

GENÉTICA DE LOS TRASTORNOS DEL NEURODESARROLLO. ASPECTOS PRÁCTICOS

CLAUDIA ARBERAS

Sección Genética Médica, Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez, Buenos Aires, Argentina

Resumen Los trastornos del neurodesarrollo (TND) constituyen un grupo relevante de enfermedades, con base biológica y etiología total o parcialmente genética. El reconocimiento de los factores causales constituye un reto cuyos resultados se han perfeccionado a lo largo de las últimas décadas, hasta obtener un rédito diagnóstico cada vez mayor. La implementación de estos avances tecnológicos solo puede lograrse mediante la conformación de equipos de trabajo interdisciplinarios, que siguiendo un proceso ordenado, logran un diagnóstico de presunción, que luego es certificado mediante las técnicas que, para cada uno de los casos, resulta más redituable en calidad y costo. En este trabajo, enumeramos estos procedimientos a partir de diferentes escenarios que ponen de relieve el extenso menú de posibilidades y la necesidad de administrar los mismos de un modo racional, sobre bases científicas debidamente fundadas.

Palabras clave neurodesarrollo, autismo, discapacidad intelectual, retraso global del desarrollo, estudios genéticos

Abstract *Genetics of neurodevelopmental disorders. Practical aspects.* Neurodevelopmental disorders (NDD) constitute a relevant group of pathologies, of childhood, with a biological basis and totally or partially genetic etiology. The recognition of the causal factors constitutes a challenge that has been perfected over the last decades, until obtaining an increasing diagnostic yield. The implementation of these technological advances can only be achieved through the formation of interdisciplinary work teams, which, following an orderly process, achieve a presumptive diagnosis, which is then certified using the techniques that for each of the cases are more profitable in terms of quality and cost. In this paper we list these procedures, based on different scenarios that highlight the extensive menu of possibilities and the need to manage them in a rational way, on well-founded scientific bases.

Key words: neurodevelopment, autism, intellectual disability, global developmental delay, genetic testing

Los trastornos del neurodesarrollo (TND) representan una de las causas más frecuentes de consulta en genética pediátrica y en neurología infantil. Según el Manual de Diagnóstico y Estadística de Desórdenes Mentales, en su 5ta. Edición (DSM5), estos son trastornos que afectan el desarrollo neurocognitivo, el aprendizaje de habilidades específicas, la atención, la memoria, el lenguaje verbal y no verbal, la conducta y la adaptación, se evidencian en consecuencia en la infancia y abarcan diferentes condiciones con distinta etiología y gravedad. El complejo desarrollo de todas estas habilidades ocurre durante la niñez y la infancia y por lo tanto es en esta etapa de la vida donde se efectúa su reconocimiento y diagnóstico¹.

Muchos de ellos tienen repercusión a lo largo de toda la vida, por lo que su abordaje precoz, diagnóstico y orientación terapéutica temprana, oportuna y adecuada constituyen los aspectos más importantes destinados a corregir y/o mitigar sus consecuencias.

Los factores genéticos, epigenéticos y ambientales juegan un rol relevante en su etiopatogenia y su reconocimiento posibilitará el adecuado asesoramiento genético familiar y la más ajustada toma de decisiones de vida, basada en datos certeros².

Un diagnóstico de precisión hará posible una estimación pronóstica y evolutiva, promoviendo la prevención de comorbilidades ya comunicadas, una mejor comprensión de las áreas de afectación y/o fortalezas, pudiendo brindar soporte a sus requerimientos más específicos.

Permite además el enrolamiento del propósito en protocolos de investigación terapéutica, que se encuentran experimentalmente en curso para diferentes condiciones

Dirección postal: Claudia Arberas, Sección Genética Médica, Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez, Gallo 1330, 1425 Buenos Aires, Argentina

e-mail: carberas@gmail.com

en distintos centros científicos, destinadas a corregir o mejorar estas condiciones.

Entre los trastornos incluidos en esta categoría, se encuentran: la discapacidad intelectual (DI), el retraso global del desarrollo (RGD) en menores de 5 años, los trastornos de la comunicación (TC), los trastornos del espectro autista (TEA), el trastorno por déficit de atención con hiperactividad (TDAH), los trastornos específicos del aprendizaje, los trastornos motores, los trastornos del lenguaje (TL) y otros³.

Frente a un diagnóstico de TND, un paciente puede mostrar síntomas de más de una de estas entidades asociadas, por ejemplo un niño con TEA puede presentar además RGD y/o DI, y/o TL, y/o TDAH, por citar algunas asociaciones de ocurrencia frecuente.

Las condiciones que habitualmente son consultadas al genetista son los TEA, las DI, y los RGD, con o sin cuadro clínico orientador de entidad asociada.

El genetista, frente a cada caso en particular, debe determinar un algoritmo certero de abordaje, que favorezca el arribo a este diagnóstico, con el mejor rédito posible, es decir reduciendo los costos en estudios médicos específicos, hasta llegar a su confirmación molecular, cuando ésta es posible.

El arribo a un resultado final, implica "un proceso", en el que está involucrado todo un equipo de profesionales, quienes desde sus diferentes miradas aportarán las herramientas más adecuadas para confirmar el diagnóstico final.

Proceso para abordar a un diagnóstico genético

Como ya dijimos, existe un protocolo de estudio, que permite ordenar los pasos a seguir con una lógica basada en principios científicos y prácticos.

El primer paso, es la confección de una historia clínica genética, que, si bien es semejante a la historia médica tradicional, cuenta con un interrogatorio muy exhaustivo de antecedentes pre y posnatales, incluyendo las edades de los progenitores al nacimiento del propósito, hábitos o estilos de vida de los mismos, estado de salud o enfermedad física y/o psíquica, logros académicos, como la eventual exposición a potenciales teratógenos.

En el apartado de antecedentes familiares se incluye una genealogía muy detallada de tres generaciones, con especial hincapié en consanguinidad, homonimia, etnia, antecedentes de salud física, mental y *performance* intelectual de los familiares de 1er, y 2do. grado, incluyendo desarrollo neuromadurativo, cuadros psiquiátricos, antecedentes de consumo de sustancias, suicidio, etc.

El examen físico incluirá una descripción pormenorizada de todos aquellos reparos anatómicos, que permitan definir una entidad específica. En aquellos parámetros

antropométricos (talla, peso, perímetro cefálico, distancia entre ojos, tamaño, forma y ubicación de los pabellones auriculares, etc.) se realizará una comparación con los valores de los mismos según edad y sexo, disponibles en tablas elaboradas para cada población⁴.

Culminada esta etapa, deberemos establecer un diagnóstico presuntivo (DP), y sus diagnósticos diferenciales, que serán la clave para definir cuales estudios deben encararse.

En esta etapa, conviene realizar una ficha completa con toda la información médica y estudios de laboratorio o imágenes realizadas.

En ella se incluirán los datos aportados por todos aquellos profesionales que hayan intervenido en la evaluación. Se suelen asignar a cada rasgo una denominación tabulada numéricamente, denominada ontología del fenotipo humano o su sigla del inglés *Human Phenotype Ontology* o HPO, de uso universal, que favorece a la unificación de parámetros tanto clínicos, dismorfológicos, funcionales, etc.⁵.

El HPO provee un vocabulario estandarizado de posibles anomalías encontradas en las enfermedades humanas. Este catálogo contiene más de 12 000 vocablos, más de 156 000 referencias de enfermedades hereditarias, y es sostenido por un consorcio internacional abocado a la integración de la semántica biomédica, con el objeto de mejorar las investigaciones científicas.

En situaciones ideales, cada servicio interviniente en la categorización de un paciente, aportará esta información bajo los códigos de HPO, propios de esta denominación.

Respecto a los estudios a efectuar, el menú de opciones, es cada vez más extenso y los resultados de las pruebas, alcanzan mejores niveles de precisión, conforme avanzamos en el conocimiento de las variantes en la población "normal o típica" y los datos patogénicos presentes en bases de datos como OMIM, ClinVar, ClinGen, UniProt, GnomAD, entre muchas otras de libre acceso o pagas.

Entre los estudios disponibles debemos enumerar:

a) Cariotipo de alta resolución (reconoce defecto numéricos y estructurales de autosomas y cromosomas sexuales, translocaciones equilibradas y desequilibradas, mosaicos cromosómicos), y toda suerte de defectos numéricos o estructurales con un nivel de resolución que alcanza a 5-10 MB⁶.

b) Hibridación fluorescente *in situ* (FISH), estudio que requiere el uso de sondas marcadas para regiones específicas de los cromosomas, que se solicitan cuando existe una alta sospecha de una entidad específica y solo permite distinguir esta región en particular, (ej.: síndromes como Prader-Willi /Angelman, Smith-Magenis, Miller-Dieker, Williams, Wolf, etc.), alcanza una definición de 30-250 Kb⁶.

Mientras que el FISH se realiza en núcleos en interfase o en metafase, existen desde hace unos años unas técnicas altamente fiables, que se realizan directamente

sobre ADN purificado, como la MLPA (amplificación mediante múltiples sondas ligando-dependientes) y la MS-MLPA, (para regiones metiladas), que pueden reconocer y cuantificar deleciones, duplicaciones y variantes del número de copias (CNV) en regiones concretas conocidas del genoma, que están directamente ligadas a una enfermedad en especial. Tal es el caso del síndrome de Prader-Willi /Angelman.

c) Análisis de *microarray* cromosómico (CMA/CGHa) constituye actualmente el primer estudio de elección para el reconocimiento de defectos cromosómicos en individuos con TEA, ID, RGD, con un índice de rédito diagnóstico cercano al 20%, pudiendo ser superior en aquellos pacientes que presentan dismorfias y/o epilepsia. Reconoce pérdida o ganancia de material genético, de una magnitud de 5-10 kb o superior, así como CNV (variantes en el número de copias genómicas) que serán clasificadas como benignas, patogénicas o de significado incierto (VUS). No es la técnica ideal para el reconocimiento de translocaciones balanceadas, inversiones, ni mosaicos muy bajos^{7, 8}.

d) Estudio molecular para fragilidad del X, que escapa, al igual que otros síndromes de ampliación progresiva de tripletes, a los estudios moleculares antes citados. Este estudio es de primera elección en individuos con clínica orientadora y antecedentes familiares de DI en varones, asociada a una herencia materna, usándose las técnicas de PCR y/o Southern Blot⁹.

e) Secuenciación exómica, se incluye en las denominadas técnicas de nueva generación (NGS), permite reconocer variantes patogénicas en las regiones ex micas del ADN, que representa cerca del 1.5 a 2% del material genético. Esta cubre una gran parte del ADN responsable de las afecciones mendelianas, por lo tanto se le asigna un número de ingreso en el OMIM¹⁰. No es útil para las condiciones producidas por expansión de tripletes.

Seguindo las consignas internacionales de buenas prácticas, es necesario el estudio del propósito y de ambos padres, a fin de poder categorizar los hallazgos de un modo correcto. Siempre los hallazgos se certifican mediante el método de Sanger, que puede, en casos de entidades producidas por un único gen, ser el método de elección, siendo certero y de bajo costo. Esta técnica se usa habitualmente en los progenitores, a fin de proveer el asesoramiento genético familiar pertinente¹⁰.

Basado en el estudio de exomas, podremos utilizar también una selección de genes, o paneles, que engloba todos aquellos genes reconocidos en la actualidad, potencialmente responsables de un cuadro clínico específico (Ej.: epilepsia, DI, TEA, genodermatosis, retinopatías, rasopatías, displasias esqueléticas, errores congénitos del metabolismo, etc.).

En el estudio mediante paneles, no se puede descartar variantes en regiones con baja cobertura o en otros genes potencialmente asociados a la enfermedad, que no est n

incluidos en el panel elegido, o que aún no son conocidos. Tampoco descarta la presencia de grandes deleciones o duplicaciones o variantes en regiones promotoras o intrónicas alejadas de los exones, así como mutaciones en mosaico de bajo porcentaje.

Por último, debe citarse el genoma completo, técnica de NGS, que cubre la totalidad del material genético, tanto las regiones ex micas, como las no ex micas, cuyo procesamiento permite reconocer genes nuevos y variantes en promotores y regiones regulatorias e intrónicas, entre otras¹⁰.

En el proceso de análisis es de buena práctica que los profesionales del laboratorio refieran las variantes encontradas inicialmente, con los médicos actuantes. Muchas veces estos procesos intermedios, previos a la elaboración del diagnóstico final, suelen ordenar la búsqueda e incluso ponderar los hallazgos de un modo más ajustado a la realidad. Incluso es posible que, frente a ciertos resultados, se revisen los signos clínicos preponderantes que fueron usados en la elaboración del DP, o se incorporen otros estudios que permitan redefinir el diagnóstico de ingreso.

En cualquier caso y aún mediando las mejores condiciones, en un porcentaje de pacientes queda sin identificar su etiología precisa.

Es conveniente, entonces que, de antemano, se explique a los padres esta perspectiva, con el objeto de evitar falsas expectativas. En estos casos deberemos informar al estudio como "No informativo".

Aún cuando no lleguemos a un diagnóstico preciso, el asesoramiento genético familiar puede hacerse siguiendo los lineamientos propios de las evidencias de riesgos empíricos que existen en muchos grupos de entidades.

Describiremos algunos ejemplos prácticos que pueden ayudar a comprender las diferentes situaciones.

Se describen distintos escenarios, donde la resolución diagnóstica pudo lograrse debido a la sagacidad en el diagnóstico presuntivo y la adecuada selección de pruebas biomédicas específicas, siempre contando con un laboratorio dedicado y altamente profesional.

Caso 1: Joven de 18 años, derivado por un psiquiatra, con trastornos graves de conducta, ataques de ira e impulsividad en desproporción al desencadenante. Los padres refirieron que no había antecedentes semejantes en la familia. El desarrollo neuromadurativo en la infancia fue un poco más lento, con dificultades en el aprendizaje, superadas gracias a ayudas oportunas que se indicaron. Al examen: joven con talla alta (+3DS), por encima del objetivo genético. Sin dismorfias, ni malformaciones, a excepción de una limitación en la prono-supinación de codos por sinostosis radio-cubital.

HP: 00002974. 0100710. 0001328.

Diagnóstico presuntivo: Síndrome de 47, XYY¹¹.

Se solicitó cariotipo convencional con bandeado G, que reveló dicha alteración cromosómica.

Caso 2: Niño de 4 años, con cardiopatía congénita (Tetralogía de Fallot), convulsiones neonatales (registro de hipocalcemia), déficit inmunológico, retraso global del desarrollo, macroplaquetas. Sin antecedentes de consanguinidad, u otros de relevancia.

Al examen físico se detectó retraso de medro, perímetro cefálico en -2DS, facies dismórficas, orejas en asa, bajas y rotadas.

HP: 0001636, 0007334, 0002901, 0002715, 0001263, 0001902, 0008848, 0000252, 0040080, 0000369,

Diagnóstico presuntivo: Síndrome de Di George¹².

Se solicitó cariotipo de alta resolución (46,XY Normal) y FISH con sonda para el 22q11.21.

Resultado: Deleción de 2 Mb en la región crítica para el síndrome de Di George 22q.11.

El estudio parental indicó que se trataba de una condición *de novo*.

Caso 3: Niño recién nacido internada en Terapia neonatal, con atresia de coanas, paladar hendido, microcefalia, coloboma de iris bilateral, cardiopatía congénita (coartación aórtica), posteriormente se detecta RGD.

HP: 0011820, 0000175, 0000252, 0000612, 0001627, 0001680, 0001263.

Diagnóstico presuntivo: Síndrome de Charge¹³.

Se solicitó cariotipo de alta resolución: 46,XY, normal. MLPA a fin de documentar la microdeleción de la región putativa 7q21¹¹.

El estudio parental fue normal. Asumiendo la misma como *de novo*.

En este caso, el estudio mediante MLPA resultó positivo; pero si hubiese sido negativo, hubiésemos tenido que efectuar un estudio de NGS (exoma), para determinar el defecto génico subyacente (variantes patogénicas en los genes: *CHD7/SEMA3E*)

Caso 5: Niña de 4 años derivada por RGD, grave retraso en la adquisición del lenguaje y pruebas a los 3 años (ADOS2 + ADIR) compatibles con el diagnóstico de TEA.

Examen físico que determinó dolicocefalia, cejas gruesas, ptosis palpebral, epicantus, punta nasal bulbosa, prognatismo, orejas en asa, sordera, uñas en ortijos displásicas.

HP: 0000268, 0000574, 0000286, 0000455, 0000303, 0040080, 0000365, 0010624.

Diagnóstico presuntivo: Síndrome de Phelan-McDermid¹⁴.

Estudio Solicitado: CGH *array*, que evidenció una microdeleción 22q13.33, *de novo*.

En algunos casos cuando este hallazgo es negativo, se propone efectuar un estudio de exoma, a fin de evidenciar variantes patogénicas del *SHANK3*.

Caso 5: Niño de 3 años consultó con RGD, DI y dismorfias faciales, cardiopatía congénita, epilepsia.

Al examen físico mostró: baja talla, microcefalia, braquicefalia, RGD, trastorno en el desarrollo del lenguaje, DI, dismorfias faciales (frente estrecha, puente nasal pro-

minente, alas nasales hipoplásicas, labios finos, dientes pequeños, hipodoncia, clinodactilia de los 5tos dedos, criptorquidia, sindactilias blandas en manos y pies). Defectos radiológicos en distintas partes del esqueleto.

No describieron antecedentes familiares, ni consanguinidad.

HP: 0003508, 0000248, 0001263, 0000750, 0000271, 0011218, 0000422, 0000430, 0000219, 0000685, 0000668, 0004209, 008689, 0001233, 0004691.

Diagnóstico presuntivo: Síndrome de Filippi OMIM 272440¹⁵.

Estudio Solicitado: Sanger para el gen *CKAP2L*, único gen descrito en esta entidad.

El estudio por Sanger evidenció dos variantes patogénicas diferentes (heterocigota compuesto) del gen *CKAP2L*. Se ratificó el DP de esta entidad que posee herencia autosómica recesiva, ambos padres presentaban una de cada variante encontrada en el niño en heterocigosis.

Caso 6: Niña de 18 meses de edad, con un cuadro de encefalopatía epiléptica de inicio precoz, de difícil control, con RGD, hipotonía, pobre conexión con el entorno, paraplejía espástica, lenguaje ausente. EEG: patrón hipsarrítmico.

Sin otros antecedentes de relevancia personales o familiares. Cariotipo de alta resolución: Normal. CGHa normal.

HP: 0200134, 0001263, 0008947, 0001257. 0001344, 0002353

Diagnóstico presuntivo: Encefalopatía epiléptica a categorizar.

Estudio solicitado: NGS panel de epilepsias.

Resultado: variante patogénica en el gen *STXBP1*, *de novo*^{16,17}.

Es sabido que muchos estudios genéticos resultan ser no informativos. En ocasiones no se detectan variantes, o si las hay estas son clasificadas como de significado incierto (VUS).

El estudio de segregación parental puede contribuir a esclarecer estos casos, o se deberá esperar contar con nuevas evidencias sobre las variantes reportadas para poder completar el asesoramiento genético.

Esta situación conviene ser previamente conversada con la familia.

Conclusiones

El esclarecimiento de la etiología de cualquier TND, sobre todo aquellos como los TEA, la DI, RGD, entre los que son más comúnmente derivados para su asesoramiento genético y familiar, representa un poderoso alivio emocional para los padres y familiares, que terminan la así llamada "odisea diagnóstica". Permite orientar estudios complementarios destinados a dar cobertura precoz a in-

tercurrencias o comorbilidades frecuentemente asociadas a la entidad y favorece su abordaje terapéutico¹⁸.

El rédito diagnóstico de estas pruebas genéticas (CGHa, ES, GS), se encuentran en plena expansión, así como la interpretación de las variantes encontradas, gracias al incremento de información en las numerosas bases de datos donde los nuevos hallazgos son informados y a la curaduría que se efectúan sobre los mismos¹⁹.

Debemos enfatizar la importancia que en el proceso de diagnóstico intervengan los miembros del equipo, médicos clínicos, genetistas y profesionales del laboratorio, quienes deben sostener un flujo constante de información que redunde en una interpretación correcta de los hallazgos.

Estos diagnósticos de certeza, abren nuevos caminos que permiten comprender la patogenia de múltiples enfermedades tanto comunes, como aquellas de baja ocurrencia²⁰. Ha posibilitado la incorporación y conocimiento de nuevas entidades, antes desconocidas y crea las bases necesarias a posibles intentos terapéuticos, sustentados sobre bases biológicas, que generan expectativas alentadoras de cara al futuro.

Conflicto de intereses: Ninguno para declarar

Bibliografía

1. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders (5th ed.). Washington, DC: American Psychiatric Association 2013: 31-947.
2. Kuehner JN, Bruggeman EC, Wen Z, et al. Epigenetic regulations in neuropsychiatric disorders. *Front Genet* 2019; 10: 268-78.
3. Ismail FY, Shapiro BK. What are neurodevelopmental disorders? *Curr Opin Neurol* 2019; 32: 611-6.
4. Ruggieri VL, Arberas CL. Autismo: Importancia de la dimorfología en la identificación de entidades médicas asociadas. *Rev Neurol* 2017; 64: S27-31.
5. The Human Phenotype Ontology. En: <http://www.human-phenotype-ontology.org>; consultado mayo 2022.
6. Halder A, Jain M. Cytogenetics to cytogenomics: transition from chromosome to DNA sequence. *Global J Human Genet & Gene Therapy* 2013; 1: 90-104.
7. Xu M, Ji Y, Zhang T, et al. Clinical application of chromosome microarray analysis in han chinese children with neurodevelopmental disorders. *Neurosci Bull* 2018; 34: 981-91.
8. Silva M, de Leeuw N, Mann K, et al. European guidelines for constitutional cytogenomic analysis. *Eur J Human Genet* 2019; 27: 1-16.
9. Westmark CJ. Fragile X and APP: a decade in review, a vision for the future. *Mol Neurobiol* 2019; 56: 3904-21
10. Savatt JM, Myers SM. Genetic testing in neurodevelopmental disorders. *Front Pediatr* 2021; 9: 526-779.
11. Berglund A, Stochholm K, Hojbjerg Gravholt C. Morbidity in 47, XYY syndrome: a nationwide epidemiological study of hospital diagnoses and medication use. *Genet Med* 2020; 22: 1542-51.
12. Sullivan KE. Chromosome 22q11.2 deletion syndrome and DiGeorge syndrome. *Inmunol Rev* 2019; 287: 186-201.
13. Hsu P, Ma A, Wilson M, et al. CHARGE syndrome: a review. *J Paediatr Child Health* 2014; 50: 504-11.
14. De Rubeis S, Siper PM, Durkin A, et al. Delineation of the genetic and clinical spectrum of Phelan-McDermid syndrome caused by SHANK3 point mutations. *Molecular Autism* 2018; 9: 31.
15. Karakaya T, Bilgic AE, Eris D, Baser B, Mermer S, Yildiz O. Identification of a novel pathogenic variant in CKAP2L and literature review in a child with Filippy syndrome and congenital talipes equinovarus. *Am J Med Genet A* 2021; 185: 2198-203.
16. Xian J, Parthasarathy S, Ruggiero S. Assessing the landscape of STXBP1 related disorders in 534 individuals. *Brain* 2022; 145: 1668-83.
17. Mullen SA, Carvill GL, Bellows S, et al. Copy number variants are frequent in genetic generalized epilepsy with intellectual disability. *Neurology* 2013; 81: 1507-14.
18. Thevenon J, Duffourd Y, Masurel-Paulet A, et al. Diagnostic odyssey in severe neurodevelopmental disorders: toward clinical whole-exome sequencing as a first-line diagnostic test. *Clin. Genet* 2016; 89: 700-7.
19. Ormond KE, Laurino MY, Barlow-Stewart K, et al. Genetic counseling globally: where are we now? *Am J. Med Genet* 2018; 178: 98-107.
20. Lingen M, Albers L, Borchers M, et al. Obtaining a genetic diagnosis in a child with disability: impact on parental quality of life. *Clin Genet* 2016; 89: 258-66.