



# Curso Biología Molecular CMR

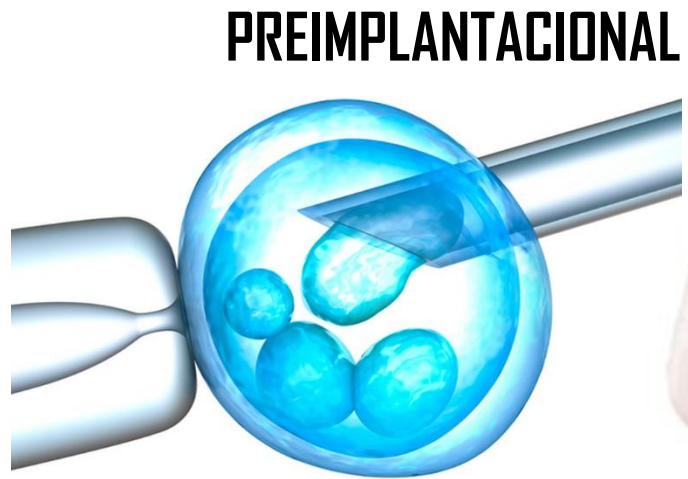
Clase: '**Diagnóstico Molecular en Medicina Reproductiva**'

Lic. Guadalupe Méjico  
[guadalupe.mejico@heritas.com.ar](mailto:guadalupe.mejico@heritas.com.ar)  
29 de Octubre 2020

# DIAGNÓSTICO GENÉTICO: ETAPAS



**PRECONCEPCIONAL**



**PREIMPLANTACIONAL**



**PRENATAL**

**POSTNATAL**

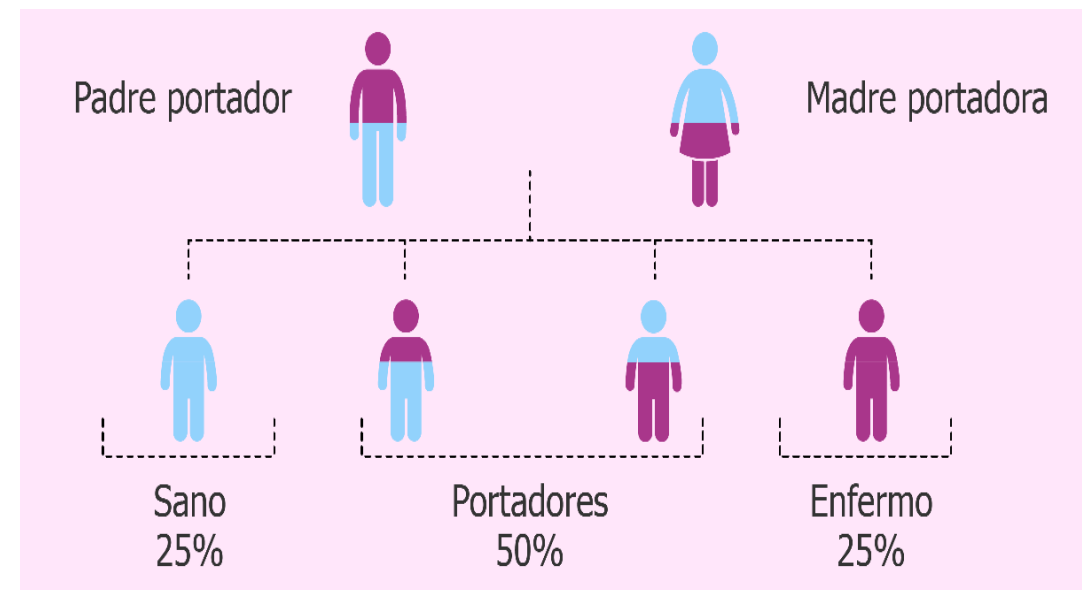


# PRECONCEPCIONAL



Brindar información a los progenitores de la posibilidad de transmisión de enfermedades hereditarias. Principalmente de aquellas de herencia recesiva.

- Enfermedades con frecuencia de portador alto: FQ (1/25), AME (1/40), FRAXA (1/125)
- Que se evalúa el mecanismo molecular involucrado
- Resultado: Riesgo de tener un hijo afectado, en función de la compatibilidad de los progenitores para las enfermedades testeadas
- También debería ser usado en dadores de gametos.



# Test de portadores



The American College of  
Obstetricians and Gynecologists  
WOMEN'S HEALTH CARE PHYSICIANS

Genetics  
inMedicine

ACMG POLICY STATEMENT

© American College of Medical Genetics and Genomics

## COMMITTEE OPINION

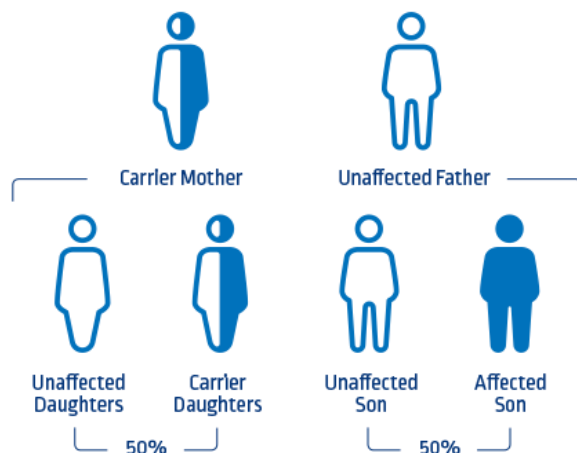
Number 691 • March 2017  
(Reaffirmed 2020)

(Replaces Committee Opinion Number 318, October 2005;  
Committee Opinion Number 432, May 2009;  
Committee Opinion Number 442, October 2009;  
Committee Opinion Number 469, October 2010;  
Committee Opinion Number 486, April 2011)

### Committee on Genetics

This Committee Opinion was developed by the American College of Obstetricians and Gynecologists' Committee on Genetics in collaboration with committee members Britton Rink, MD; Stephanie Romero, MD; Joseph R. Biggio Jr, MD; Devereux N. Saller Jr, MD; and Rose Giardine, MS.

This document reflects emerging clinical and scientific advances as of the date issued and is subject to change. The information should not be construed as dictating an exclusive course of treatment or procedure to be followed.



### Carrier Screening for Genetic Conditions

C	Copy number analysis	S	Full Sequencing Analysis	‡	SMA Silent Carrier Analysis
CGG	CGG Repeat Analysis	*	Females Only		

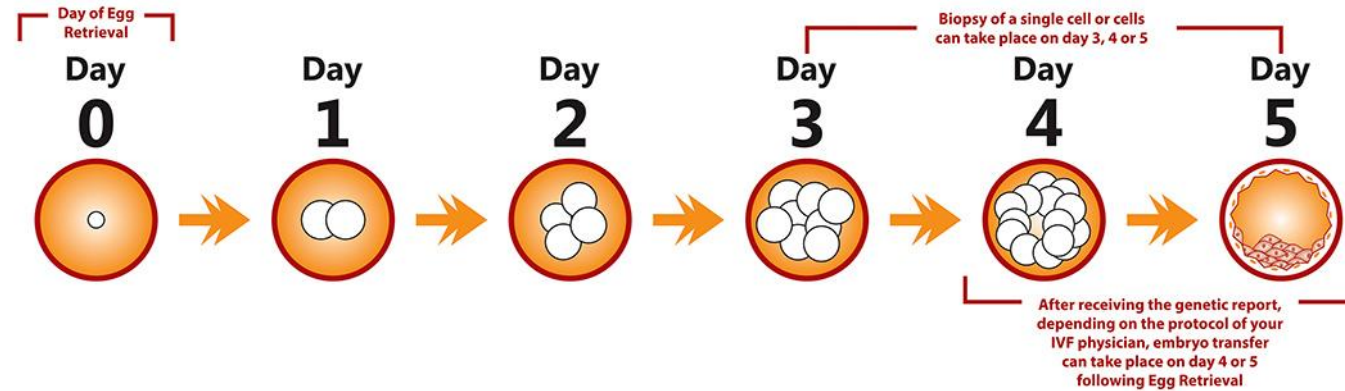
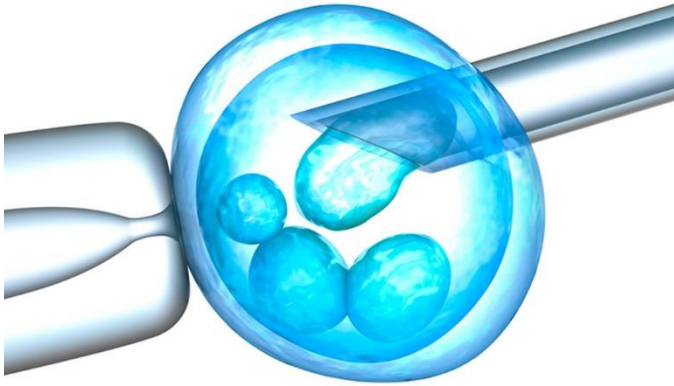
### ACMG AND ACOG

Alpha-Thalassemia (HBA1 and HBA2)	C	S	Fanconi Anemia (FANCC)	S
Beta-Hemoglobinopathies (Beta-Thalassemia and Sickle Cell Disease, HBB)	C	S	Fragile-X Syndrome (FMR1) *	CGG
Bloom Syndrome (BLM)		S	Gaucher Disease (GBA)	S
Canavan Disease (ASPA)		S	Mucopolidosis IV (MCOLN1)	C S
Cystic Fibrosis (CFTR)	C	S	Niemann-Pick Disease, Type A (SMPD1)	S
Duchenne/Becker Muscular Dystrophy (DMD) *	C	S	Spinal Muscular Atrophy (SMN1) ‡	C
Familial Dysautonomia (IKBKAP)		S	Tay-Sachs Disease (HEXA)	C S



focus  
EXOMA CLÍNICO DIRIGIDO

# PREIMPLANTACIONAL



**PGT-A: Aneuploidías**

**ERA: Receptividad endometrial**

**PGT-M → Mendelianas**

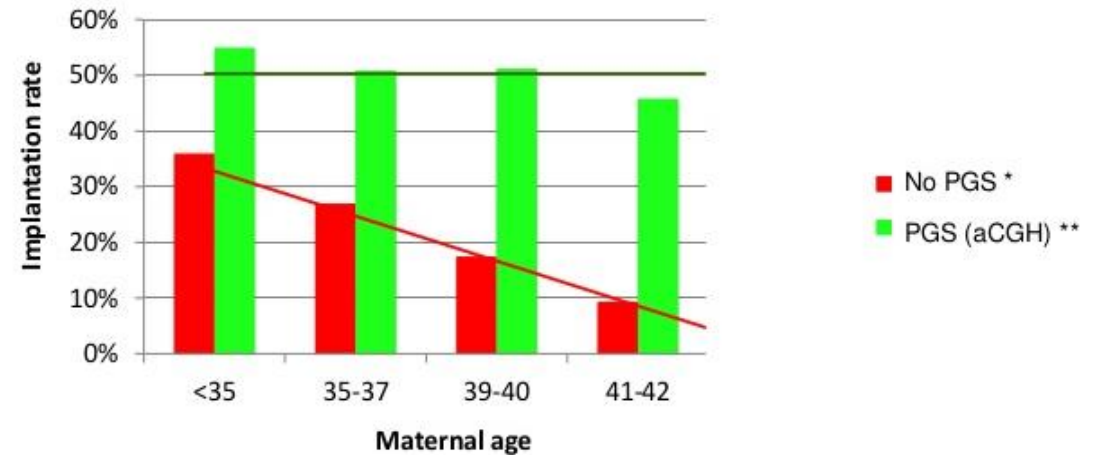
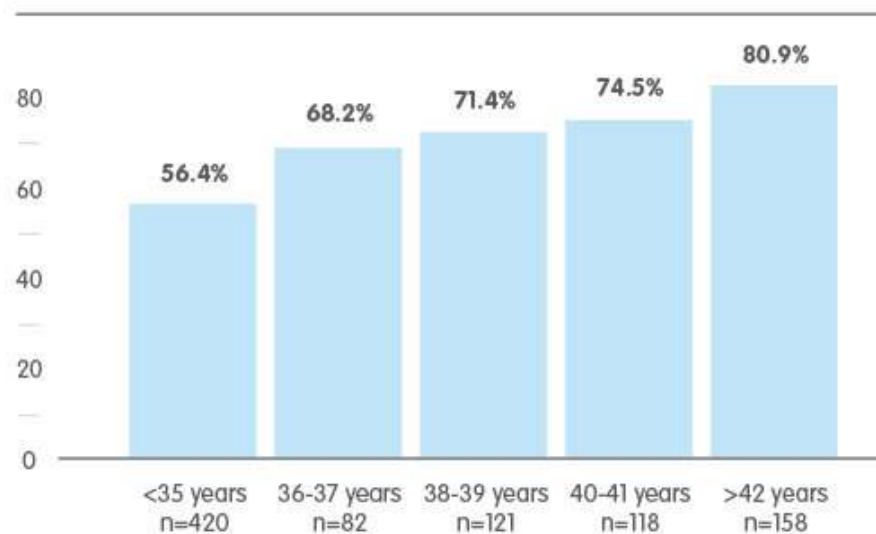


# PGT-A



- Selección de embriones euploides en FIV.
- El aumento de la edad materna conlleva un aumento de embriones aneuploides.
- *PGT: Test Genético Preimplantacional* - A partir de biopsia embrionaria (D5) se realiza el análisis de aneuploidías en células del embrión.
- Mejora la tasa de embarazo y nacidos.
- Problemática: escasa cantidad de ovocitos a mayor edad materna.

Abnormal embryos per age



\* SART 2011

\*\* Harton, Munné et al. (2013) Fertil Steril. And unpublished data to 8/2013. N >800 blast biopsies

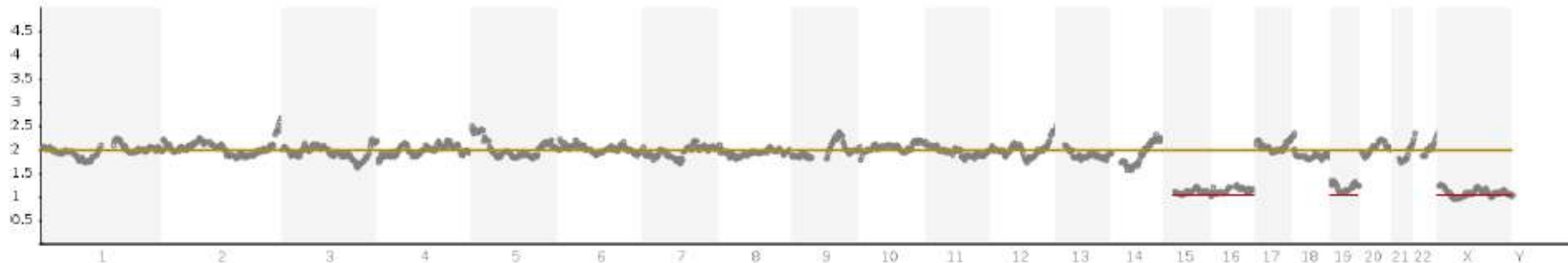


# Resultados PGT-A

**Resultado:** 42, X0, -15, -16, -19

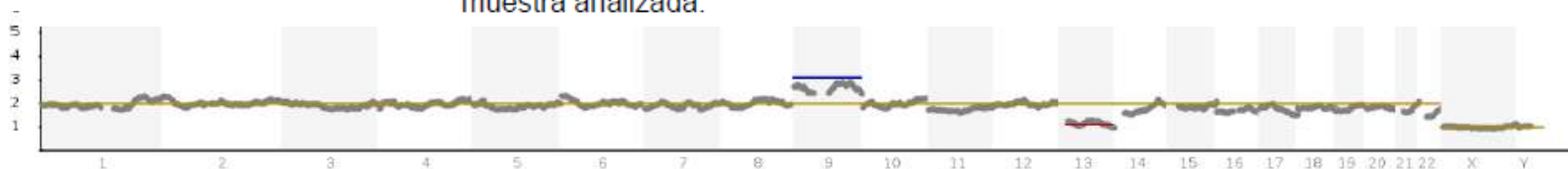
**Interpretación:** Con la metodología utilizada, se detectan múltiples monosomías cromosómicas, es decir, la presencia de una sola copia de los cromosomas X, 15, 16 y 19 en la muestra analizada.

**Para quién??**  
Edad Reproductiva avanzada  
Fallo de implantación (+ 2)  
Abortos recurrentes (+ 2)



**Resultado:** 46, XY, +9, -13

**Interpretación:** Con la metodología utilizada, se detecta trisomía del cromosoma 9, es decir, la presencia de tres copias del cromosoma 9, además se detecta monosomía del cromosoma 13, es decir, la presencia de una sola copia del cromosoma 13 en la muestra analizada.



# ***NICS: Noninvasive Chromosome Screening***



Método basado en WGS para la detección de aneuploidías o traslocaciones desbalanceadas, a partir del ADN secretado por los blastocistos al medio de cultivo.

## **Ventajas:**

Evitar la biopsia del embrión  
Metodología *a priori* menos compleja y menos costosa

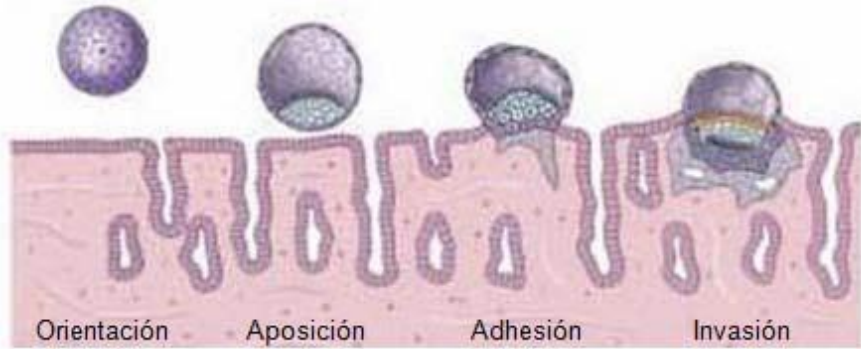
## **Limitaciones:**

FN → presencia de células del *cumulus* (origen materno)  
FP → se piensa que pueden ser mosaico, células que el embrión elimina (rescate de trisomía)

- **Serviría principalmente para la selección de embriones euploides, y cuando fuese aneuploide se debería confirmar por método invasivo.**
- **Falsos negativos es un gran problema si se logra el embarazo.**

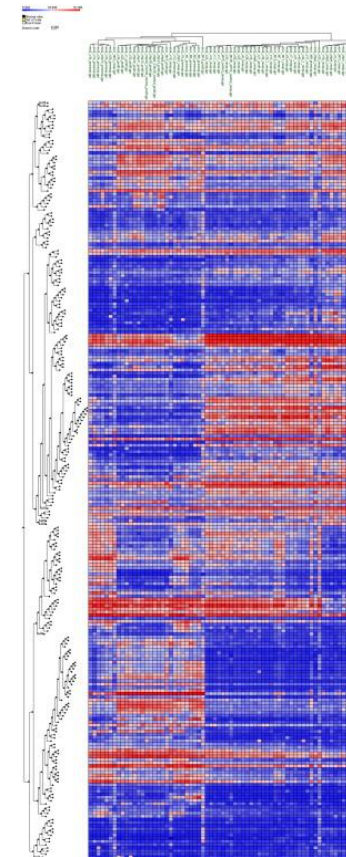
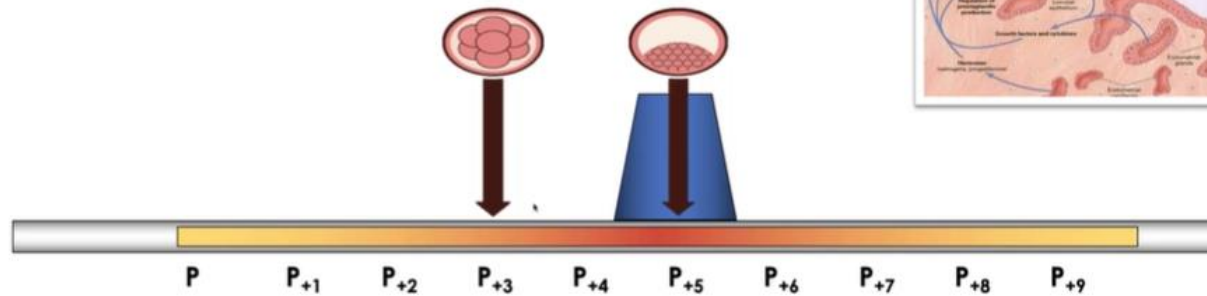
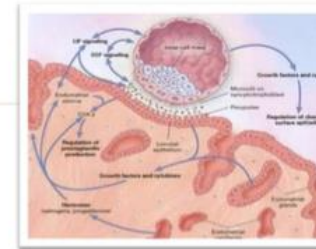


# ERA: Análisis de Receptividad Endometrial



El endometrio varía a lo largo del ciclo menstrual y su principal función es la de estar preparado para la implantación embrionaria y la gestación.

## Window of Endometrial Receptivity



## GENETICS

### A genomic diagnostic tool for human endometrial receptivity based on the transcriptomic signature

Patricia Díaz-Gimeno, Ph.D.,<sup>1,2</sup> José A. Horcajadas, Ph.D.,<sup>3</sup> José A. Martínez-Conejero, Ph.D.,<sup>4</sup> Francisco J. Esteban, Ph.D.,<sup>5</sup> Pilar Alami, M.D.,<sup>6,7</sup> Antonio Pellicer, M.D.,<sup>8,9</sup> and Carlos Simón, M.D.<sup>2,10</sup>

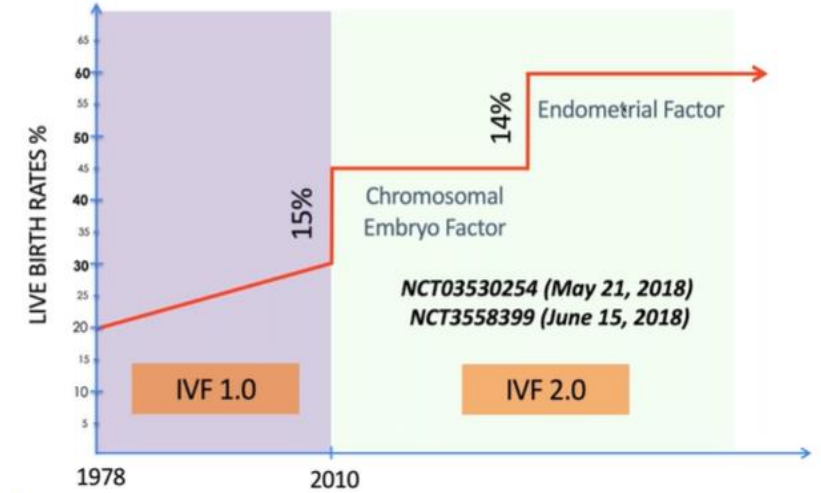
**Objective:** To create a genomic tool composed of a customized microarray and a bioinformatic predictor for endometrial dating and to detect pathologies of endometrial origin. To define the transcriptomic signature of human endometrial receptivity.  
**Design:** Two cohorts of endometrial samples along the menstrual cycle were used: one to select the genes to be included in the customized microarray (endometrial receptivity array [ERA]), and the other to be analyzed by ERA to train the predictor for endometrial dating and to define the transcriptomic signature. A third cohort including pathological endometrial samples was used to train the predictor for pathological classification.  
**Setting:** Healthy oocyte donors and patients.  
**Patient(s):** Healthy fertile women (88) and women with implantation failure (5) or hydrosalpinx (2).  
**Intervention(s):** Human endometrial biopsies.  
**Main Outcome Measure(s):** The gene expression of endometrial biopsies.  
**Result(s):** The ERA included 238 selected genes. The transcriptomic signature was defined by 134 genes. The predictor showed a specificity of 0.8857 and sensitivity of 0.99758 for endometrial dating, and a specificity of 0.1571 and a sensitivity of 0.995 for the pathological classification.  
**Conclusion(s):** This diagnostic tool can be used clinically in reproductive medicine and gynecology. The transcriptomic signature is a potential endometrial receptivity biomarkers cluster. (Fertil Steril® 2011;95:50-60. © 2011 by American Society for Reproductive Medicine.)  
**Key Words:** Endometrial receptivity, endometrial dating, microarray, transcriptomic signature, predictor, diagnostic tool

# pET: Transferencia Embrionaria Personalizada



Igenomix®

EL TEST ERA REQUIERE UNA SENCILLA Y RÁPIDA BIOPSIA ENDOMETRIAL



**Para quién?** Mujeres en las que se ha producido falla con embriones euploides y con útero morfológicamente y anatómicamente normal

**Para qué?** Permite determinar la ventana de implantación personalizada y establecer en función del resultado una transferencia de embriones personalizada

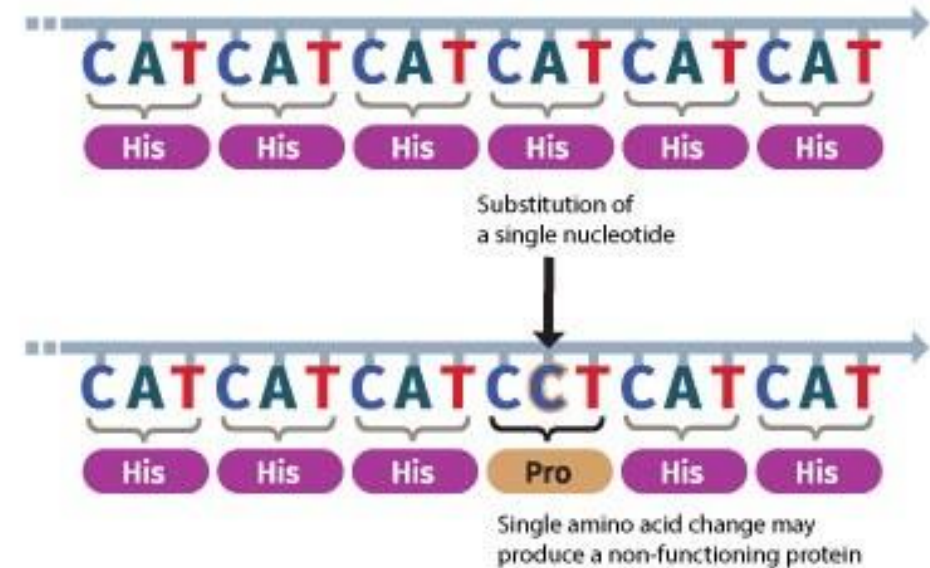
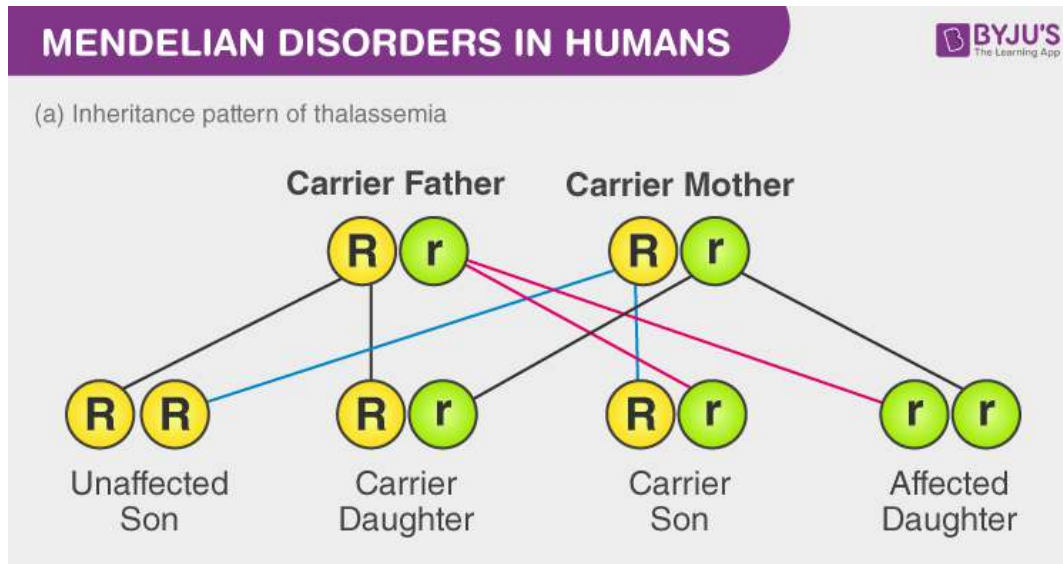
**Cómo y qué?**

- Biopsia endometrial en día LH+7 (ciclo natural) o día P+5 (ciclo sustituido).
- Se analiza la expresión de más de 200 genes implicados en la receptividad endometrial por NGS.
- Los datos obtenidos clasifican al endometrio como receptivo o no receptivo.

# PGT-M: Test genético preimplantacional para enfermedades Mendelianas

**Para quién?** Parejas con riesgo de tener descendencia con un desorden causado por una variante patogénica conocida (monogénico).

**Para qué?** Selección de embriones que no sean portadores de la variante en cuestión a buscar. Se selecciona además embriones euploides.



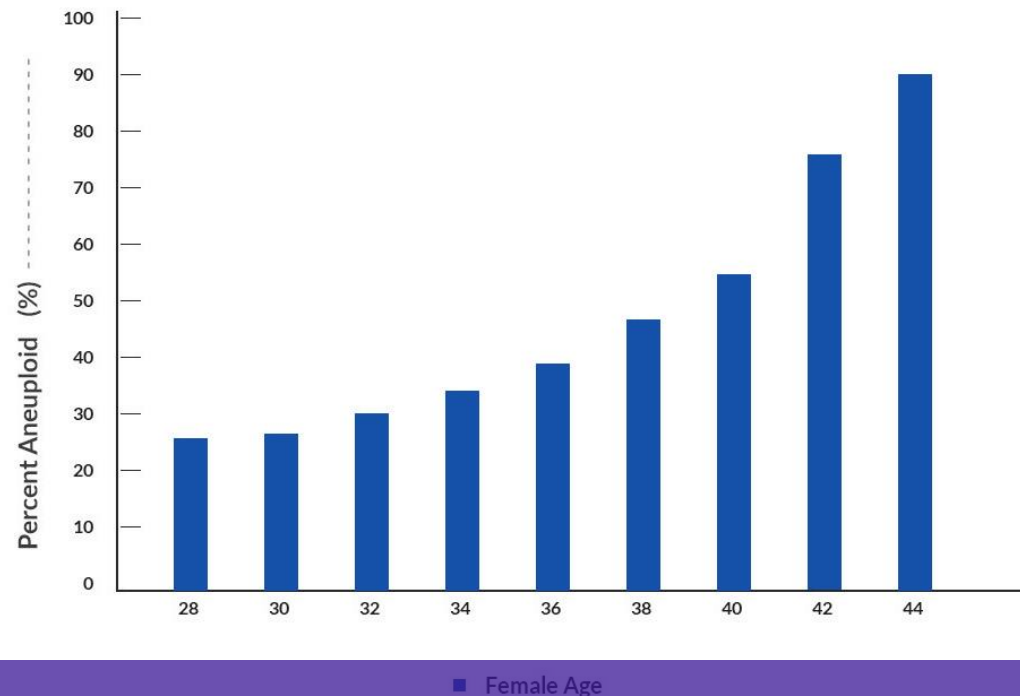
# PRENATAL



**Detectar precozmente anomalías congénitas** con el fin de:

- Brindar **tratamiento** prenatal o perinatal
- **Tomar acciones** al momento del parto para controlar la afección
- **Interrupción voluntaria** del embarazo
- **Preparación emocional** para los progenitores

Percent of embryos with aneuploidy by female age



- ✓ Edad materna avanzada
- ✓ Abortadoras recurrentes
- ✓ Antecedentes familiares
- ✓ Voluntad o ansiedad materna





# Técnicas invasivas

- ✓ Riesgo genético mayor al riesgo de la prueba invasiva
- ✓ Cribado combinado de alto riesgo
- ✓ Malformación ecográfica
- ✓ Antecedentes familiares fuertes
- ✓ Ansiedad o angustia materna

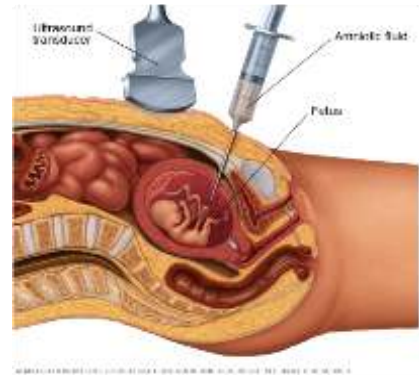
## BIOPSIA CORIAL

Semana 10-13  
 Más precoz  
 Técnica agresiva  
 Contaminación materna  
 Células del trofoectodermo



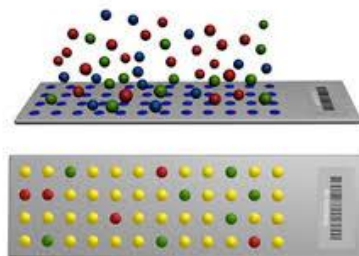
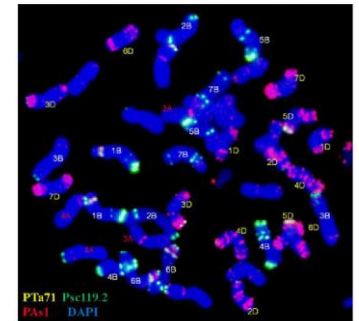
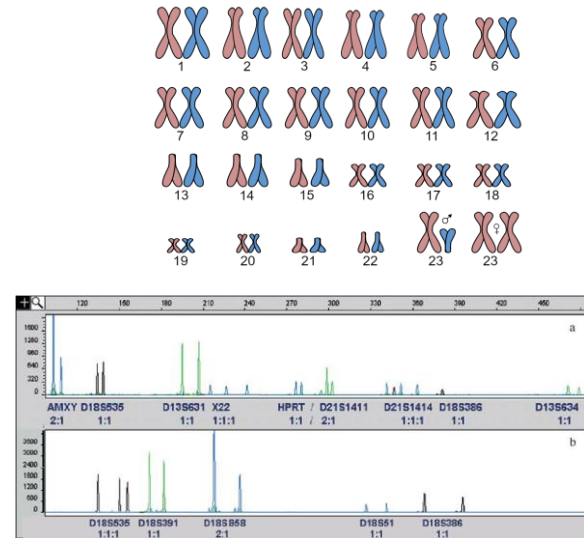
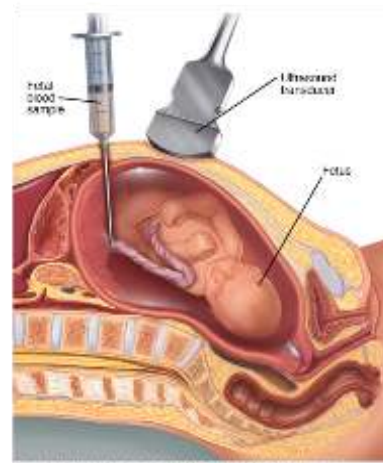
## AMNIOCENTESIS

Semana 15-20  
 Técnica más habitual  
 Menor riesgo (expertiz)  
 Más fiabilidad diagnóstica  
 Células epiteliales (piel y sistema urinario)



## CORDOCENTESIS

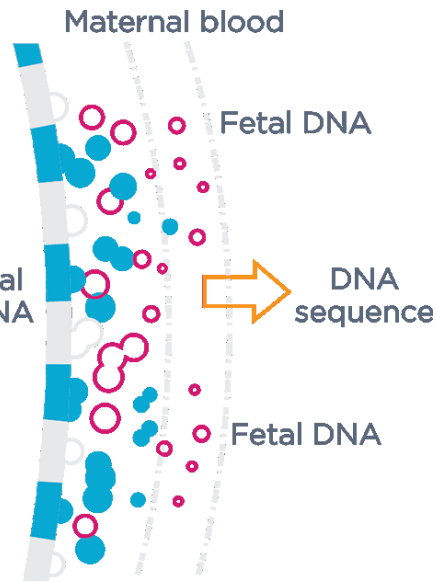
Semana 18-20  
 Dificultad técnica  
 Riesgo fetal alto  
 Sólo para técnicas diagnósticas específicas



# Non-Invasive Prenatal Screening (NIPS)



Placental Cells, DNA



BMJ

RESEARCH

## Non-invasive prenatal assessment of trisomy 21 by multiplexed maternal plasma DNA sequencing: large scale validity study

Rossa W K Chiu, professor,<sup>1</sup> Ranjit Akolekar, clinical research fellow,<sup>1</sup> Yama W L Zheng, student,<sup>1</sup> Tak Y Leung, professor,<sup>2</sup> Hao Sun, assistant professor,<sup>1</sup> K C Ai fellow,<sup>3</sup> Attie T H Go, professor,<sup>2</sup> Elizabeth T Lai, William W K Lo, consultant,<sup>4</sup> Wing C Leung, consultant,<sup>5</sup> Helena Lam, consultant,<sup>10</sup> Yu Y Kun Yugt, professor,<sup>6</sup> Ryoko Minekawa, postdoctoral associate professor,<sup>7</sup> Jun Wang, professor,<sup>12</sup> ass Tze K Lau, professor,<sup>2</sup> Kypros H Nicolaides, professor,<sup>3</sup> Y M Dennis Lo, professor<sup>1,12</sup>

**Análisis Trisomía 21: 753 embarazadas**  
**Sensibilidad: 100%**  
**Especificidad: 97.9%**

postdoctoral  
 it professor,<sup>2</sup>  
 C Au Yeung,  
 John M G van  
 rary clinical  
 le professor,<sup>9</sup>

<sup>1</sup>Centre for Research into Circulating Fetal Nucleic Acids, Li Ka Shing Institute of Health Sciences, Department of Clinical Pathology, The Chinese University of Hong Kong, Hong Kong SAR, China  
<sup>2</sup>Department of Obstetrics and

**ABSTRACT**  
**Objectives** To validate the clinical efficacy and practical feasibility of massively parallel maternal plasma DNA sequencing to screen for fetal trisomy 21 among high risk pregnancies clinically indicated for amniocentesis or chorionic villus sampling.

**Conclusion** Multiplexed maternal plasma DNA sequencing analysis could be used to rule out fetal trisomy 21 among high risk pregnancies. If referrals for amniocentesis or chorionic villus sampling were based on the sequencing test results, about 98% of the invasive diagnostic procedures could be avoided.

## Ácidos nucleicos circulantes en plasma (CNAs)

Descubiertos en 1948

1989 se asocia a cáncer (Biopsia líquida)

1997 Lo et al. , presencia de CNAs fetales en plasma materno

Proviene de la apoptosis del trofoblasto (origen placentario)

Supone entre un 5-8% del ADN total materno

Crece durante el embarazo

Puede detectarse precozmente (semana 9)

Desaparece luego del parto

Contenido de ADN mayor que en células fetales

# Non-Invasive Prenatal Screening (NIPS)



NIPT



Integrated screening



Serum integrated screening



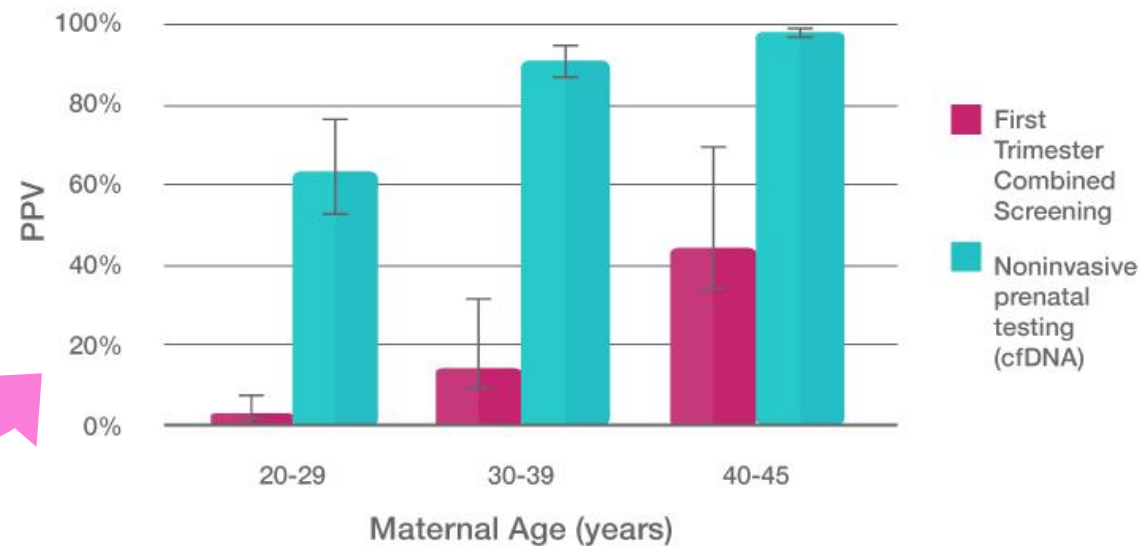
Quad screening



First trimester screening



Trisomy 21 PPVs: NIPT vs. First Trimester Combined Screening

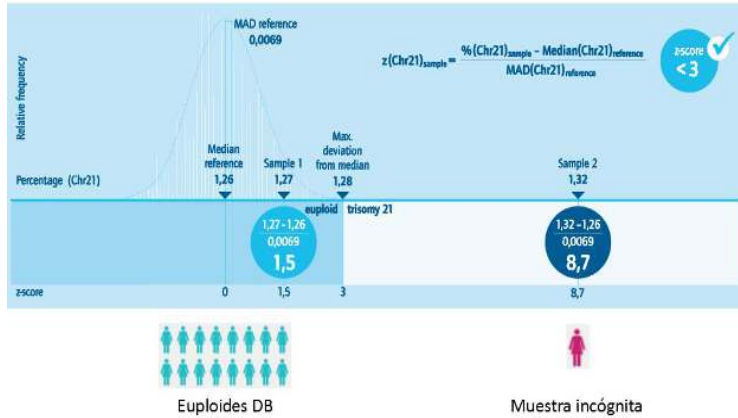


$$\text{PPV} = \frac{\text{VP}}{\text{VP} + \text{FP}}$$

**Tasa de Falsos Positivos:**  
*Screening combinado: 5%*  
*NIPT: 0.1%*



# 1- DB Euploide



# 2- Validación

Validación con controles comerciales



Cohorte de validación



# 3- Comercialización



+ de 1200 tests realizados

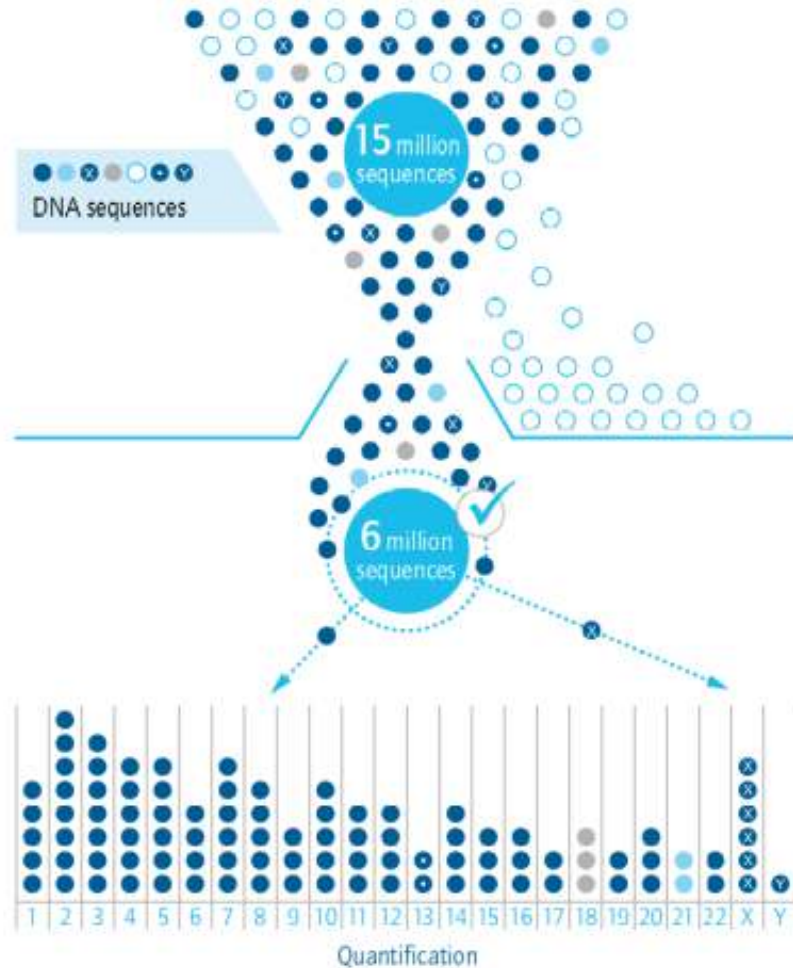
# 4- Seguimiento y mejora continua



# Método de conteo estadístico

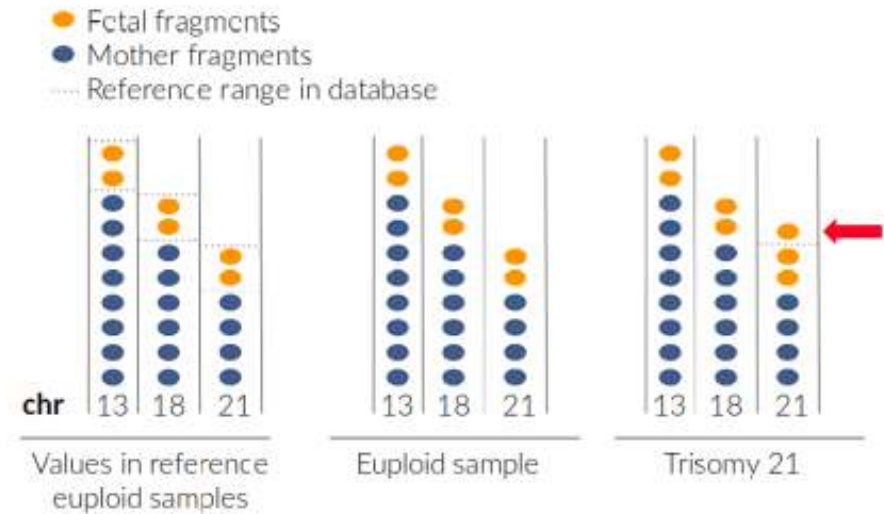


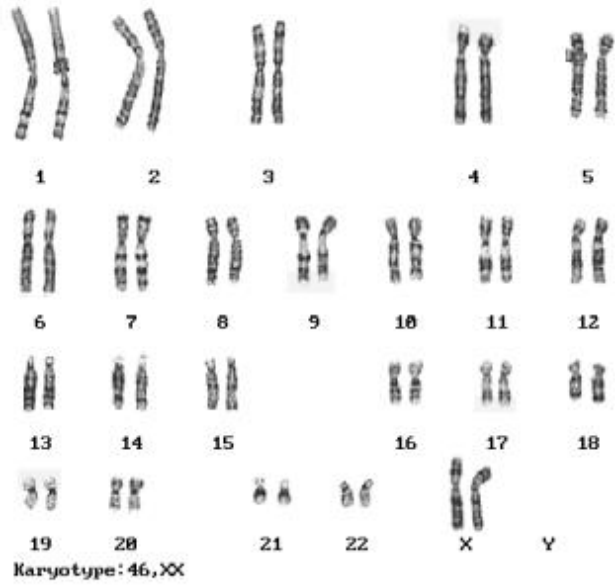
Filter high quality uniquely mapped reads



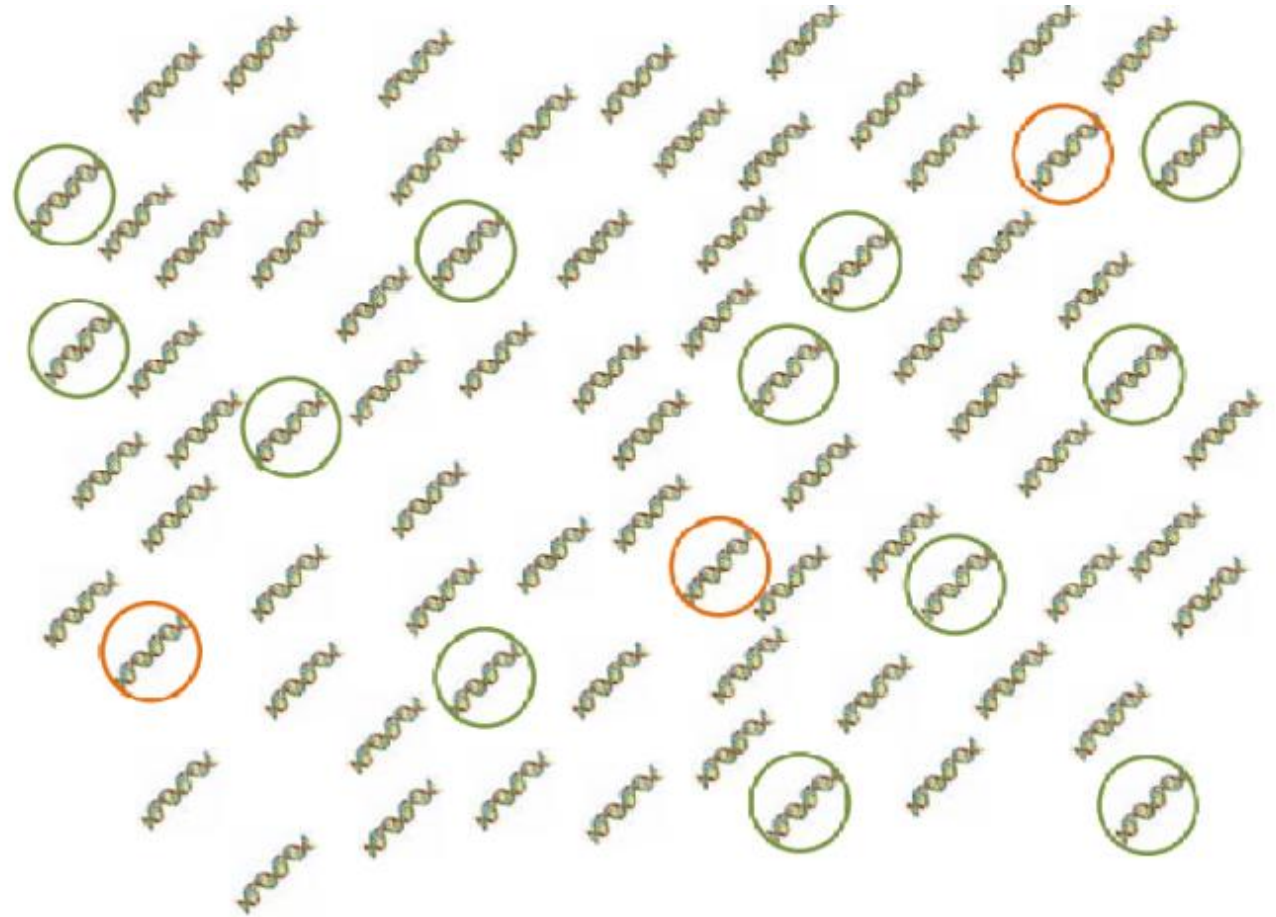
## Counting Method

- NGS reads are mapped to chromosomes and counted
- Aneuploidies are detected by comparing the amount of chromosomal material (% reads mapped) against a set of reference chromosomes



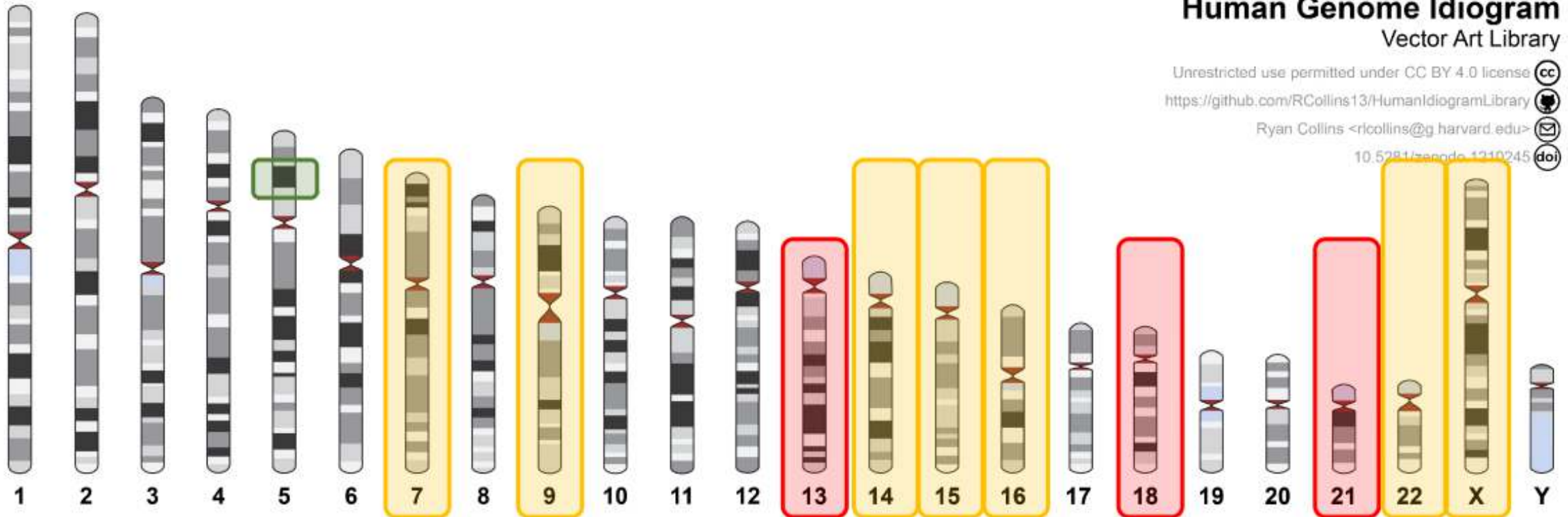


Chr21: 1.5% genome  
Chr3: 6% genome



- Tier I, Alto riesgo, Down, Edwards, Patau
- Tier II, Pérdida de embarazo frecuente, Sme Turner
- Tier IV, Microdelecciones/Microduplicaciones

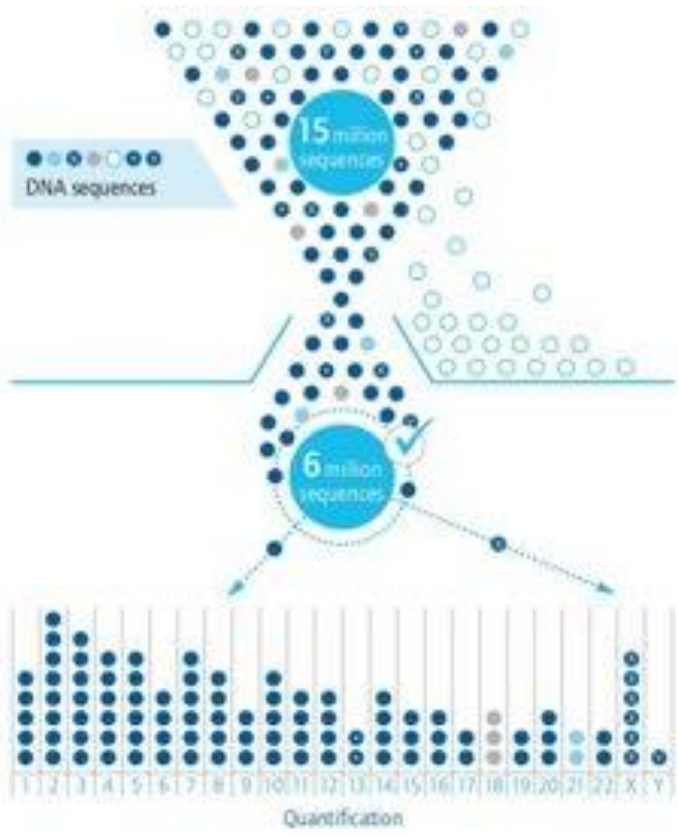
## ¿Qué resultado reporta VISON?



**Human Genome Idiogram**  
Vector Art Library

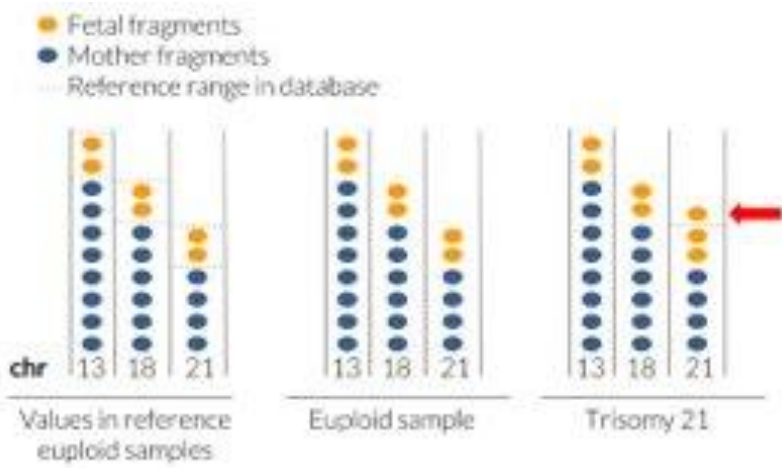
Unrestricted use permitted under CC BY 4.0 license   
<https://github.com/RCollins13/HumanIdiogramLibrary>   
Ryan Collins <ricollins@harvard.edu>   
10.5281/zenodo.1210245





- % Fetal Fraction
- # MAPQ30 reads
- QS (Sample quality)
- Library performance

- 4 scores for chromosomal aneuploidies\*
- Chromosome level plots
- Fetal sex prediction



# Reporte y Asesoramiento Genético



<https://www.visionheritas.com/>



contacto@visionheritas.com



## Información de la Paciente

Nro. Protocolo: IMC (kg/m<sup>2</sup>): 21.39  
 Paciente: Fecha de Ingreso: 16.09.20  
 Edad: 35 Fecha de Reporte: 25.09.20  
 Gestación: ND

## RESULTADOS DEL ANÁLISIS

EDAD GESTACIONAL	FRACCIÓN ADN FETAL
9 sem	6.51 %

<b>ANEUPLOIDÍAS NO DETECTADAS</b>	<b>CRÓMOSOMA Y</b> DETECTADO
	<b>CRÓMOSOMAS SOLICITADOS SIN HALLAZGOS RELEVANTES</b> 22 pares autosomales y par sexual

## Resultados detallados

Condición testeada	% Riesgo a priori *	% Riesgo a posteriori **	% VPP ***	Resultado
Trisomía 21	0.44%	< 0.01%		NO DETECTADA
Trisomía 18	0.22%	< 0.01%		NO DETECTADA
Trisomía 13	0.07%	< 0.01%		NO DETECTADA
Monosomía X				NO DETECTADA
Aneuploidías cromosomas 7,9,14,15,16,22				NO DETECTADAS
Otras aneuploidías CNVs (****)				NO DETECTADAS NO DETECTADA

Se indica valor "Sin Datos", según caso, cuando falta el dato de Edad Ovulatoria o Edad Oviposición. (\*) Riesgo a priori calculado según: Snijders RJ, et al. Maternal age and gestation-specific risk for trisomy 21. Ultrasound Obstet Gynecol. 1999;13(5):167-70. Snijders RJ, et al. Maternal age and gestation-specific risk for chromosomal defects. Fetal Diagn Ther. 1995 Nov-Dec;10(5):355-57. (\*\*) Riesgo a posteriori calculado según: Skowman-radcliff B, et al. NIPTQC: an online tool for clinical interpretation of non-invasive prenatal testing (NPT) results. Sci Rep. 2016;6:20259. (\*\*\*) Valor predictivo positivo calculado según: https://www.prenatalgenetics.org/News/NIPT/ from National Society of Genetic Counselors. Ver Anexo 7 (Definiciones). (\*\*\*\*) Ver Anexo 5 (CNVs).



## Información de la Paciente

Nro. Protocolo: IMC (kg/m<sup>2</sup>): 29.3  
 Paciente: Fecha de Ingreso: 10.10.20  
 Edad: 45 Fecha de Reporte: 22.10.20  
 Gestación: Única por Ovodonación

## RESULTADOS DEL ANÁLISIS

EDAD GESTACIONAL	FRACCIÓN ADN FETAL
16 sem	6.46 %

<b>ANEUPLOIDÍA DETECTADA Trisomía 21</b>	<b>CRÓMOSOMA Y</b> DETECTADO
	<b>CRÓMOSOMAS SOLICITADOS SIN HALLAZGOS RELEVANTES</b> 21 pares autosomales y par sexual

## Resultados detallados

Condición testeada	% Riesgo a priori *	% Riesgo a posteriori **	% VPP ***	Resultado
Trisomía 21	0.16%	> 99.99%	76%	DETECTADA
Trisomía 18	0.04%	< 0.01%		NO DETECTADA
Trisomía 13	0.01%	< 0.01%		NO DETECTADA
Monosomía X				NO DETECTADA
Aneuploidías cromosomas 7,9,14,15,16,22				NO DETECTADAS
Otras aneuploidías CNVs (****)				NO DETECTADAS NO DETECTADA

Se indica valor "No Disponible", según caso, cuando falta el dato de Edad Ovulatoria o Edad Oviposición. (\*) Riesgo a priori calculado según: Snijders RJ, et al. Maternal age and gestation-specific risk for trisomy 21. Ultrasound Obstet Gynecol. 1999;13(5):167-70. Snijders RJ, et al. Maternal age and gestation-specific risk for chromosomal defects. Fetal Diagn Ther. 1995 Nov-Dec;10(5):355-57. (\*\*) Riesgo a posteriori calculado según: Skowman-radcliff B, et al. NIPTQC: an online tool for clinical interpretation of non-invasive prenatal testing (NPT) results. Sci Rep. 2016;6:20259. (\*\*\*) Valor predictivo positivo calculado según: https://www.prenatalgenetics.org/News/NIPT/ from National Society of Genetic Counselors. Ver Anexo 7 (Definiciones). (\*\*\*\*) Ver Anexo 5 (CNVs).

# POSTNATAL



## Objetivo

- Establecer las bases moleculares de la patología del paciente.
- Brindar herramientas que puedan utilizarse para la prognosis, tratamiento y asesoramiento familiar.
- Diferentes técnicas moleculares en función de la anomalía que se quiera identificar.



Cariotipo  
FISH



Array (BACs, oligos,  
SNPs, de expresión,  
etc)



PCR ( distintos  
tipos)



Secuenciador  
Sanger

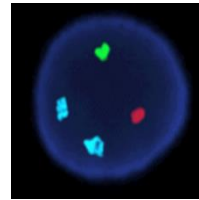


Next Generation  
Sequencing

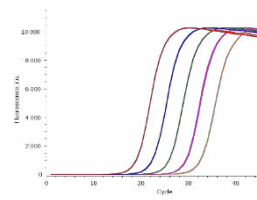




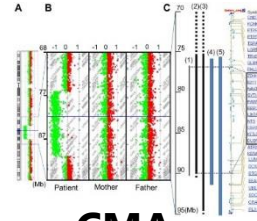
# ¿Cuál estudio es el mejor?



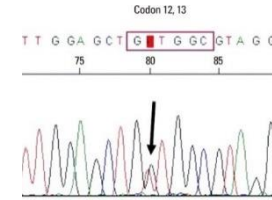
FISH



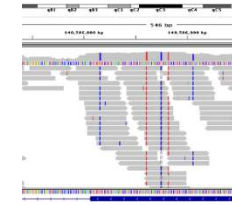
PCR



CMA

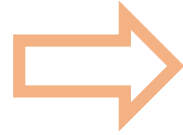


SANGER

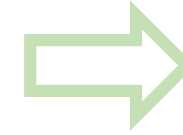


NGS

Evaluación clínica detallada:  
Antecedentes familiares  
Estudios previos  
Sospecha clínica



Etiología del mecanismo molecular de sospecha



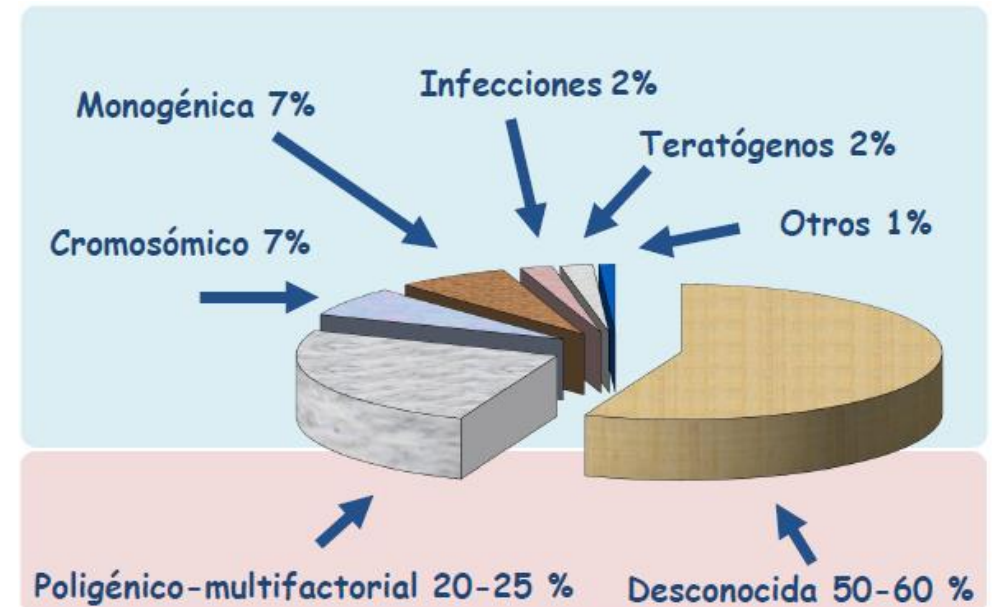
Técnica molecular más adecuada



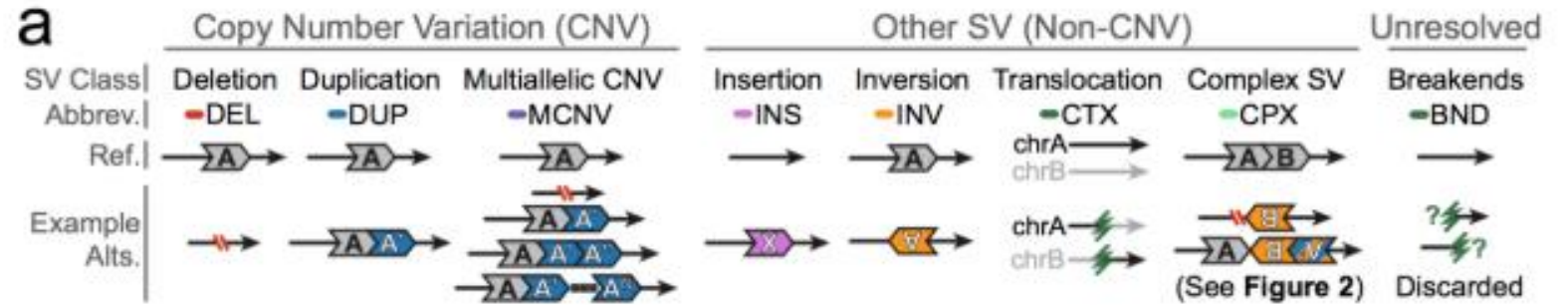
# Anomalías Congénitas

**“Las anomalías congénitas se denominan también defectos de nacimiento, trastornos congénitos o malformaciones congénitas. Se trata de anomalías estructurales o funcionales, como los trastornos metabólicos, que ocurren durante la vida intrauterina y se detectan durante el embarazo, en el parto o en un momento posterior de la vida”**

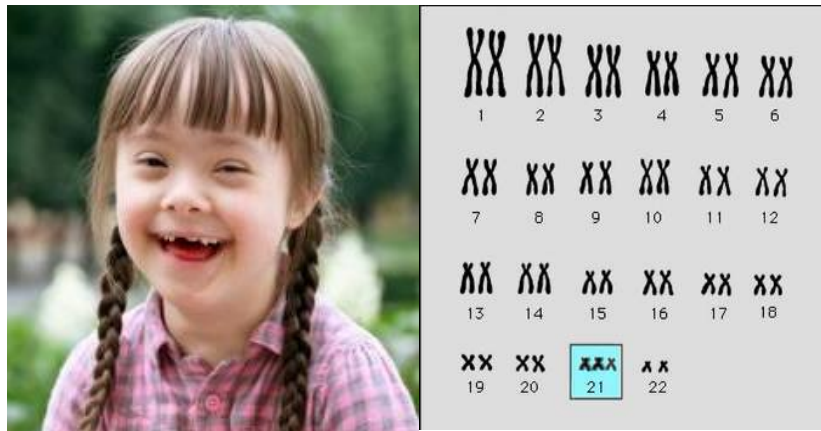
- Se manifiestan de forma prenatal (ej.: polidactilia) o al nacimiento (ej.: sordera congénita)
- Afectan un 2-3% de los RNV
- La etiología de las anomalías congénitas es en gran parte desconocida, siendo algunas de ellas de origen genético.



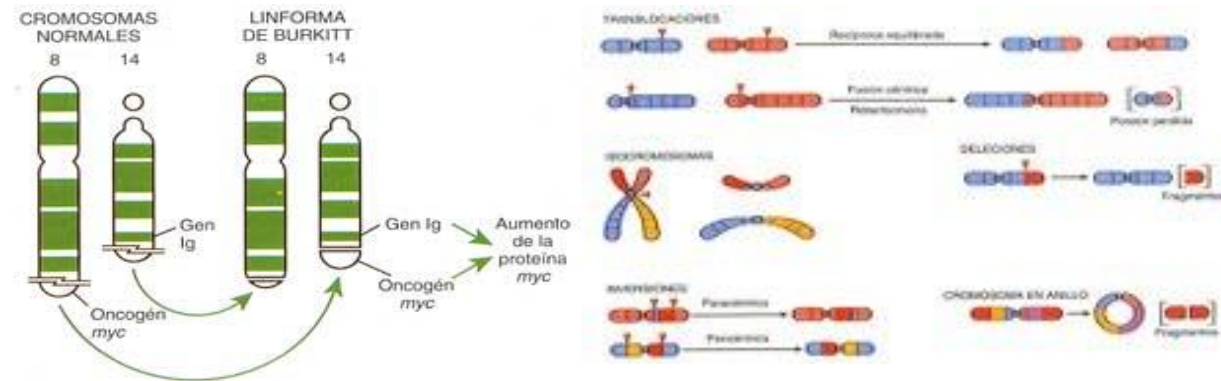
# Anomalías Cromosómicas



## NUMÉRICAS



## ESTRUCTURALES







# Síndromes de microdelección y microduplicación



*Genetics and Molecular Biology*, 37, 1 (suppl), 210-219 (2014)  
 Copyright © 2014, Sociedade Brasileira de Genética. Printed in Brazil  
 www.sbg.org.br

Review Article

## New microdeletion and microduplication syndromes: A comprehensive review

Julián Nevado<sup>1,2\*</sup>, Raffaella Mergener<sup>3\*</sup>, María Palomares-Bralo<sup>1,2</sup>, Karen Regina Souza<sup>3</sup>, Elena Vallespin<sup>1,2</sup>, Rocio Mena<sup>1,2</sup>, Víctor Martínez-Glez<sup>1,2</sup>, María Ángeles Mori<sup>1,2</sup>, Fernando Santos<sup>1,4</sup>, Sixto García-Miñaur<sup>1,4</sup>, Fé García-Santiago<sup>1,5</sup>, Elena Mansilla<sup>1,5</sup>, Luis Fernández<sup>1,6</sup>, María Luisa de Torres<sup>1,5</sup>, Mariluce Riegel<sup>3,7,8</sup> and Pablo Lanuzina<sup>1,4,8,9</sup>

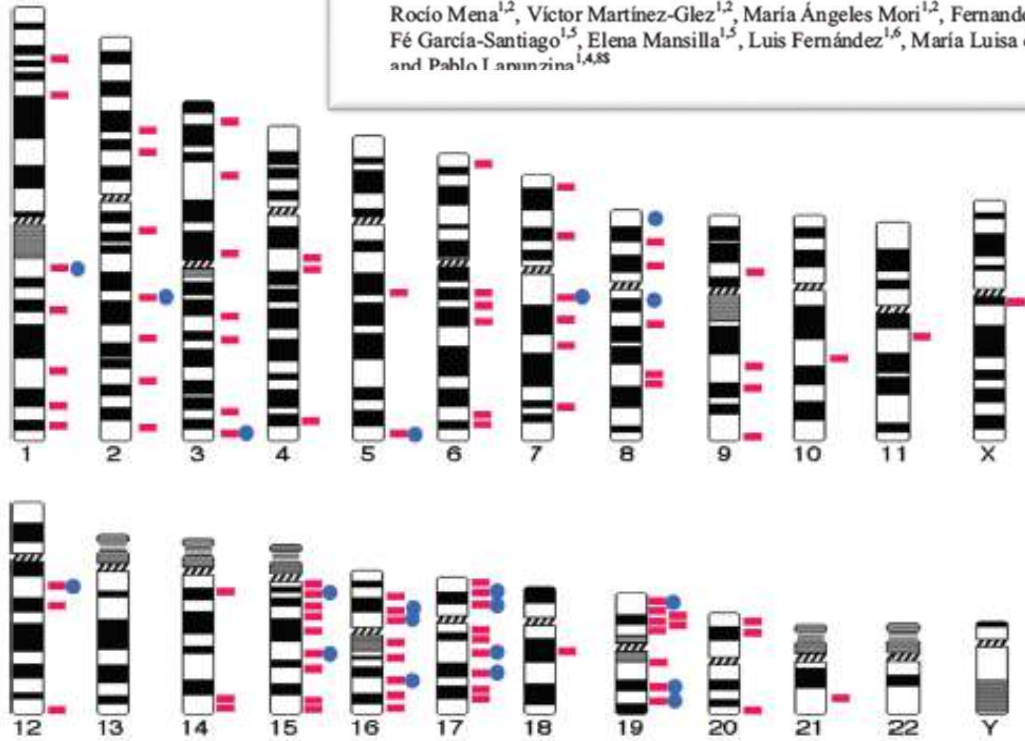
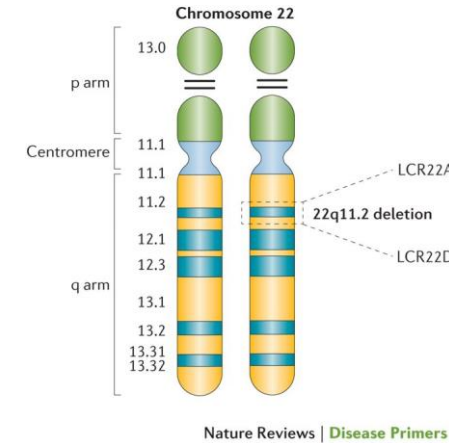
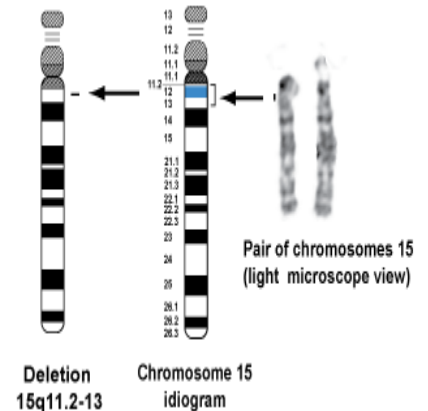


Figure 3 - New microdeletion and microduplication syndromes discovered over the last three to five years. Red squares indicate reported microdeletions and blue circles indicate reported microduplications.



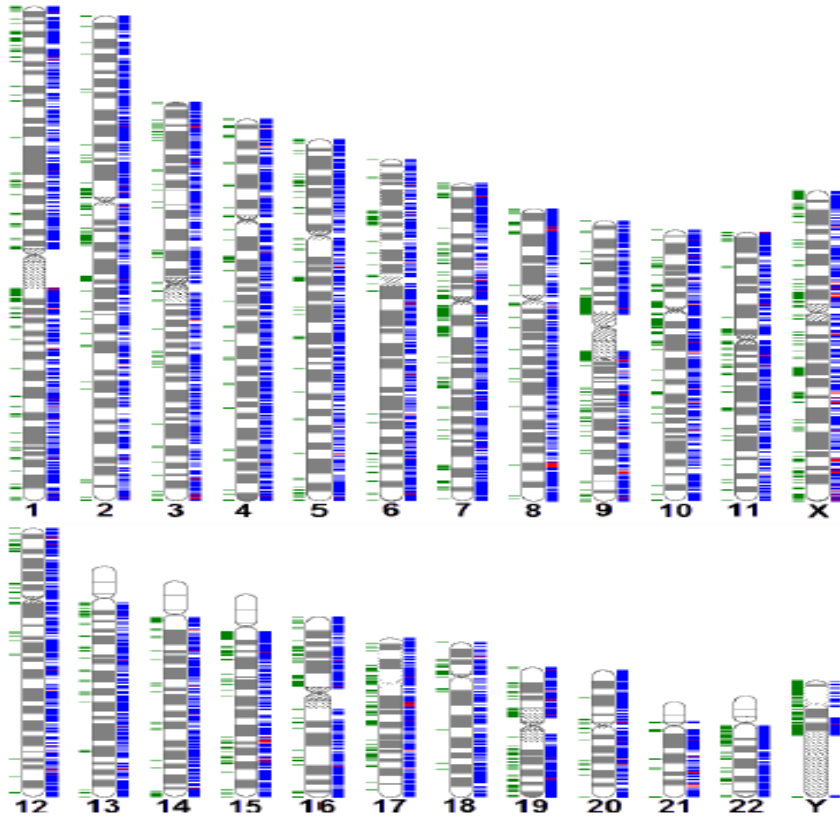
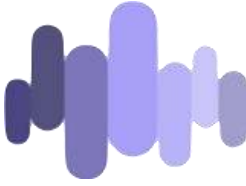
Síndrome 22q11.2

Síndrome Angelman

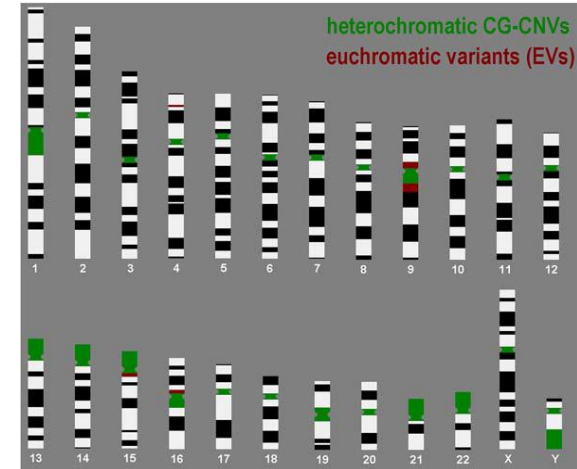


Deletion 15q11.2-13  
 Chromosome 15 idiogram

# CNVs de la normalidad



Database of Genomic Variants, MacDonald y cols. 2014



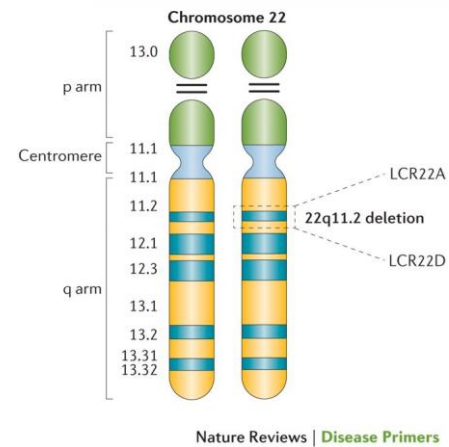
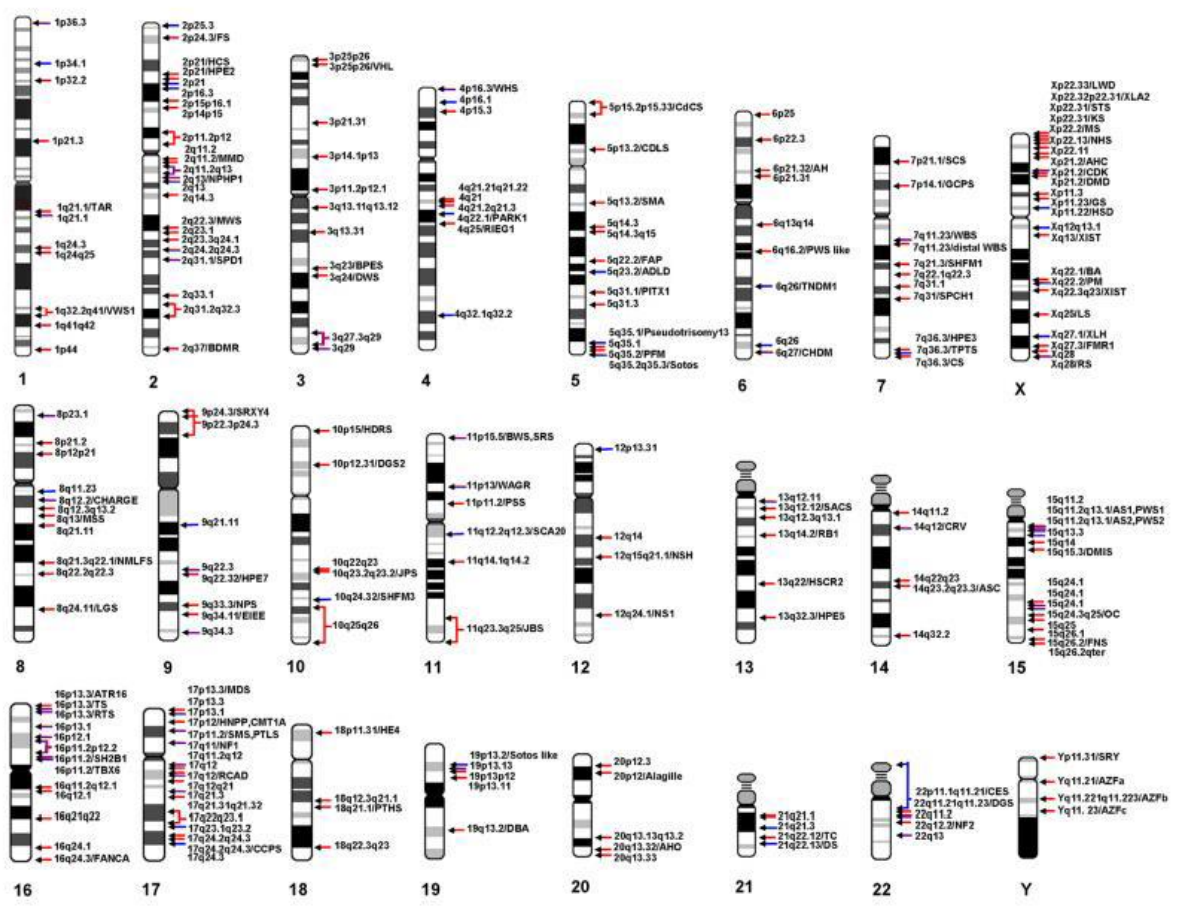
- Rearreglo de ADN que involucra a más de 50pb
  - CNVs en población general
- Contribuyen a la diversidad genómica y fenotípica humana
  - El 80% del genoma tolera variantes de copia
  - Variantes heterocromáticas/eucromáticas: regiones con copias múltiples sin efecto fenotípico aparente



# CNVs patogénicas

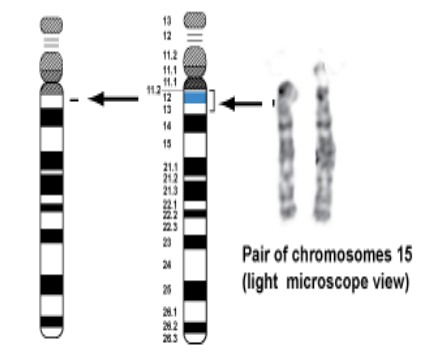
## Microdeletion and Microduplication Syndromes

**Anja Weise, Kristin Mrasek, Elisabeth Klein, Milene Mulatinho, Juan C. Llerena Jr., David Hardekopf, Sona Pekova, Samarth Bhatt, Nadezda Kosyakova, and Thomas Liehr**  
 Jena University Hospital, Friedrich Schiller University, Institute of Human Genetics, Jena, Germany (AW/KM,EK/SB,NK,TL); Instituto Fernandes Figueira, Genetics Department, Rio de Janeiro, Brasil (MM,JCL); and the Chabon Laboratory for Molecular Diagnostics (member of the Synlab Czech Laboratory Group) Prague, Czech Republic (DH,SP)



**Síndrome 22q11.2**

**Síndrome Angelman**



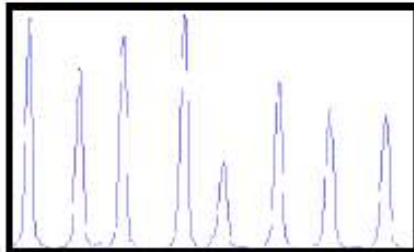
**Deletion 15q11.2-13** **Chromosome 15 ideogram**

Nature Reviews | Disease Primers

# Métodos de detección de CNVs

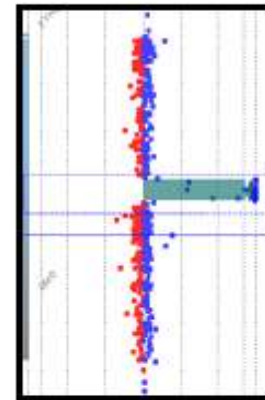
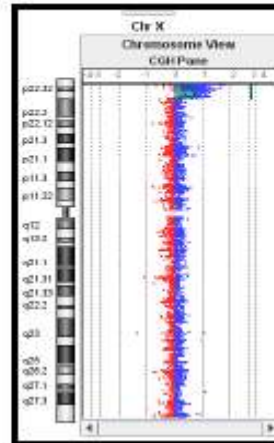
## MLPA:

Resolución: 130-1 pb  
Región investigada: 100 locus  
(dos kits)  
Tasa diagnóstica: 9-12%



## Array:

Resolución: >200 Kb  
Región investigada: todo el genoma  
Tasa diagnóstica: 15-20%



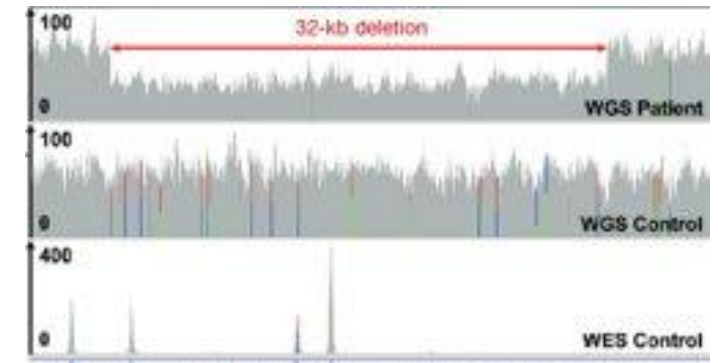
## Citogenética:

Resolución: >6-10 Mb  
Región investigada: todo el genoma  
Tasa diagnóstica: 3%

## Array con cobertura exónica 500 genes:

Resolución: >200 Kb- exónica  
Región investigada: todo el genoma  
Tasa diagnóstica: >20%?

## Whole Genome Sequencing







# 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> 11

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



## FIRST-TIER

DI/RGD

Trastorno espectro autista  
Malformaciones congénitas  
Talla baja  
Epilepsia



## REFLEX

Cromosoma marcador  
Traslocación balanceada  
Cariotipo alterado

**33 estudios**

**N=21,698 pacientes**

**RENDIMIENTO DIAGNÓSTICO: 15-20%**

ORIGINAL

Array CGH como primera opción en el diagnóstico genético: 1.000 casos y análisis de coste-beneficio<sup>☆</sup>

Neus Castells-Sarret<sup>a,b,\*</sup>, Anna M. Cueto-González<sup>a,c</sup>, Mar Borregan<sup>c</sup>,  
Fermina López-Grondona<sup>a</sup>, Rosa Miró<sup>b</sup>, Eduardo Tizzano<sup>a,d</sup> y Alberto Plaja<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Area de Genètica Clínica i Molecular, Hospital Vall d'Hebron, Barcelona, España

<sup>b</sup> Departament de Biologia Cel·lular, Fisiologia i Immunologia, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, Barcelona, España

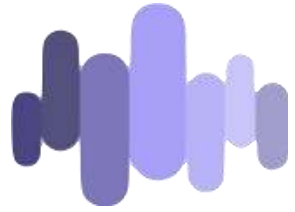
<sup>c</sup> Facultat de Medicina, Departament de Ciències Morfològiques, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, Barcelona, España

<sup>d</sup> CIBERER, Barcelona, España



**Rendimiento del 14%**

- ✓ Talla baja (13,3%)
- ✓ Epilepsia (7,02%)



## Soluciones de Héritas para CMA

**850K**



### **CytoSNP 850K**

845,000 sondas

~50kb en el *backbone*

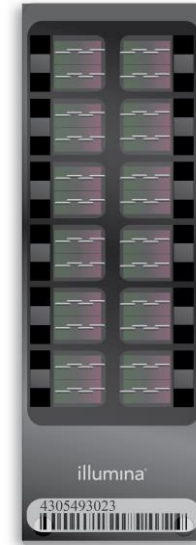
~15kb en ROI definidas por ISCA

chromo  
MICRO ARRAY CROMOSÓMICO

**Plataforma Illumina  
NextSeq550**

illumina®

**300K**

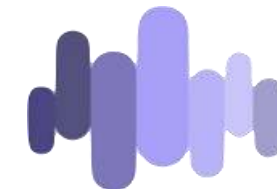


### **CytoSNP-12**

300,000 sondas

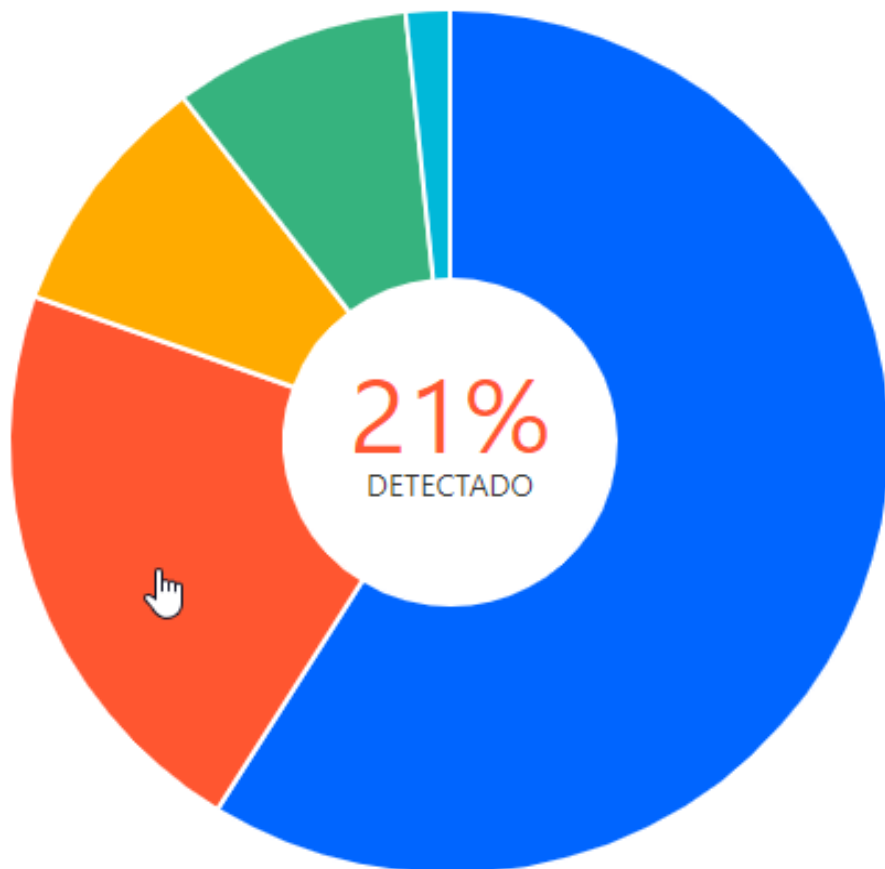
~72kb en el *backbone*

~62kb en ROI definidas por ISCA



+400 Resultados entregado

Héritas Chromo



Resolución del Caso  
Incidencias totales: 435

■ NO DETECTADO	256
■ DETECTADO	94
■ CLINICAMENTE INCIERTO	40

**Rendimiento diagnóstico**  
✓ **21% DETECTADO**  
✓ **9 % CLÍNICAMENTE INCIERTO**

EDAD	Años
Edad Promedio	5,2
Edad Mediana	3,1
Edad Moda	2,0
Edad Rango	0-19

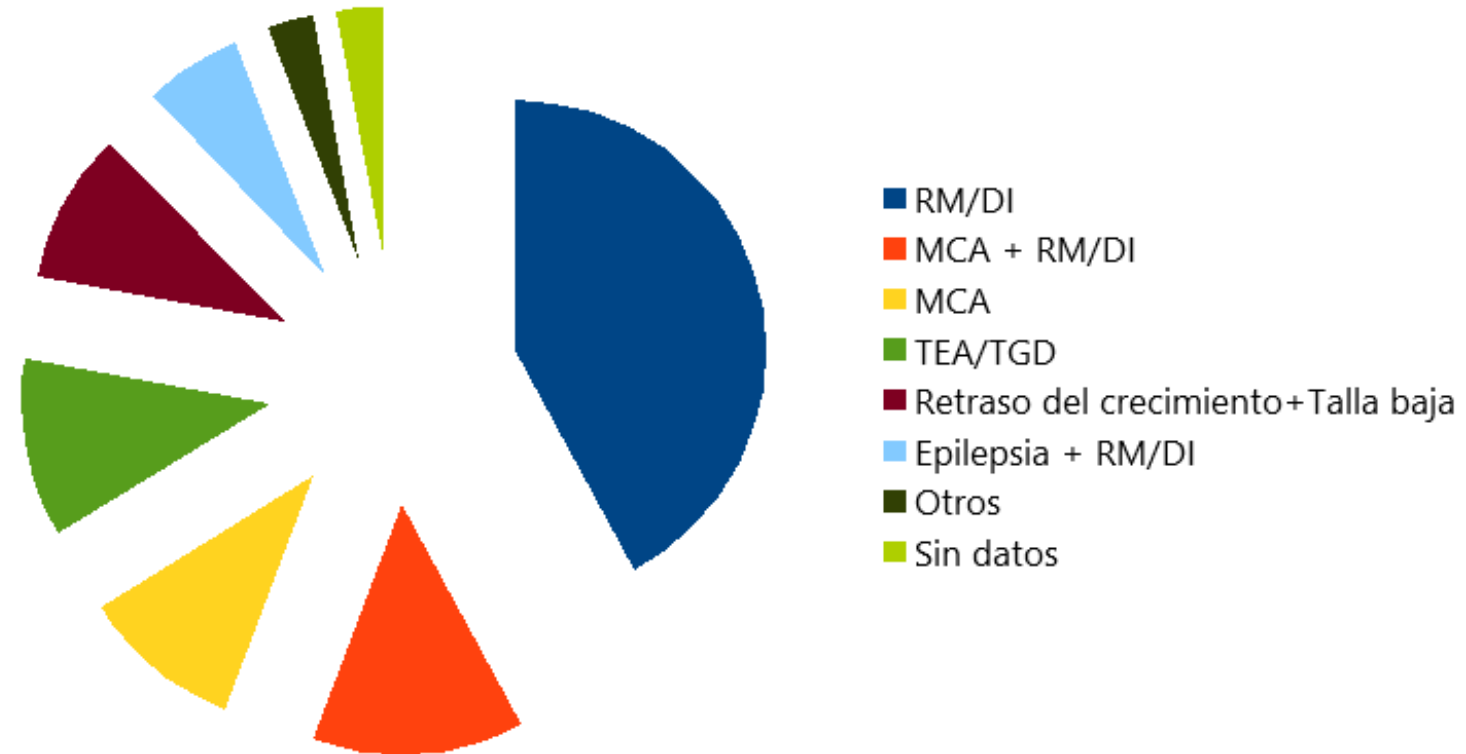
TAMAÑO	Mb
Tamaño promedio (Mb)	13,0
Tamaño Mediana	6,9
Tamaño Moda	12,8
Tamaño Rango	0,24-155

SEXO	%
Sexo Femenino	51,1
Sexo Masculino	48,9

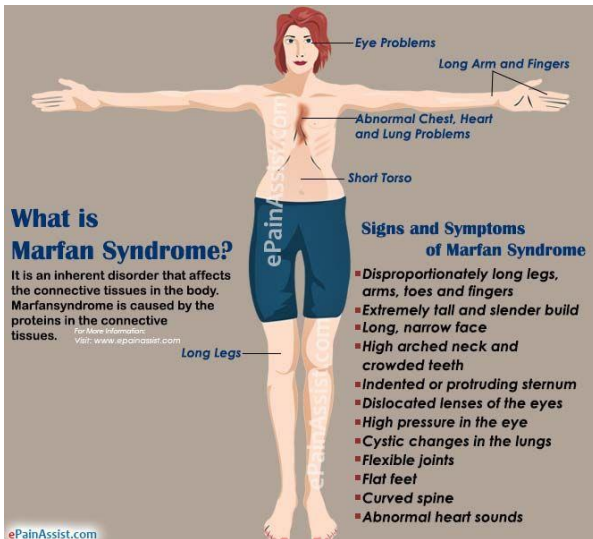
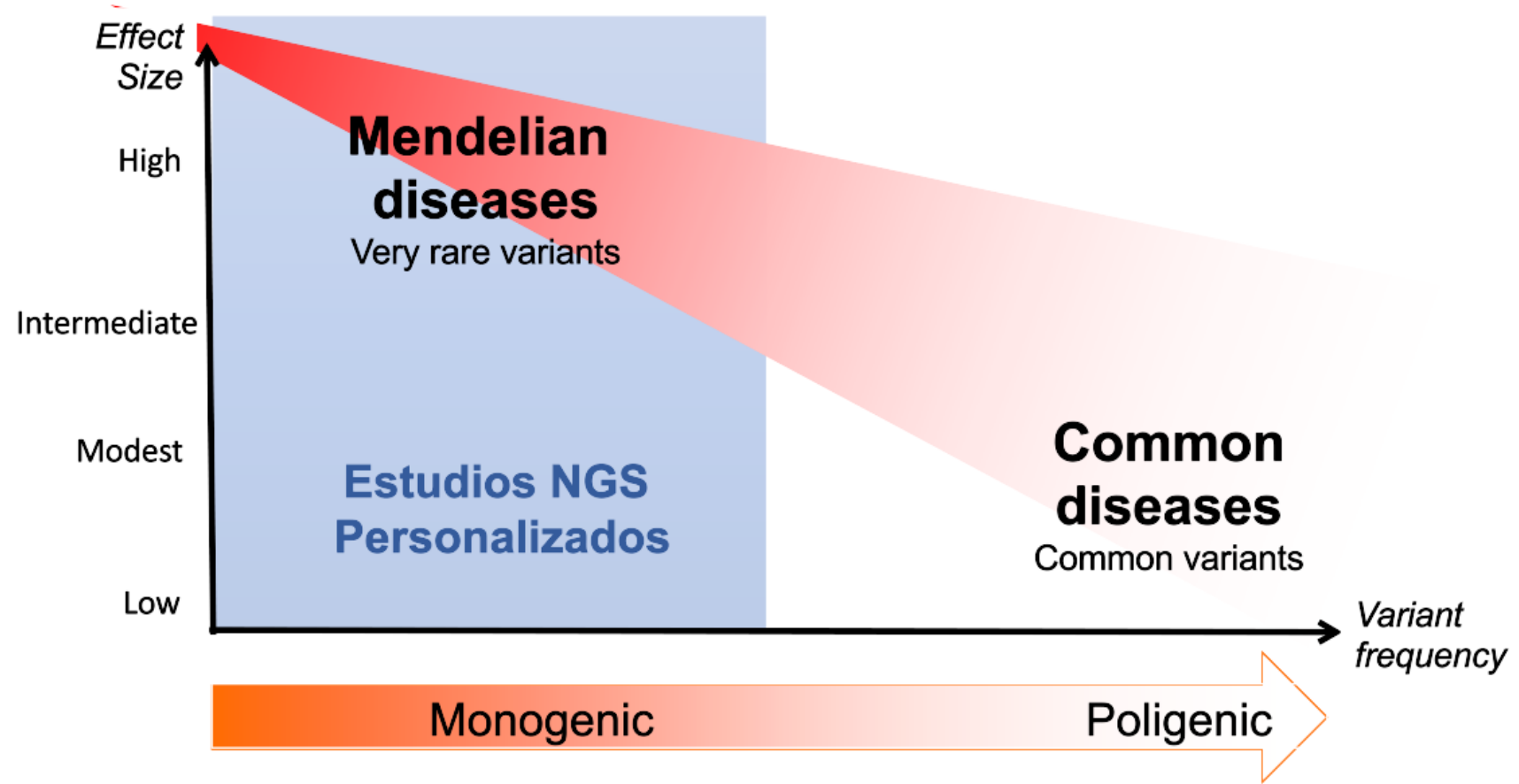
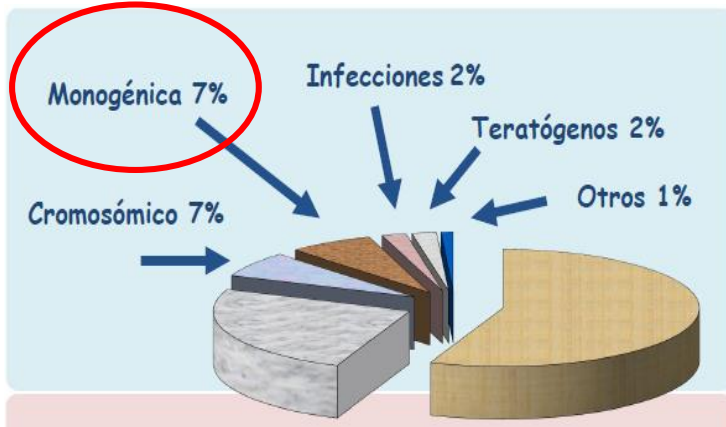
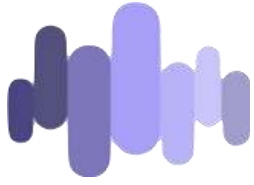
CARIOTIPO	%
Cariotipo Anormal	11,7
Cariotipo Normal	19,1
Cariotipo No realizado	69,2

FENOTIPO	%
RM/DI	42,6
MCA + RM/DI	13,8
MCA	10,6
TEA/TGD	11,7
Retraso del crecimiento+Talla baja	10,0
Epilepsia + RM/DI	6,4
Otros	3,0
Sin datos	3,0

## Microarray Cromosómico DETECTADOS

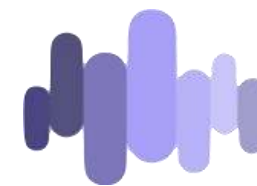


# Anomalías Monogénicas

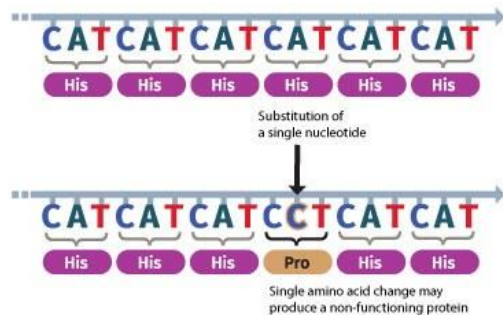




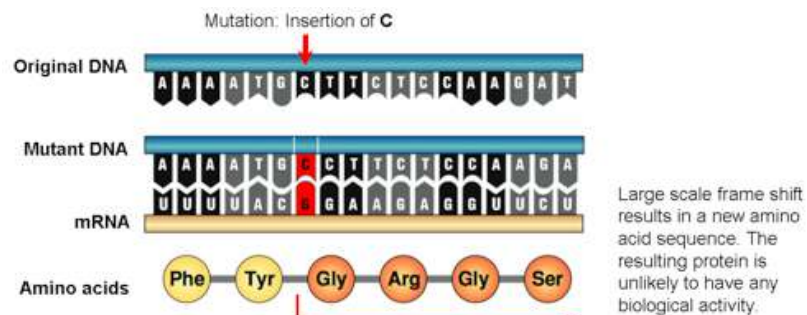
# Metodologías disponibles



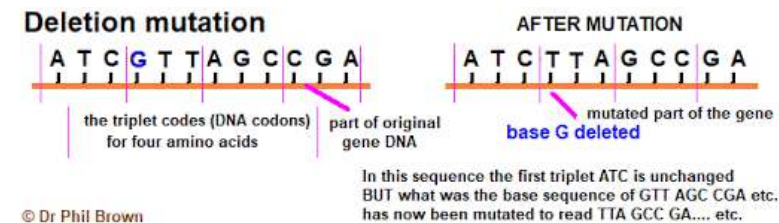
## SNVs



## Inserción

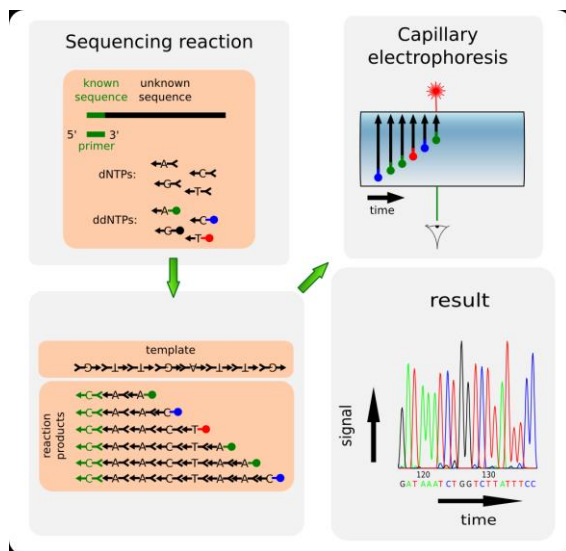


## Delección

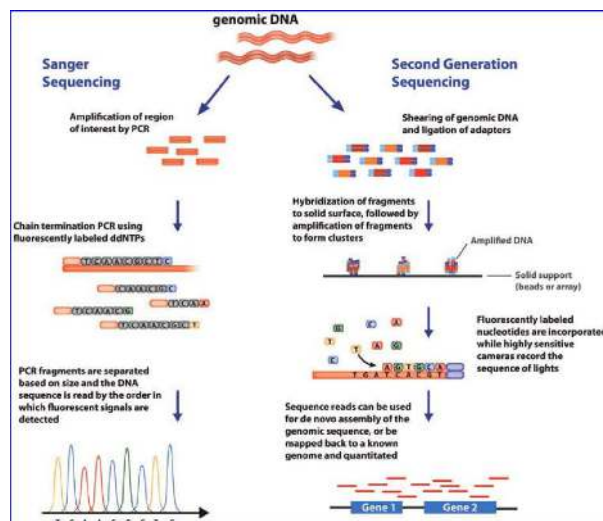


© Dr Phil Brown

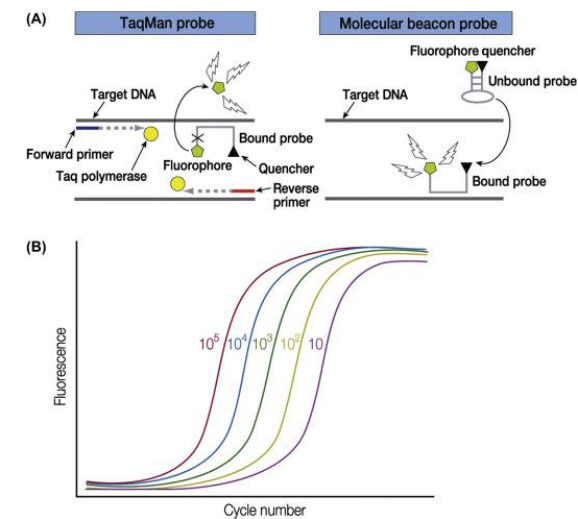
## Sanger



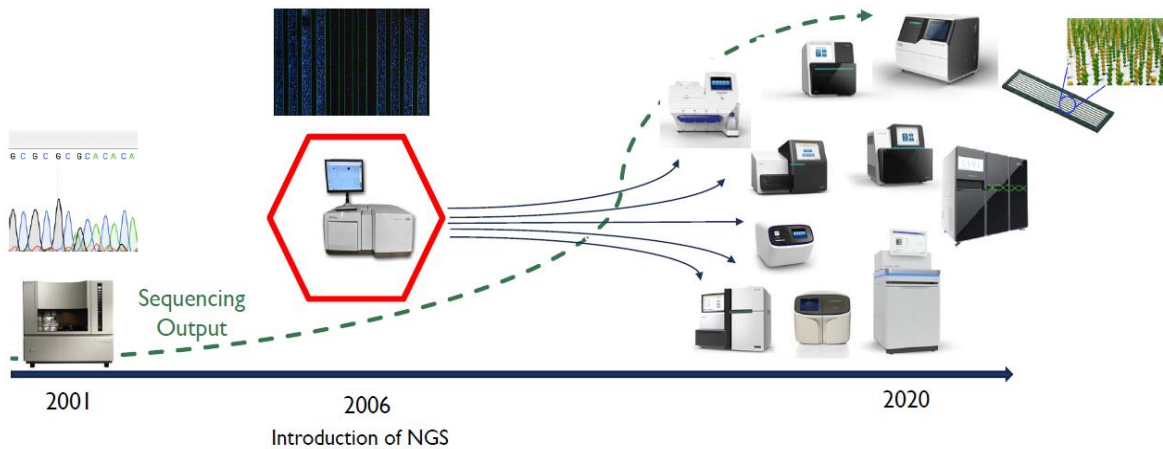
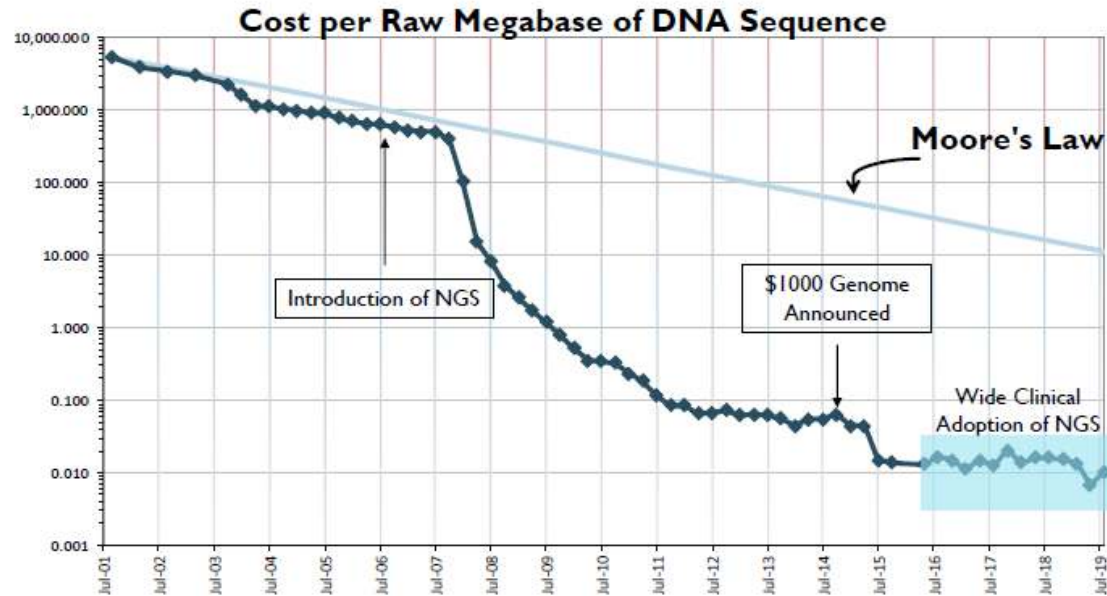
## NGS



## Real-Time PCR



# Adopción y expansión de NGS



## Exome sequencing has higher diagnostic yield compared to simulated disease-specific panels in children with suspected monogenic disorders

Oliver James Dillon<sup>1,2</sup> · Sebastian Lunke<sup>1</sup> · Zornitza Stark<sup>1,2</sup> · Alison Young<sup>1</sup> · Natalie Thorne<sup>3</sup> · Melbourne Genomics Health Alliance · Clara Gall<sup>1,2</sup> · Susan M. White<sup>1,2</sup> · Tiong Yang Tan<sup>1,2</sup>

Received: 1 September 2017 / Revised: 11 December 2017 / Accepted: 11 January 2018 / Published online: 28 February 2018  
 © European Society of Human Genetics 2018

### Abstract

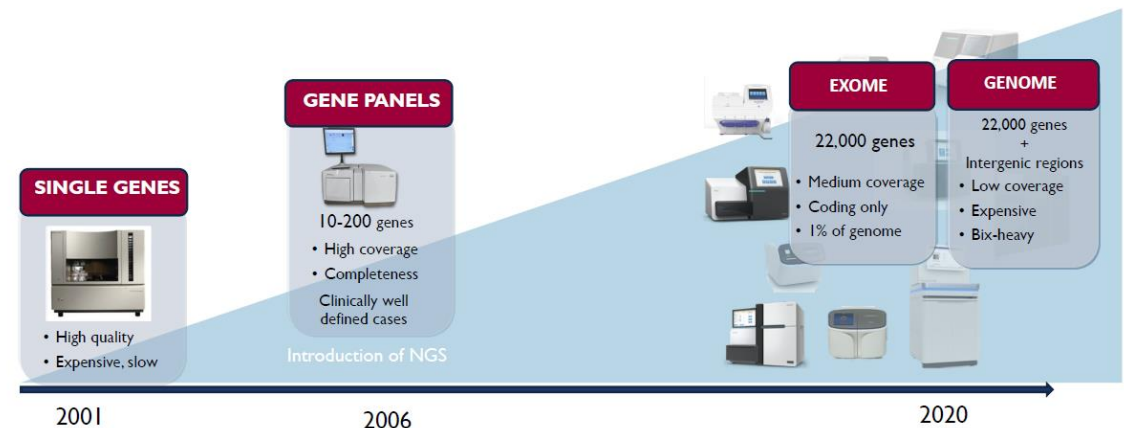
As test costs decline, whole-exome sequencing (WES) has become the primary alternative to gene-panel testing for patients with suspected monogenic disorders. We compared the diagnostic yield of WES with simulated application

© American College of Medical Genetics and Genomics

ORIGINAL RESEARCH ARTICLE | Genetics in Medicine

## Clinical whole-exome sequencing for the diagnosis of rare disorders with congenital anomalies and/or intellectual disability: substantial interest of prospective annual reanalysis

Sophie Nambot, MD<sup>1,2,3,4</sup>, Julien Thevenon, MD, PhD<sup>1,3,4</sup>, Paul Kuentz, MD, PhD<sup>2,3,4</sup>, Yannis Duffourd, MSc<sup>3,4</sup>, Emilie Tisserant, PhD<sup>3,4</sup>, Ange-Line Bruel, PhD<sup>3,4</sup>, Anne-Laure Mosca-Boiron, MD<sup>2,3,4</sup>, Alice Masurel-Paulet, MD<sup>1,3</sup>, Daphné Lehalle, MD<sup>1</sup>, Nolwenn Jean-Marçais, MD<sup>1,3</sup>, Mathilde Lefebvre, MD<sup>1,2</sup>, Pierre Vabres, MD, PhD<sup>3,4</sup>, Salima El Chehadeh-Djebbar, MD<sup>1</sup>, Christophe Philippe, MD, PhD<sup>2,4</sup>, Frederic Tran Mau-Them, MD<sup>2,4</sup>, Judith St-Onge, DEC<sup>2,4</sup>, Thibaud Jouan, BSc<sup>2,3,4</sup>, Martin Chevarin, HNC<sup>2,3,4</sup>, Charlotte Poë, BSc<sup>2,3,4</sup>, Virginie Carmignac, PhD<sup>4</sup>, Antonio Vitobello, PhD<sup>2,3,4</sup>, Patrick Callier, MD, PhD<sup>2,3,4</sup>, Jean-Baptiste Rivière, PhD<sup>2,3,4</sup>, Laurence Faivre, MD, PhD<sup>1,3,4</sup>, Christel Thauvin-Robinet, MD, PhD<sup>1,2,3,4</sup> and Orphanomix Physicians' Group<sup>8</sup>





# Soluciones de Héritas para Exoma clínico

1.

focus

▪ HÉRITAS EXOMA CLÍNICO DIRIGIDO ▪

focus<sup>3</sup>

▪ HÉRITAS EXOMA CLÍNICO TRIO ▪

2.

focus Mito

▪ HÉRITAS EXOMA CLÍNICO DIRIGIDO ▪

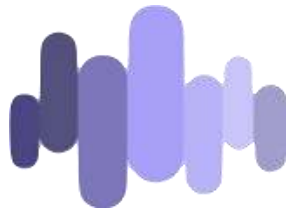
3.

focus Bundle

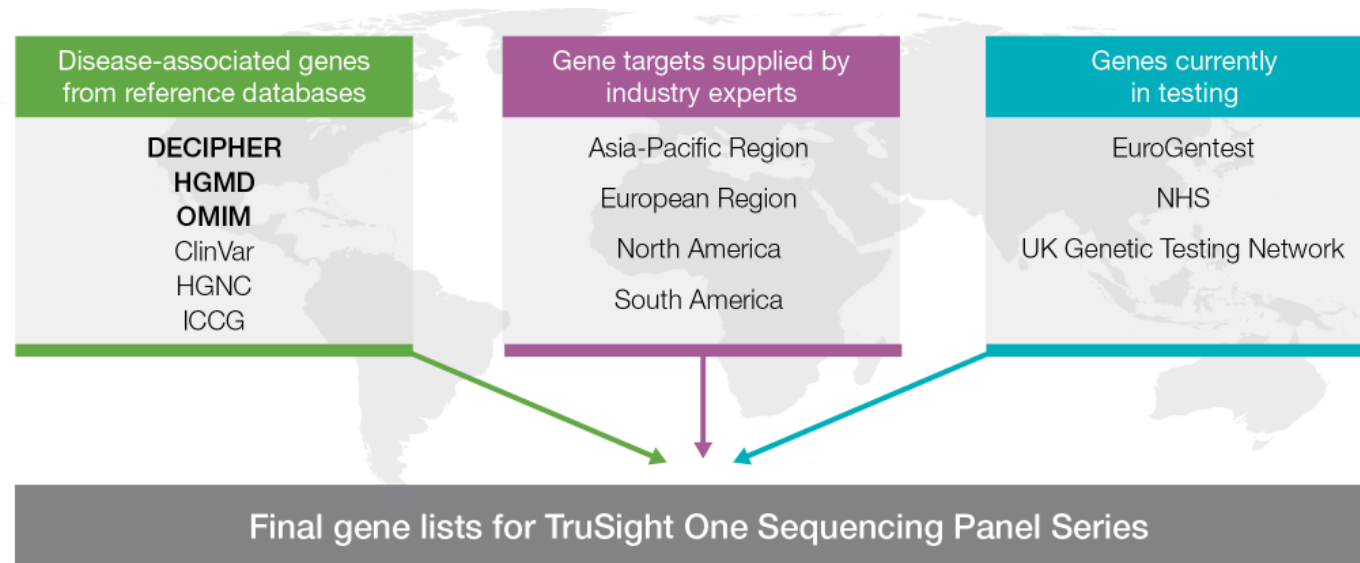
▪ HÉRITAS EXOMA CLÍNICO DIRIGIDO ▪

Héritas  
Medicina de precisión  
GIGIG • INDEAR

+ varsomeclinical  
CE-IVD Certification



# The TruSight One Expanded Sequencing Panel



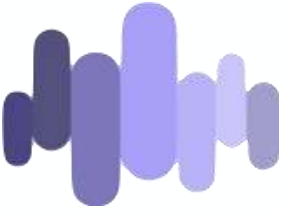
## Exoma clínico

Solo aquellos genes relevantes (o potencialmente) clínicamente.

**6704 genes  
(86.000 exones)**

Table 1: TruSight One Sequencing Panel Specifications

Parameter	TruSight One	TruSight One Expanded
Cumulative Target Region Size		16.5 Mb
No. of Target Genes		6704
No. of Target Exons		~86,000
Probe Size		80-mer
No. of Probes		183,809
Minimum Coverage <sup>a</sup>		> 20
Average Coverage		> 100
a. 95% of target regions typical possible with fewer samples per run)		(higher percent coverage)



# Analogía del iceberg





# Héritas

Medicina de precisión