

# CERPO

Centro de Referencia Perinatal Oriente

Facultad de Medicina, Universidad de Chile



# Exámenes genéticos III: Array CGH y SNP Rendimiento prenatal

Autor: Dr. Josemaría Abad.

Programa de Especialización en Medicina Materno Fetal

Tutores: Dr. Rodrigo Terra, Dra. Catherine Díaz.

Abril 2024



# Introducción



## Microarray cromosómico (CMA)

- Método de análisis genético que estudia el genoma humano con elevada resolución (100 a 200 kb en general y de 30-50 kb en sitio de interés).
- Permite analizar genoma fetal completo en busca de pérdidas o ganancias de material genético.
- Aneuploidías y cambios submicroscópicos.
- Resolución superior a cariotipo convencional (5 a 10 mb)
- Reduce tiempo de espera → sin cultivo.
- Directamente a partir de muestra fetal.



# Consenso CMA



ARTICLE

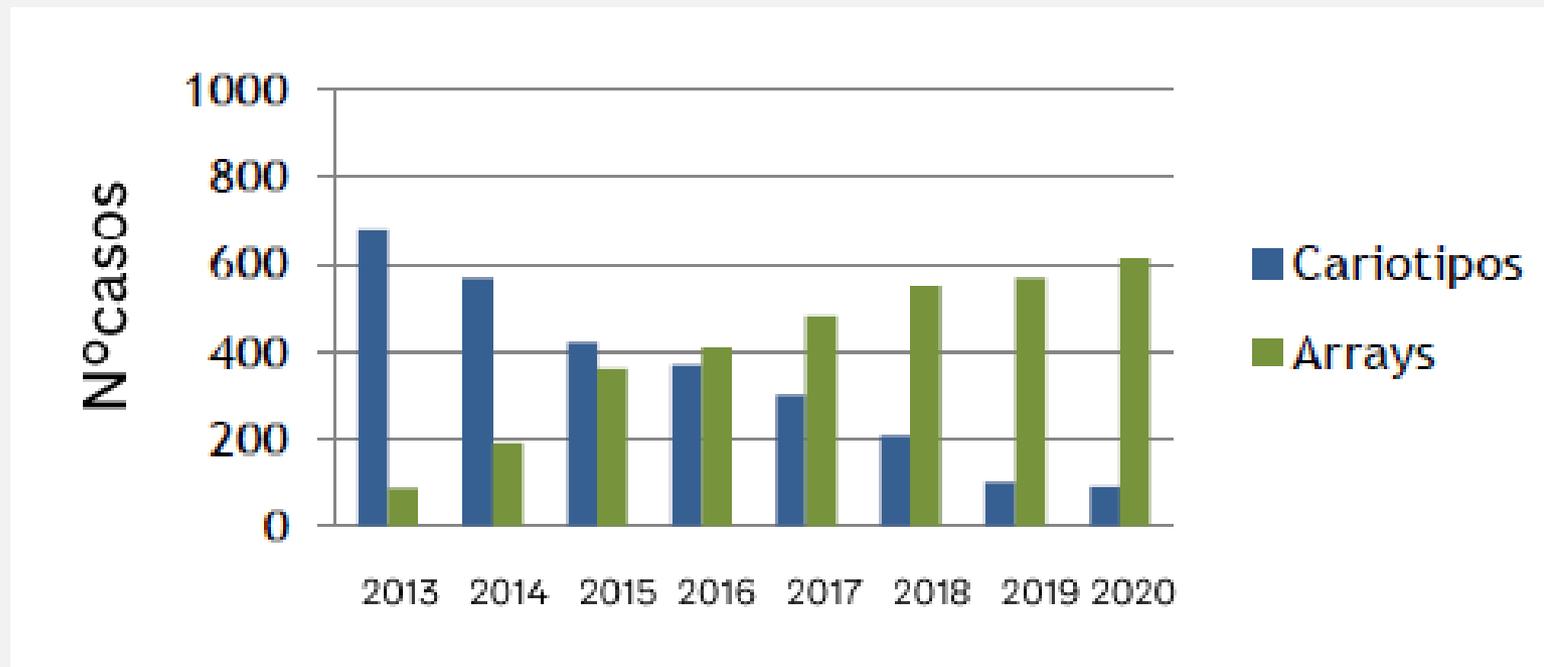
## Consensus Statement: Chromosomal Microarray Is a First-Tier Clinical Diagnostic Test for Individuals with Developmental Disabilities or Congenital Anomalies

David T. Miller,<sup>1,\*</sup> Margaret P. Adam,<sup>2,3</sup> Swaroop Aradhya,<sup>4</sup> Leslie G. Biesecker,<sup>5</sup> Arthur R. Brothman,<sup>6</sup> Nigel P. Carter,<sup>7</sup> Deanna M. Church,<sup>8</sup> John A. Crolla,<sup>9</sup> Evan E. Eichler,<sup>10</sup> Charles J. Epstein,<sup>11</sup> W. Andrew Faucett,<sup>2</sup> Lars Feuk,<sup>12</sup> Jan M. Friedman,<sup>13</sup> Ada Hamosh,<sup>14</sup> Laird Jackson,<sup>15</sup> Erin B. Kaminsky,<sup>2</sup> Klaas Kok,<sup>16</sup> Ian D. Krantz,<sup>17</sup> Robert M. Kuhn,<sup>18</sup> Charles Lee,<sup>19</sup> James M. Ostell,<sup>8</sup> Carla Rosenberg,<sup>20</sup> Stephen W. Scherer,<sup>21</sup> Nancy B. Spinner,<sup>17</sup> Dimitri J. Stavropoulos,<sup>22</sup> James H. Tepperberg,<sup>23</sup> Erik C. Thorland,<sup>24</sup> Joris R. Vermeesch,<sup>25</sup> Darrel J. Waggoner,<sup>26</sup> Michael S. Watson,<sup>27</sup> Christa Lese Martin,<sup>2</sup> and David H. Ledbetter<sup>2,\*</sup>

The American Journal of Human Genetics 86, 749–764, May 14, 2010 749

*“CMA puede identificar la etiología citogenética en un 15-20% más de pacientes que un cariotipo con bandeó G”*

# Aumento solicitud Array



# Análisis Microarray



## Ventajas

- Detecta duplicaciones y deleciones a lo largo de todo el genoma y no en un único punto.
- Detecta la mayoría de las alteraciones submicroscópicas.
- Mayor resolución que cariotipo convencional.
- Un solo análisis.
- Sin cultivo (muestra pequeña ADN).
- Se interpreta con algoritmos informático en combinación con la experiencia del analista.

## Limitaciones

- No detecta reordenamientos cromosómicos balanceados
- No diagnostica duplicaciones o deleciones de segmentos de ADN repetitivas.
- Mosaicismos > 15 a 20%.

# Plataformas Microarray Cromosómico

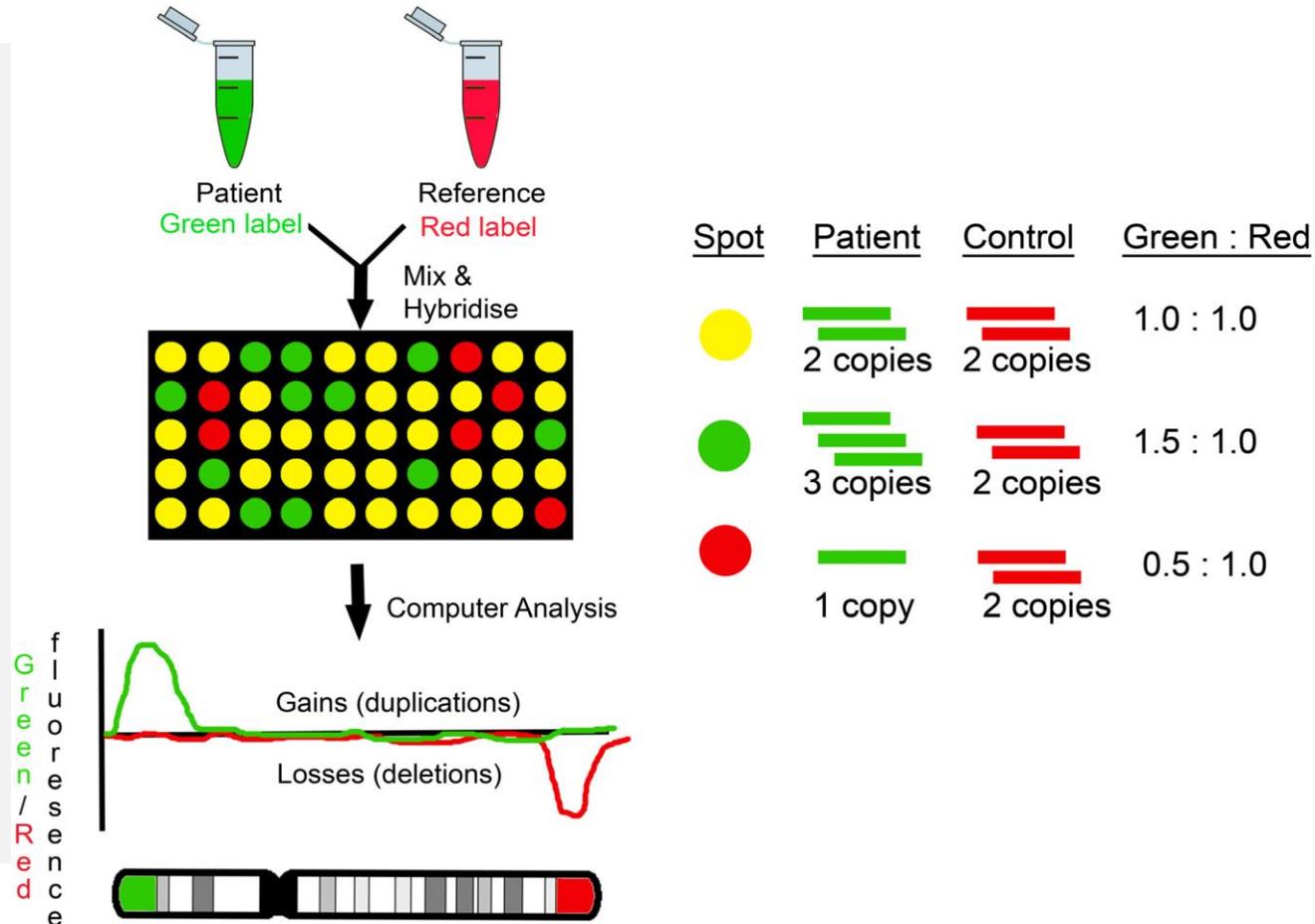


Array CGH

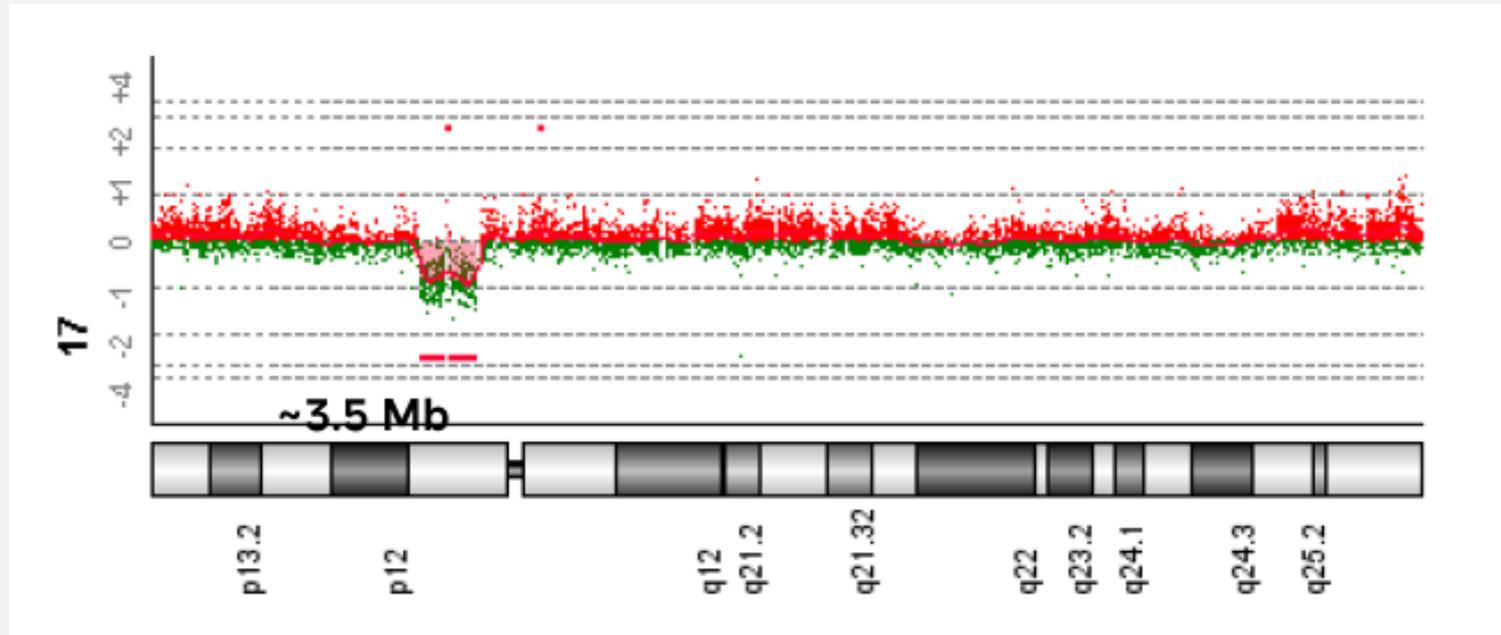
**V**  
**S**

Array SNP

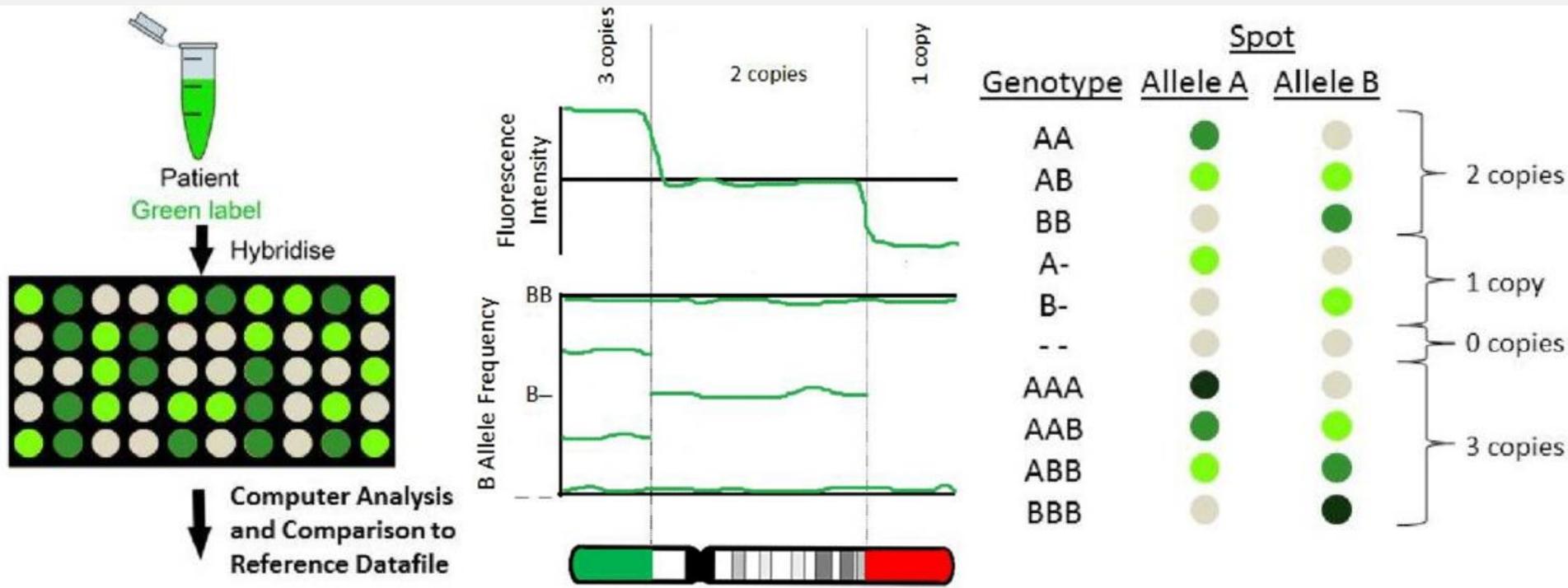
# Array CGH



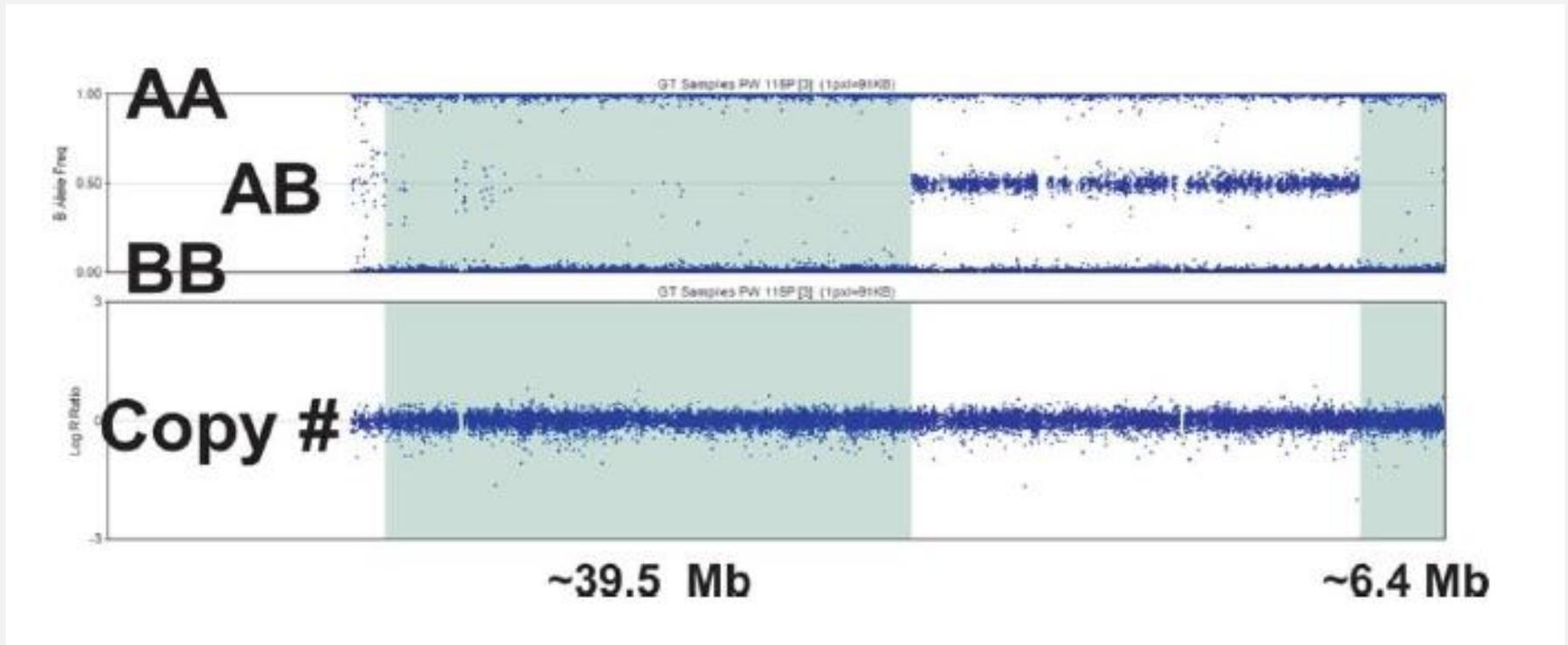
# Array CGH



# Array SNP



# Array SNP



# Ventajas Array SNP



- **SNP (single-nucleotide polymorphisms)**
  - Diferencias en un único nucleótido en un segmento de ADN.
  - Presentes en la población con una frecuencia mayor del 1%.
  - Forma más habitual de variación genética entre individuos
  - Se producen normalmente en un promedio de uno de cada 300 nucleótidos
  - 10 millones de SNP en el genoma humano.
  - Diana excelente para la detección de ganancias o pérdidas de bloques genómicos de información.
- **El array SNP**, permite la identificación de «huellas dactilares genéticas» únicas.
- **Cada individuo** hereda un **SNP paterno y materno** en cada localización.
- Se puede identificar un **segmento contiguo largo de homocigosidad (SCLH)**, en el que solo se observan **SNP de un progenitor**.
  - Puede representar una **disomía uniparental (DUP)** para un segmento o un cromosoma completo, o consanguinidad.

# Ventajas Array SNP



- **Asociación de DUP con enfermedades genéticas**
  - Implicado un cromosoma con impronta (6, 7, 11, 14 y 15).
  - Variante patogénica en un gen responsable de una enfermedad recesiva está incluida en la región de homocigosidad.
- **Progenitores consanguíneos**, el número de SCLH se correlacionará directamente con el grado de parentesco.
- **Detección de triploidías**, que no son detectables mediante aCGH.
- **Detección de la filiación** (paternidad o maternidad) mediante la comparación con el ADN de los supuestos progenitores.
- **Determinar la cigosidad** cuando se analizan muestras de gestaciones múltiples.

# Comparación Array CGH, SNP y Cariograma



**TABLA 12.1**

**Comparación de tecnologías diagnósticas para la detección de las diferentes alteraciones genéticas**

<b>Tecnología</b>	<b>Aneuploidía</b>	<b>Translocaciones e inversiones equilibradas</b>	<b>Translocaciones desequilibradas</b>	<b>Triploidía</b>	<b>Segmento contiguo largo de homocigosidad, consanguinidad, cigosidad y filiación</b>	<b>Variantes del número de copias</b>	<b>Cultivo requerido</b>
Cariotipo de bandas G	Sí	Sí	Sí	Sí	No	No	Sí
Matriz de hibridación genómica comparativa	Sí	No	Sí	No	No	Sí	No
Matriz de SNP	Sí	No	Sí	Sí	Sí	Sí	No

# Otras ventajas del CMA



○ Detección de CNV menores, además de aneuploidías, deleciones y duplicaciones cromosómicas grandes.

○ Resultado crítico en un cariotipo → utilizar el CMA para discernir el origen.

○ Reordenamientos “equilibrados” en cariotipo: realmente equilibrados vs pequeña deleción o duplicación.

○ CMA de SNP → regiones de homocigosidad (consanguinidad y la DUP), determinar la filiación y cigosidad.

○ Mejor rendimiento en mortinatos y abortos espontáneos (6-13%)

Levy B, Wapner R. Prenatal diagnosis by chromosomal microarray analysis. *Fertil Steril* 2018;109(2):201-12

Reddy UM, Page GP, Saade GR, et al. Karyotype versus microarray testing for genetic abnormalities after stillbirth. *N Engl J Med* 2012;367(23):2185-93.

# Indicaciones Microarray



---

Feto que presente una o más anomalías estructurales mayores identificadas por ultrasonografía y que se someta a un procedimiento invasivo diagnóstico prenatal (CMA).

---

Feto estructuralmente normal, que se sometan a un procedimiento invasivo diagnóstico prenatal (CMA o cariotipo).

---

En casos de óbito fetal o pérdidas gestacionales (CMA).

---

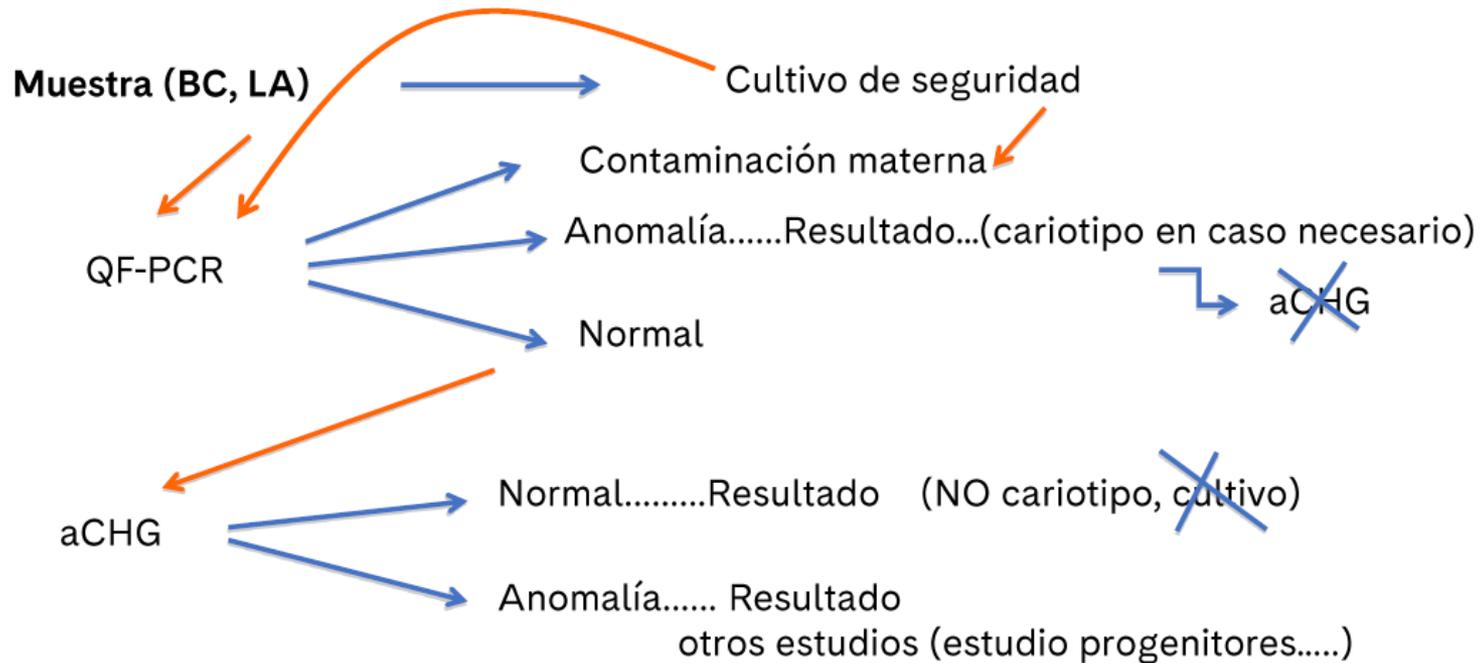
Las parejas que escojan un CMA deben recibir un consejo genético pre y post-test en el que se incluya aspectos como los beneficios, limitaciones y de tipo resultado que se podría obtener.

---

Nunca debería realizarse la prueba sin un consentimiento informado.

---

# Protocolo diagnóstico prenatal



# CERPO

Centro de Referencia Perinatal Oriente

Facultad de Medicina, Universidad de Chile



## ¿Cómo se notifican los resultados?

# Declaración conjunta



- El American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) y la Association for Molecular Pathology (AMP)
- **Declaración conjunta** → estandarización para notificar CNV.
- **Clasificación:** patogénicas, probablemente patogénicas, de significado incierto, probablemente benignas, o benignas.
- **Informe para cada CNV**
  - Localización citogenética.
  - Si es una deleción o duplicación.
  - El tamaño con las coordenadas nucleotídicas específicas.
  - La interpretación del laboratorio basada en las guías (v. las categorías después).
  - Los genes implicados y el seguimiento clínico recomendado.
  - Si se estudiaron muestras parentales (y se conoce la herencia), se indicará si es *de novo* (dn) o heredada de la madre (mat) o del padre (pat).

# Clasificación de las variantes detectadas por CMA



- Benign
- Likely benign
- Uncertain significance
- Likely pathogenic
- Pathogenic

# Clasificación de las variantes



**CNVs patogénicas o probablemente patogénicas:** asociadas a fenotipos anómalos. Pueden presentar penetrancia incompleta o expresividad variable.

**CNVs de significado incierto (VUS):** cuando no hay suficiente evidencia en la literatura o en las bases de datos de su presencia en población general sana, ni de su asociación con fenotipos anómalos.

**CNVs benignas o probablemente benignas:** presentes en población general, también llamadas polimorfismos.

# Variantes patogénicas



- **Síndromes bien descritos** (Angelman, DiGeorge, Williams, etc.).
- **Numerosos datos** para describirlos.
- Incertidumbre respecto al resultado específico para un individuo.
- Suelen ser ***de novo***.
- En ocasiones **pueden heredarse** de un progenitor con una translocación u otro reordenamiento complejo (evaluación adicional).
- **CNV de predisposición**
  - Cambios asociados con un amplio espectro fenotípico, a menudo con una expresividad variable.
  - Hereditarios o *de novo*.
  - Dificultades para cuantificar el riesgo para el feto.
  - Asesoramiento complejo → herencia de un progenitor “sano”
- **Enfermedades de inicio en la edad adulta** (Charcot-Marie-Tooth, duplicación de 17p12).

# Variantes de significado incierto



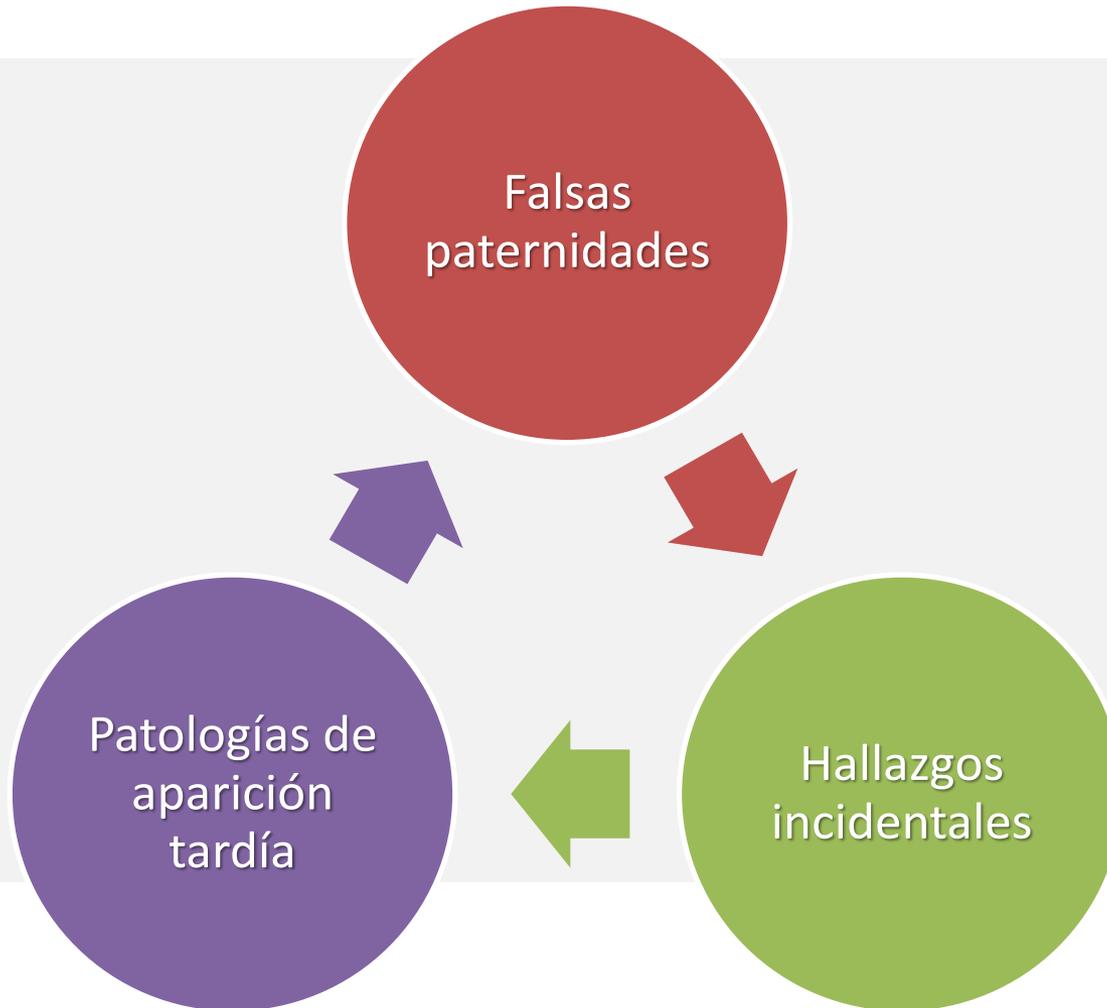
- Suelen cumplir lo que indican las **guías para la notificación** (tamaño y/o contenido génico).
- La información sobre la **importancia clínica** del hallazgo de una VUS es **escasa**.
- **Dificultades** tanto al clínico como a la paciente respecto al modo en el que se debe actuar.
- El **análisis de familiares adicionales**, en particular los progenitores, puede ser útil, porque las variantes de novo suelen ser más preocupantes que las que se heredaron de un progenitor con un fenotipo normal.

# Regiones de homocigosidad



- **Segmento contiguo largo de homocigosidad (SCLH).**
- Solo puede detectarse mediante **análisis de matriz de SNP.**
- Indicará una **DUP** segmentaria o de un cromosoma completo o **consanguinidad.**
- El **seguimiento clínico** dependerá de la **región específica** identificada.
- Sospecha de DUP en una región que incluya **genes con impronta** (p. ej., cromosomas 6, 7, 11, 14 y 15).
- **Pruebas adicionales**, como estudios de metilación para los síndromes de Prader-Willi/Angelman (cr. 15), o de Beckwith-Wiedemann cr. 11).
- **Región SCLH** → Importante revisar el cribado de portadores para enfermedades mendelianas de la paciente.
- **Buscar variantes** en la región en cuestión, con el fin de evaluar el riesgo de que se detecte una **enfermedad recesiva.**

# Resultados no esperados



# Rendimiento CMA prenatal



- **Estudios prenatales** posteriores, observaron que había un **1-2% de CNV patogénicas** en fetos estructuralmente normales y en el **6-7%** de los fetos con anomalías.
- En 2013, el **American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG)** y la **Society for Maternal- Fetal Medicine (SMFM)** recomendaron:
  1. El CMA debería sustituir o complementar al cariotipo en la evaluación de fetos con anomalías.
  2. Disponibilidad para cualquier paciente que opte por las pruebas diagnósticas prenatales para cualquier indicación, incluida la ansiedad.

Wapner RJ, Martin CL, Levy B, et al. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *N Engl J Med* 2012;367(23):2175-84. Shaffer LG, Dabell MP, Fisher AJ, et al. Experience with microarray-based comparative genomic hybridization for prenatal diagnosis in over 5000 pregnancies. *Prenat Diagn* 2012;32(10):976-85.

Callaway JL, Shaffer LG, Chitty LS, Rosenfeld JA, Crolla JA. The clinical utility of microarray technologies applied to prenatal cytogenetics in the presence of a normal conventional karyotype: a review of the literature. *Prenat Diagn* 2013;33(12):1119-23.

Hillman SC, McMullan DJ, Hall G, et al. Use of prenatal chromosomal microarray: prospective cohort study and systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013;41(6):610-20.

Srebniak MI, Diderich KE, Joosten M, et al. Prenatal SNP array testing in 1000 fetuses with ultrasound anomalies: causative, unexpected and susceptibility CNVs. *Eur J Hum Genet* 2016;24(5):645-51.

Practice bulletin No. 162: Prenatal diagnostic testing for genetic disorders. *Obstet Gynecol* 2016;127(5): e108-22.

# Rendimiento CMA prenatal



Anomalías renales y cardíacas aisladas → máxima asociación con CNV patogénicas (15% y 10,6% respectivamente).

Fetos con anomalía en más de un sistema → riesgo del 13% de tener una CNV patogénica o probablemente patogénica

Rendimientos diagnósticos incrementales menores (4,0%) para el aumento aislado de la translucencia nuchal

Donnelly JC, Platt LD, Rebarber A, Zachary J, Grobman WA, Wapner RJ. Association of copy number variants with specific ultrasonographically detected fetal anomalies. *Obstet Gynecol* 2014;124(1):83-90.

Grande M, Jansen FA, Blumenfeld YJ, et al. Genomic microarray in fetuses with increased nuchal translucency and normal karyotype: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015;46(6):650-8.

# CMA vs Cariograma



Received: 13 November 2017 | Revised: 28 December 2017 | Accepted: 1 January 2018

DOI: 10.1002/pd.5212

**ORIGINAL ARTICLE**

WILEY PRENATAL DIAGNOSIS

## ACOG and SMFM guidelines for prenatal diagnosis: Is karyotyping really sufficient?

Sara B. Hay  | Trilochan Sahoo | Mary K. Travis | Karine Hovanes | Natasa Dzidic | Charles Doherty | Michelle N. Strecker

# CMA vs Cariograma



## Objetivo

- El **ACOG** y la **SMFM** recomiendan el **análisis con CMA** para el diagnóstico prenatal, en casos de detectar **una o más anomalías estructurales fetales**.
- Para los pacientes que eligen el diagnóstico prenatal y tienen **un feto estructuralmente normal**, se recomienda tanto el **microarray como el cariotipo**.
- Este estudio evalúa la frecuencia de **anomalías cromosómicas clínicamente significativas (CSCA)** que podrían haberse pasado por alto si todos los pacientes a quienes se ofreció la elección entre CMA y cariotipado hubieran elegido el cariotipo.

## Métodos

- Se evaluaron un total de **3223 muestras prenatales sometidas a CMA**.
- Los **casos se categorizaron en 2 grupos**: aquellos que cumplían con las **directrices del ACOG para el CMA** frente a aquellos que cumplían con las directrices del ACOG para el **CMA o el cariotipo**.

# CMA vs Cariograma



## Resultados

- De los 3223 casos, 1475 (**45.8%**) cumplían con las **recomendaciones del ACOG para CMA**, y 1748 (**54.2%**) cumplían con las **recomendaciones para CMA o cariotipo**.
- En los pacientes que podrían haber **elegido entre CMA o cariotipo**, el **2.5%** tenía **CSCA** que se habría pasado por alto si hubiera decidido seguir con el cariotipo.

## Conclusión

- Estudio sugiere que el **2.5%** de los pacientes tendrán una **CSCA** que puede **pasarse por alto** si las **directrices continúan sugiriendo** que el **CMA y el cariotipo** tienen un **valor diagnóstico equivalente** para los **pacientes sin anomalía estructural fetal**.

# CERPO

Centro de Referencia Perinatal Oriente  
Facultad de Medicina, Universidad de Chile



## Pruebas a solicitar junto al CMA

# Análisis de contaminación por células maternas

- **Muestras prenatales** → a través de tejidos maternos.
- **Células maternas en BVC o LA** → riesgo de **diagnóstico erróneo**.
- **Muestra de ADN materno** → se comparan sus marcadores polimórficos con la muestra de ADN prenatal.
- **Proporción de ADN materno** por debajo del límite de detección de la prueba molecular ( $<10\%$  para análisis SNP), probable que el resultado represente el genotipo fetal.
- **Si el nivel es  $>10\%$** , el exceso de ADN materno puede ocultar el ADN fetal e **impedir el diagnóstico de una enfermedad genética**, sobre todo si esta es una CNV muy pequeña o un mosaico.

# FISH o QF-PCR



---

Técnicas de elección para la confirmación de los casos de trisomías frecuentes y aneuploidías de los cromosomas sexuales (13, 18, 21, X, Y) en las 24-72 h posteriores a un procedimiento diagnóstico.

---

Información relativamente rápida a las pacientes que tienen un riesgo a priori elevado para las aneuploidías frecuentes debido a anomalías ecográficas compatibles con un síndrome cromosómico específico.

---

No sustituye la precisión diagnóstica del CMA, que debe seguir realizándose y que también permite evaluar la presencia de mosaicismo y de translocaciones.

---

En algunos escenarios, podría decidirse no con continuar con el CMA y tomar la conducta con el resultado obtenido por estos exámenes.

# Cariograma



Resultado de CMA sugiere una translocación desequilibrada (p. ej., en presencia de una ganancia y una pérdida de información que afecta a los extremos distales de dos cromosomas).

Pruebas parentales de seguimiento mediante el cariotipo son esenciales para determinar el riesgo de recurrencia para una pareja.

Si una pareja presenta antecedentes personales o familiares de abortos de repetición o de trisomía, el cariotipo sanguíneo parental también es útil por los mismos motivos y puede establecer el diagnóstico prenatal si es anormal.

# CERPO

Centro de Referencia Perinatal Oriente  
Facultad de Medicina, Universidad de Chile



# Optical Genome Mapping

# Búsqueda en PubMed



Optical Genome Mapping[Title]



Search

[Advanced](#) [Create alert](#) [Create RSS](#)

[User Guide](#)

Save

Email

Send to

Sort by:

Publication date



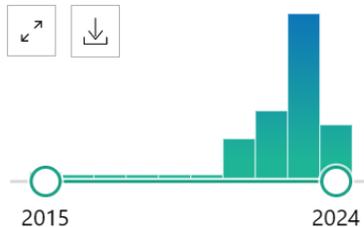
Display options

MY NCBI FILTERS

106 results

Page 1 of 11

RESULTS BY YEAR



1 **Comparison of Optical Genome Mapping With Conventional Diagnostic Methods for Structural Variant Detection in Hematologic Malignancies.**

Cite Shim Y, Koo YK, Shin S, Lee ST, Lee KA, Choi JR.

Ann Lab Med. 2024 Jul 1;44(4):324-334. doi: 10.3343/alm.2023.0339. Epub 2024 Mar 4.

Share

PMID: 38433573 [Free PMC article.](#)

2 **Optical Genome Mapping for Comprehensive Cytogenetic Analysis of Soft-Tissue and Bone Tumors for Diagnostic Purposes.**

# Búsqueda en PubMed



Prenatal Optical Genome Mapping[Title]



Search

[Advanced](#) [Create alert](#) [Create RSS](#)

[User Guide](#)

Save

Email

Send to

Sort by:

Publication date



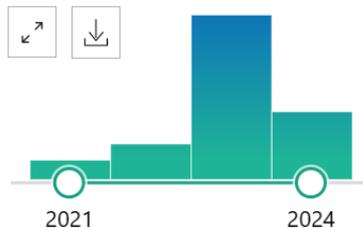
Display options

MY NCBI FILTERS

17 results

Page 1 of 2

RESULTS BY YEAR



The clinical value of **optical genome mapping** in the rapid characterization of RB1 duplication and 15q23q24.2 triplication, for more appropriate **prenatal genetic counselling**.

1  
Cite  
Share

Bouassida M, Molina-Gomes D, Koraichi F, Hervé B, Lhuilier M, Duveillier C, Le Gall J, Gauthier-Villars M, Serazin V, Quibel T, Dard R, Vialard F.

Mol Genet Genomic Med. 2024 Apr;12(4):e2437. doi: 10.1002/mgg3.2437.

PMID: 38588252 [Free PMC article](#).

# Optical Genome Mapping



*Commentary*

## Optical Genome Mapping as a Next-Generation Cytogenomic Tool for Detection of Structural and Copy Number Variations for Prenatal Genomic Analyses

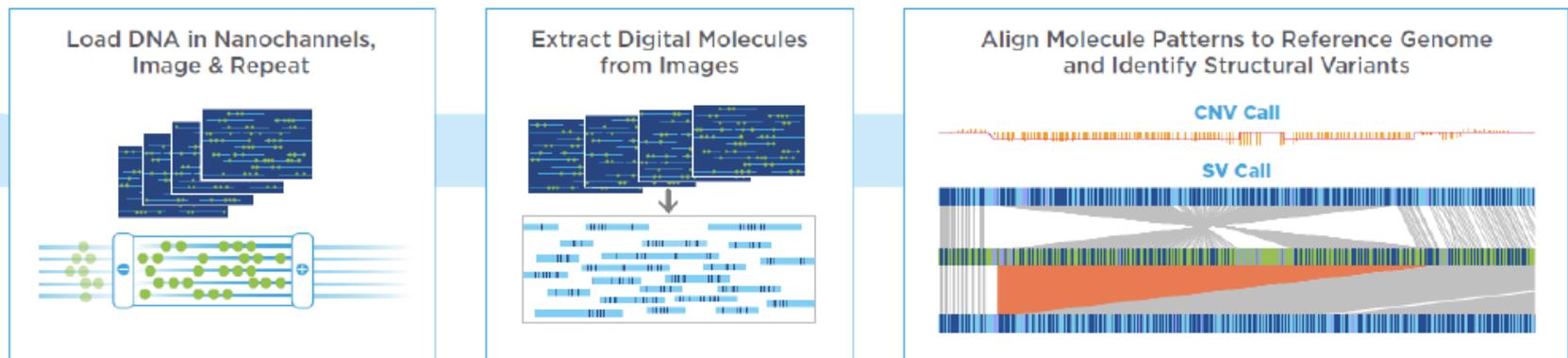
Nikhil Shri Sahajpal <sup>1,†</sup>, Hayk Barseghyan <sup>2,3,4,†</sup> , Ravindra Kolhe <sup>1</sup> , Alex Hastie <sup>4</sup> and Alka Chaubey <sup>1,4,\*</sup>

- <sup>1</sup> Department of Pathology, Augusta University, Augusta, GA 30912, USA; nsahajpal@augusta.edu (N.S.S.); rkolhe@augusta.edu (R.K.)
  - <sup>2</sup> Center for Genetic Medicine Research, Children's National Hospital, Washington, DC 20010, USA; haykbarseghyan@ucla.edu
  - <sup>3</sup> Genomics and Precision Medicine, School of Medicine and Health Sciences, George Washington University, Washington, DC 20037, USA
  - <sup>4</sup> Bionano Genomics Inc., San Diego, CA 92121, USA; ahastie@bionanogenomics.com
- \* Correspondence: achaubey@bionanogenomics.com  
† Co-first author.

# Optical Genome Mapping



## High-throughput, High-resolution Imaging of Ultra-Long DNA Molecules



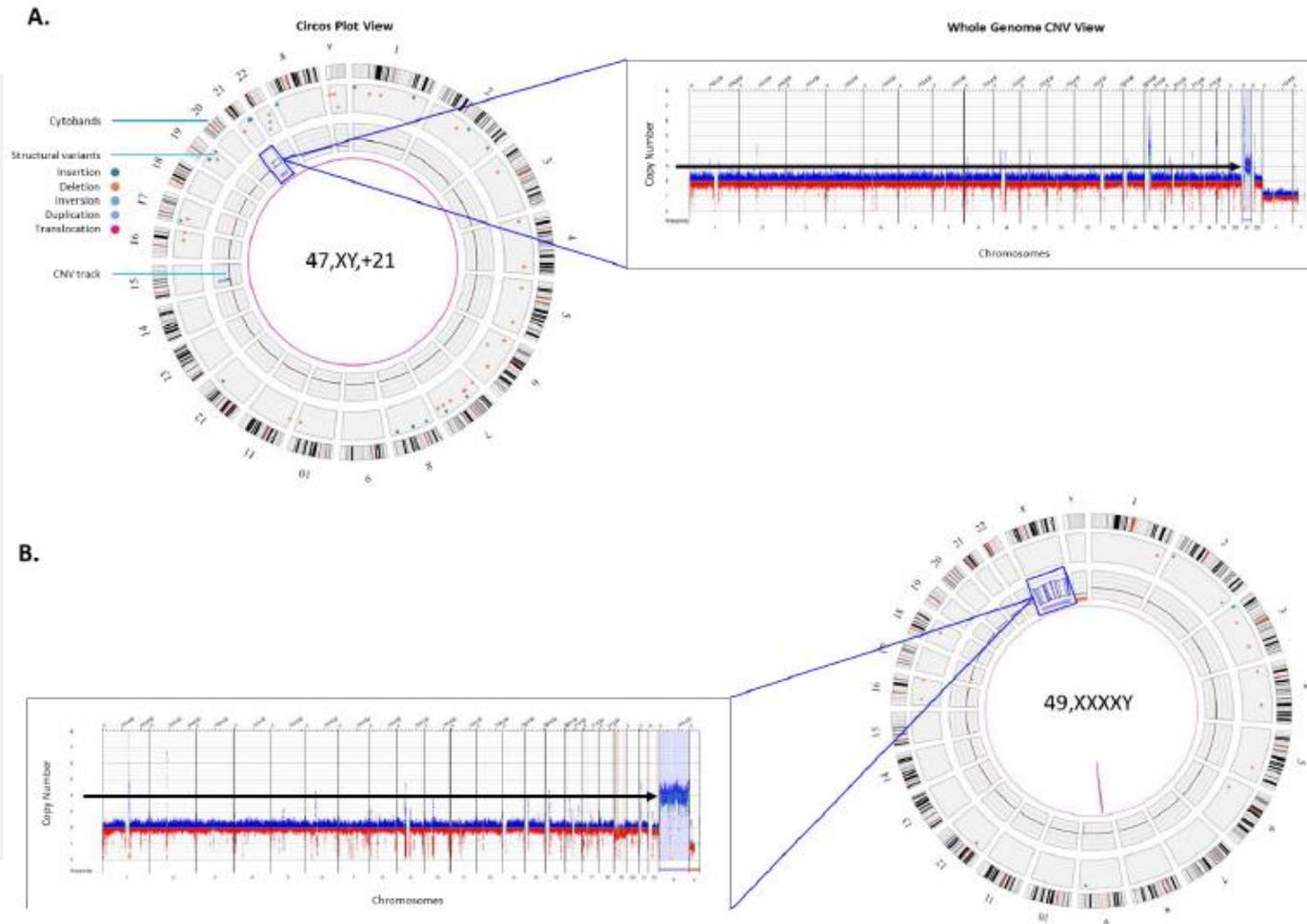
# Optical Genome Mapping



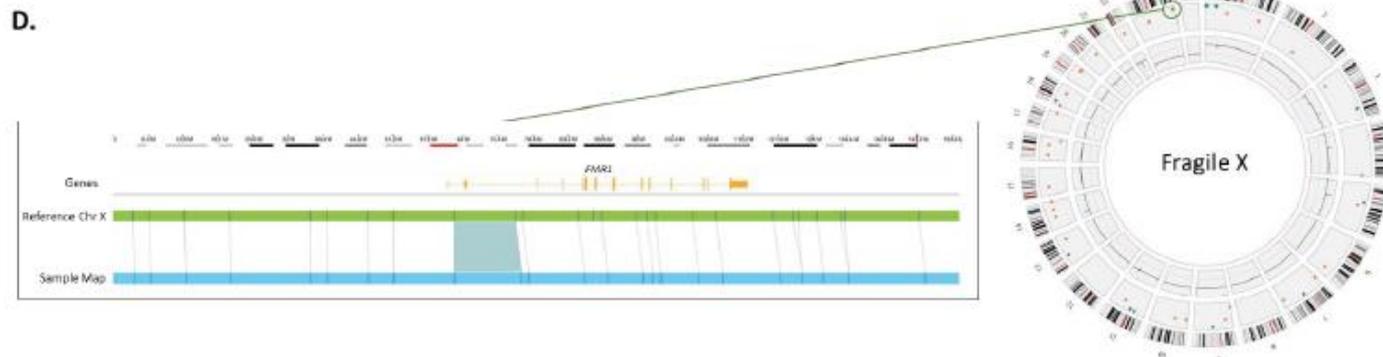
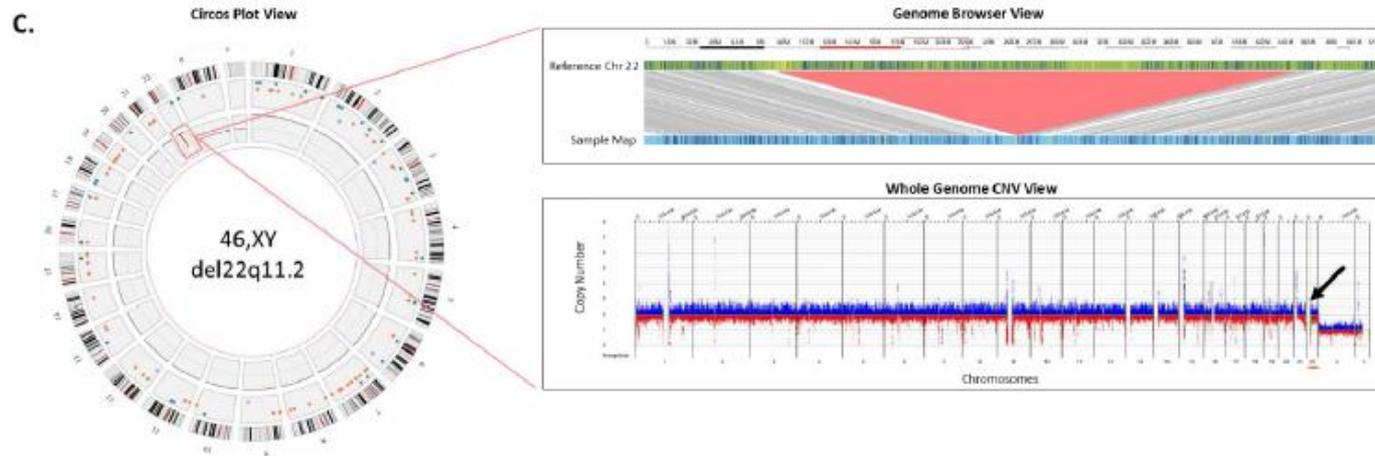
Table 1. Specification of optical genome mapping for the detection of different variant classes.

Variant	Variant Types	Variant Description	Bionano OGM
Aneuploidy	Monosomy	Chromosome loss	✓
	Trisomy	Chromosome gain	✓
	Triploidy	Whole genome Triploidy	Not currently
	Tetraploidy	Whole genome Tetraploidy	Not currently
	Ring chromosome	CNV and fusion	≥500 kbp + fusion break
Structural Variants	Copy Number Variants	Deletions/Duplications	Interstitial ≥500 bp
			Terminal ≥500 kbp
		Insertions	Interstitial (unknown sequence) ≥500 bp
	Translocations	Balanced	✓
		Unbalanced	✓
	Inversions	Pericentric	✓
		Paracentric	≥30 kbp
Regions of Homozygosity	ROH	ROH	In development
Macrosatellite/microsatellite	Repeats	Contractions/expansions	≥500 bp
Sequencing Variants	Single nucleotide variants, INDELS	Transitions/transversions Insertions/deletions <50 bp	-

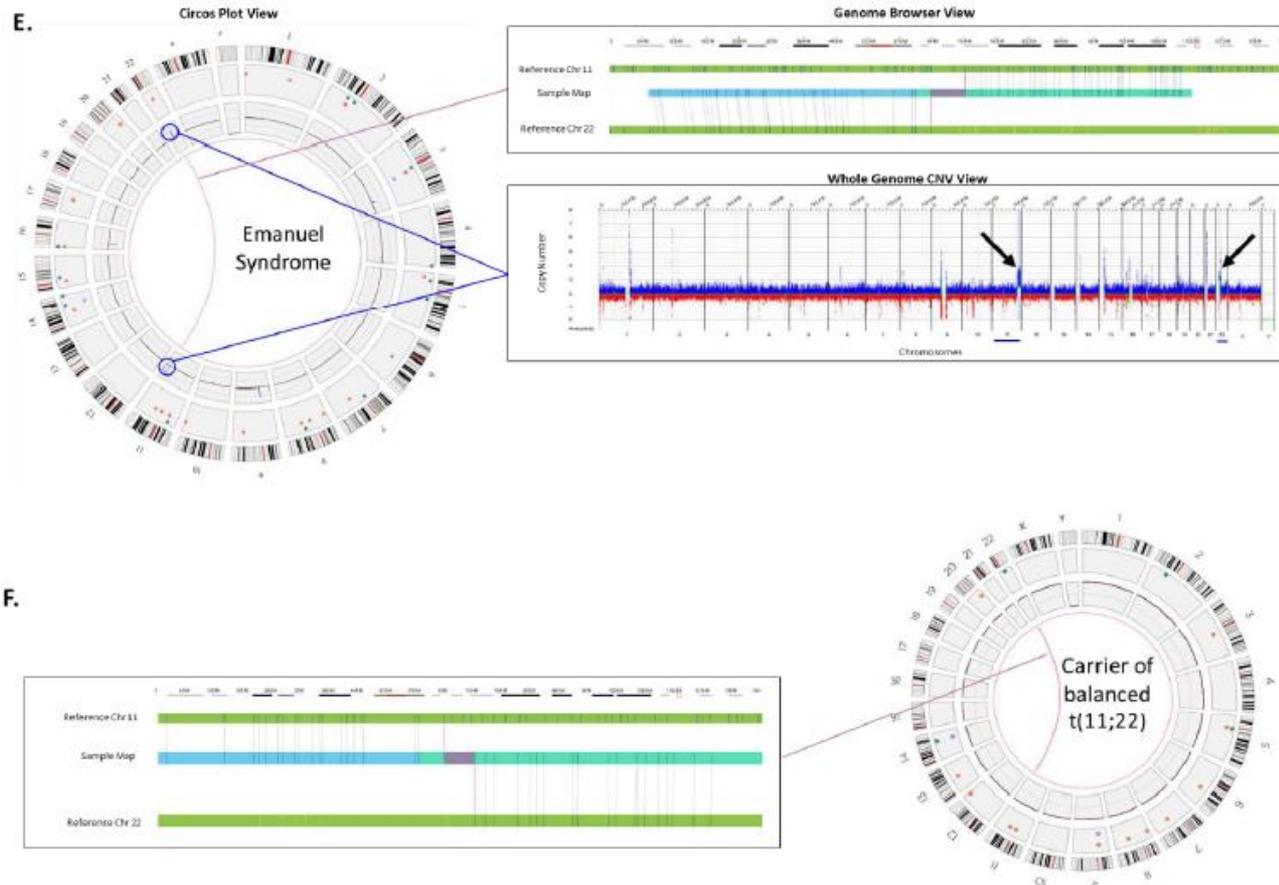
# Optical Genome Mapping



# Optical Genome Mapping



# Optical Genome Mapping



**ORIGINAL RESEARCH ARTICLE**

# Optical genome mapping for detection of chromosomal aberrations in prenatal diagnosis

The Journal of Molecular Diagnostics, Vol. 25, No. 4, April 2023



ELSEVIER

the **Journal of  
Molecular  
Diagnostics**

[jmdjournal.org](http://jmdjournal.org)



## Clinical Validation and Diagnostic Utility of Optical Genome Mapping in Prenatal Diagnostic Testing

Clinica Chimica Acta 551 (2023) 117594



ELSEVIER

Contents lists available at [ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com)

Clinica Chimica Acta

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/cca](http://www.elsevier.com/locate/cca)



Optical genome mapping for prenatal diagnosis: A prospective study



# Conclusiones



- **CMA analiza el genoma fetal completo** en búsqueda de CNV con **mayor resolución** que el cariógrama.
- **Menor tiempo de respuesta**, ya que no requiere cultivo.
- Recordar diferencias entre **Array CHG y SNP** (Ej. DU).
- **Rendimiento prenatal superior** al cariógrama, tanto para fetos estructuralmente normales (2,5%) como para aquellos con anomalías (6-8%).
- **Considerar desventajas** en relación al cariotipo convencional.
- Importancia de **consentimiento informado**.
- **Adecuado asesoramiento pre y post test**.
- **Optical genome mapping** → ¿El futuro?



THE END IS JUST THE  
**BEGINNING**