



## PROGRESOS de OBSTETRICIA Y GINECOLOGÍA

www.elsevier.es/pog



DOCUMENTO DE CONSENSO

### Recomendaciones para el uso clínico del microarray genómico en diagnóstico prenatal



### *Recommendations for the clinical use of genomic microarray in prenatal diagnosis*

Miguel del Campo, Alberto Plaja, Elena Casals, Francesc Figueras, Rosana de la Chica, Lluís Armengol, Vincenzo Cirigliano y Antoni Borrell\*, en nombre del Comité Conjunto de la Sección de Ecografía y Medicina Fetal de la Sociedad Catalana de Obstetricia y Ginecología y Sección de Medicina Materno-Fetal de la Sociedad Catalana de Obstetricia y Ginecología y Comisión de Genética y Reproducción Humana del Colegio de Biólogos de Cataluña y Grupo de Genética Clínica y Dismorfología de la Sociedad Catalana de Pediatría y Grupo de Bioquímica del Programa de Diagnóstico Prenatal de Cataluña ◊

#### Introducción

El «microarray genómico», también llamado «microarray cromosómico», «cariotipo molecular» o simplemente «array», es un método de análisis genético basado en una hibridación sobre una matriz de sondas de ADN que interrogan varios *loci* distribuidos a lo largo del genoma. Tiene una resolución de entre 10 y 1.000 veces superior a la del cariotipo convencional y un tiempo de respuesta más corto, ya que habitualmente no requiere cultivo celular. Detecta pérdidas y ganancias de material genético, llamadas «variantes del número de copias» (CNV [*copy number variations*]), pero no detecta ni las reorganizaciones equilibradas (a diferencia del cariotipo), ni las alteraciones de secuencia o mutaciones (al igual que el cariotipo).

En función de su relevancia clínica, las CNV se clasifican en 3 tipos: benignas, patogénicas o inciertas (VOUS o VUS

[*variantes of unknown significance*]). Se considera que una variante del número de copia es una VOUS cuando no hay suficiente evidencia en la literatura (o en las bases de datos) ni de su presencia en población general sana, ni de su asociación con fenotipos anómalos. El hecho de que algunas variantes tengan una penetrancia incompleta hace más difícil demostrar su patogenicidad.

En diagnóstico prenatal, el microarray ha demostrado una capacidad de detección de anomalías superior a la del cariotipo convencional, en cualquiera de las indicaciones de prueba invasiva. En caso de malformaciones fetales, detecta un 6-9% de anomalías adicionales al cariotipo y en otras indicaciones, o en ausencia de indicación, entre 1-1,5% adicional<sup>1-5</sup>. Estos hallazgos adicionales del microarray son causantes de síndromes de microdelección o microduplicación y no son detectables con el cariotipo. Hay síndromes clásicos, como la microdelección 22q11 o síndrome de DiGeorge/velocardiofacial, la microdelección 7q11.23 o síndrome de Williams, y las hay descritas más recientemente como son las microdelecciones y microduplicaciones 1q21.1, 16p11.2, etc... En Pediatría, el microarray se ha convertido desde 2010 en la técnica de análisis genético de primera línea en el estudio de la discapacidad intelectual, de las

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [aborrell@clinic.cat](mailto:aborrell@clinic.cat) (A. Borrell).

◊ Más información sobre los miembros del Comité Conjunto está disponible en el anexo.

malformaciones mayores o menores y del trastorno del espectro autista<sup>6</sup>. En diagnóstico prenatal hay quien también sugiere la sustitución del cariotipo por microarray y quien no descarta su oferta universal a las gestantes<sup>2</sup>.

## Metodología

### Tipos de microarray y sondas

Hay dos tecnologías de microarrays:

- *Array-CGH*: se realiza una hibridación genómica competitiva (CGH) entre un ADN fetal y un ADN control, en una matriz de sondas de ADN. Las sondas pueden ser de gran tamaño BAC (*bacterial artificial chromosomes*) o de menor tamaño (oligonucleótidos).
- *SNP-array*: compara la intensidad de hibridación del ADN fetal con una señal control previamente determinado, en una matriz de SNP (*single nucleotide polymorphisms*).

### Tipos de diseño de array

Hay 3 diseños diferenciados de microarray en función de la disposición de las sondas de ADN:

- *Microarrays dirigidos (targeted)*: todas las sondas están dirigidas a regiones causantes de trastornos conocidos.
- *Microarrays de genoma completo (WGA [Whole Genome Array])*: tienen una distribución uniforme de las sondas de ADN en todas las regiones.
- *Microarrays mixtos*: combinan sondas distribuidas a lo largo de todo el genoma con una separación uniforme (*backbone coverage*), con una mayor densidad de sondas en las regiones causantes de trastornos conocidos. Son los microarrays más utilizados en diagnóstico prenatal.

### Resolución y filtrado

La resolución de los microarrays depende del número de sondas, su tamaño y sobre todo de su separación. En diagnóstico prenatal se recomienda una resolución media no inferior a 0,5Mb-1Mb<sup>7,8</sup>. Los arrays-CGH de oligonucleótidos ofrecen una resolución más alta que los de BAC, pero son más exigentes en cuanto a calidad y cantidad de ADN de la muestra. La dificultad de la extracción de ADN a partir de líquido amniótico no cultivado ha propiciado la difusión de los microarrays de BAC, con una resolución media mínima 1 Mb. De todos modos, este tipo de microarrays están siendo progresivamente sustituidos por los microarrays de oligonucleótidos, con una resolución media mínima 0,5 Mb<sup>7</sup>.

En diagnóstico prenatal se prefiere que los microarrays no sean de muy alta resolución para minimizar la detección de VOUS. Otra vía de obviar este problema es utilizar un microarray de alta resolución y filtrar posteriormente los resultados, seleccionando solo las CNV patogénicas y las de mayor tamaño.

### Muestras

Cualquier muestra fetal con suficiente contenido de ADN es válida para realizar un microarray, como las vellosidades

coriales, el líquido amniótico, la sangre u otro fluido o tejido fetal. En paralelo a la extracción del ADN, es recomendable establecer un cultivo celular de rescate, que puede ser útil para extraer más ADN, realizar un cariotipo o para otras técnicas de confirmación diagnóstica posteriores. Por este motivo se aconseja la extracción de 15-20 cc de líquido amniótico o 20-40 mg. de vellosidad corial.

Si no se emplean SNP-arrays, es conveniente realizar una QF-PCR (*Quantitative Fluorescence Polymerase Chain Reaction*) previa para descartar la contaminación materna de las muestras, determinar el sexo fetal (para seleccionar el sexo del ADN control) y diagnosticar las aneuploidías más frecuentes y las triploidías.

En caso de una interrupción legal de la gestación (ILE), hay que asegurar la toma de una muestra fetal (líquido amniótico, tejido o sangre) para futuros estudios en ADN fetal y poder disponer de células fijadas o extensiones aptas para FISH (*fluorescent in situ hybridization*). En caso de que la decisión de ILE no dependa del resultado del microarray, es factible diferir la prueba hasta después del estudio de la necropsia, ya que puede aportar datos que indiquen que otra prueba es más adecuada.

En caso de pérdida gestacional, tanto en abortos espontáneos como en muertes anteparto, los microarrays presentan la ventaja de no requerir cultivo celular y de esta manera se minimiza el riesgo de fracaso técnico.

## Indicaciones del microarray

Son indicaciones bien establecidas del microarray:

1. Identificación de un defecto congénito mayor o hallazgos ecográficos sugerentes de defectos congénitos menores<sup>9</sup>. En caso de cualquier malformación la probabilidad de un hallazgo relacionado con el fenotipo es de entre un 6 y un 9%<sup>1</sup>, superior en el microarray que en el cariotipo. En caso de cardiopatía este porcentaje aumenta hasta el 12%<sup>10</sup>.
2. Restricción del crecimiento intrauterino (RCIU/CIR) precoz (< 24 semanas) y severo (< percentil 3).
3. Translucencia nucal aumentada (> 3,5 mm o percentil 99). Presenta una probabilidad de un 5% de hallazgos adicionales al cariotipo<sup>11</sup>.
4. Presencia de una delección o duplicación familiar críptica (no detectable por el cariotipo), con riesgo de transmisión y penetrancia significativas, así como de suficiente relevancia clínica para dar opción a ILE.
5. Hallazgo de una translocación o inversión «de novo» aparentemente equilibrada o de un cromosoma marcador (especialmente del tipo anillo y marcador no satelizado) en el cariotipo fetal, ya que no son fácilmente identificables por otras técnicas.
6. Muerte fetal intrauterina y aborto de segundo trimestre, ya que el microarray tiene más éxito que el cultivo y mayor capacidad de detección que el cariotipo.
7. Antecedente familiar de reordenamiento cromosómico (translocación parental recíproca o inversión pericéntrica) en equilibrio, para detectar segregaciones desequilibradas potencialmente no visibles por el cariotipo.

Otros motivos:

8. Delección o duplicación críptica (no detectable por cariotipo y por tanto detectada por FISH/microarray) «de novo»

en un descendiente previo. Aunque no esté demostrado un incremento en el riesgo de recurrencia, siempre existe la posibilidad de un mosaico germinal en uno de los progenitores. Se podría recurrir también al FISH o MLPA (*multi-plex ligation-dependent probe amplification*) dirigidos.

9. En cualquier indicación de técnica invasiva (y sobre todo en riesgo bajo de aneuploidía) para asegurar la mayor capacidad de detección posible.

## Resultados a informar

### El contenido de los informes de los microarrays debe incluir siempre

- Las especificaciones técnicas del microarray utilizado (tipo de microarray, tipo y distribución de las sondas y resolución media alcanzada en las regiones interrogadas).
- Los criterios de inclusión o exclusión de los diferentes tipos de CNV (filtrado).
- Las limitaciones de la técnica: que son la imposibilidad de detectar reordenamientos equilibrados, las triploidías XXX (no detectables por los arrays-CGH, pero sí por los SNP-arrays), mosaicismos bajos (<20%) y mosaicos que resulten en una dosis genómica compensada (mosaico 45, X/47, XXX).

### En caso de CNV patológica o probablemente patológica, en el informe debe constar

- Descripción detallada de las consecuencias fenotípicas descritas citando las referencias bibliográficas y las bases de datos consultadas.
- Porcentaje de penetrancia conocida, variabilidad y gravedad de los fenotipos asociados en las de penetrancia incompleta.
- La indicación de estudios familiares o de pruebas de confirmación (cariotipo, MLPA, FISH, microarray ...).
- Las CNV patológicas de penetrancia incompleta, predictivas, de estado de portador sano o presintomáticas solo deben ser incluidas cuando tengan suficiente penetrancia y gravedad para que puedan justificar una ILE o cuando su información haya sido solo citada en el consentimiento informado previo.

### Las CNV de significado incierto o VOUS (que de entrada no sean probablemente patológicas)

Solo se incluirán en el informe cuando el estudio de segregación familiar pueda facilitar el reconocimiento de su carácter probablemente patológico. La decisión de estudiar una VOUS en los progenitores durante el embarazo se basará en los siguientes criterios de probable patogenicidad: tamaño, contenido génico, funciones conocidas o previsibles de estos genes y concordancia con el fenotipo observado.

No es necesario incluir las CNV *benignas* en los informes.

## Asesoramiento genético

Como en cualquier prueba genética, es imprescindible el acto de asesoramiento genético previo y posterior a la realización

del microarray. El asesoramiento debe ser ofrecido por parte del asesor genético, el genetista clínico o el obstetra, de una manera no directiva.

### Asesoramiento pretest

Hay que comentar los siguientes puntos:

- Tanto el microarray como el cariotipo son incapaces de detectar mutaciones puntuales del ADN.
- El microarray tiene más capacidad de detección que el cariotipo, pero no detecta alteraciones equilibradas, triploidías XXX (arrays-CGH) o mosaicismos de bajo grado o compensados.
- Solo las CNV patológicas (o probablemente patológicas) con suficiente repercusión para la salud actual o futura del feto deben ser consideradas en una decisión de ILE.
- Se pueden detectar enfermedades de gravedad muy variable y difíciles de predecir.
- Hay CNV patológicas de susceptibilidad o con penetrancia incompleta, que implican solo un riesgo de afectación.
- Se pueden identificar CNV que causen enfermedades de presentación tardía y si son heredadas de uno de los progenitores, pueden aparecer antes en el progenitor.
- Se pueden detectar estados de portador sano para algunas enfermedades. En general no se informan prenatalmente, pero idealmente se debería articular un mecanismo para informar al individuo cuando llegue a la edad reproductiva.
- Como norma general, las CNV de significado incierto (VOUS) que no sean probablemente patológicas no serán informadas en la etapa prenatal.
- El uso de microarrays puede identificar que las relaciones biológicas reales no coincidan con las reportadas por la pareja (falsas paternidades o incestos) e informar sobre grados de consanguinidad elevados.

### Asesoramiento postest

Hay que comentar los diversos hallazgos:

- En las CNV patológicas (o VOUS probablemente patológicas) deberán abordar los conceptos de penetrancia y variabilidad en la expresión.
- En las CNV patológicas (y VOUS con alguna sospecha de patogenicidad) que requieran estudios familiares para su mejor clasificación, se deberán tomar muestras parentales si no se han tomado previamente.
- Se deben comentar los posibles tratamientos y medidas de prevención destinadas a modificar el pronóstico a largo plazo, en caso de que existan.

### Asesoramiento post-ILE/nacimiento

El asesoramiento que se realiza post-ILE o posnacimiento del feto es el momento más adecuado para completar el diagnóstico multidisciplinario, comentar los riesgos futuros y las opciones reproductivas disponibles en una reflexión conjunta con la pareja.

## Consentimientos

Se recomienda que haya un consentimiento específico de las pruebas genéticas adicional al consentimiento de la prueba

invasiva. Muchos de los puntos que forman parte del asesoramiento genético pretest deberán ser incluidos en el documento de información y obtener el consentimiento escrito.

Aprobado en abril de 2015.

## Anexo. Miembros del Comité Conjunto

Miguel del Campo: Grupo de Genética Clínica y Dismorfología de la Sociedad Catalana de Pediatría.

Alberto Plaja: Miembro de la Comisión de Genética y Reproducción Humana del Colegio de Biólogos de Cataluña.

Elena Casals: Coordinadora del Grupo de Bioquímica del Programa de Diagnóstico Prenatal de Cataluña.

Francesc Figueras: Secretario de la Sección de Medicina Materno-fetal de la Sociedad Catalana de Obstetricia y Ginecología.

Rosana de la Chica: Coordinadora de la Comisión de Genética y Reproducción Humana del Colegio de Biólogos de Cataluña, Vocal de la Junta de la Asociación Española de Diagnóstico Prenatal (AEDP).

Lluís Armengol: Asesor (Q-Genomics, Barcelona, España).

Vincenzo Cirigliano: Asesor (Labco Diagnostics, Barcelona, España).

Antoni Borrell: Presidente de la Sección Ecografía y Medicina Fetal de la Sociedad Catalana de Obstetricia y Ginecología.

## Bibliografía

1. Wapner RJ, Martin CL, Levy B, Ballif BC, Eng CM, Zachary JM, et al. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *N Engl J Med*. 2012 Dec 6;367:2175–84.
2. Armengol L, Nevado J, Serra-Juhé C, Plaja A, Mediano C, García-Santiago FA, et al. Clinical utility of chromosomal microarray analysis in invasive prenatal diagnosis. *Hum Genet*. 2012;131:513–233.
3. Maya I, Davidov B, Gershovitz L, Zalstein Y, Taub E, Coppinger J, et al. Diagnostic utility of array-based comparative genomic hybridization (aCGH) in a prenatal setting. *Prenat Diagn*. 2010;30(12–13):1131–7.
4. Van den Veyver IB, Patel A, Shaw CA, Pursley AN, Kang SH, Simovich MJ, et al. Clinical use of array comparative genomic hybridization (aCGH) for prenatal diagnosis in 300 cases. *Prenat Diagn*. 2009;29:29–39.
5. Sahoo T, Cheung SW, Ward P, Darilek S, Patel A, del Gaudio D, et al. Prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities using array-based comparative genomic hybridization. *Genet Med*. 2006;8:719–27.
6. 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.
7. Vanakker O, Vilain C, Janssens K, van der Aa N, Smits G, Bandelier C, et al. Implementation of genomic arrays in prenatal diagnosis: the Belgian approach to meet the challenges. *Eur J Med Genet*. 2014;57:151–6.
8. Vetro A, Bouman K, Hastings R, McMullan DJ, Vermeesch JR, Miller K, et al. The introduction of arrays in prenatal diagnosis: a special challenge. *Hum Mutat*. 2012;33:923–9.
9. American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Genetics. Committee Opinion No. 581: the use of chromosomal microarray analysis in prenatal diagnosis. *Obstet Gynecol*. 2013;122:1374–7.
10. Jansen FA, Blumenfeld YJ, Fisher A, Cobben JM, Odibo AO, Borrell A, et al. Array comparative genomic hybridization and fetal congenital heart defects: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2015;45:27–35.
11. Grande M, Jansen F, Blumenfeld Y, Fisher A, Odibo A, Haak M, et al. Genomic Microarray in Fetuses with Increased Nuchal Translucency and Normal Karyotype - A Systematic Review and Meta-Analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2015;45:27–35.