalies. 2015;91(2):189-95.
46. Farnaes L, Hildreth A, Sweeney NM, Clark MM, Chowdhury S, Nahas S, et al. Rapid whole-genome sequencing decreases infant morbidity and cost of hospitalization. 2018;3(1):1-8.
47. Petrikin JE, Cakici JA, Clark MM, Willig LK, Sweeney NM, Farrow EG, et al. The NSIGHT1-randomized controlled trial: rapid whole-genome sequencing for accelerated etiologic diagnosis in critically ill infants. 2018;3(1):1-11.

