

SÍNDROMES POR MICRODELECIÓN / MICRODUPLICACIÓN, DIAGNÓSTICO GENÉTICO-MOLECULAR POR MLPA

Actualizado en Octubre de 2023 por Blga. Alejandra Vera
Revisado por TM Ligia Valdivia y Aprobado y Dra. Marcela Lagos

Código del Examen : 2752

Nombres del Examen : MLPA para síndromes por microdelección-microduplicación
Estudio de 21 regiones cromosómicas por MLPA

Laboratorio	Días de Procesamiento	Plazo de Entrega de Resultados
Biología Molecular	Lunes a Viernes	10 días hábiles *4 días hábiles

*Plazo de entrega de resultados para muestras de líquido amniótico

Preparación del Paciente : No requiere

Muestra Requerida : Sangre total
Recolectar 1 tubo tapa lila con EDTA, volumen mínimo: 2 ml

- Líquido amniótico: Recolectar 5ml como mínimo en jeringa estéril.
- Este volumen solicitado contempla SÓLO la realización del estudio especificado en este sinfex.
 - Se recomienda tomar la muestra a partir de la semana 16 de gestación.
 - Si la cantidad de ADN extraído no es suficiente para cumplir con los requerimientos de la técnica, se solicitará más muestra.
 - Si la muestra presenta mucha contaminación con sangre materna, ésta será rechazada y no se procesará.

NOTA: Se requiere envío de copia de la orden médica

Muestra	T° Ambiente (20 - 25 °C)	Refrigerada (2 - 8 °C)	Congelada (-20°C)
Sangre Total con EDTA	3 días	1 mes	No aplica
Líquido Amniótico	1 día	*No aplica	No aplica

*Si no es posible envío en el día guardar refrigerado

Condiciones de Envío al Laboratorio : *Dentro de Santiago y en el día
Sangre Total con EDTA: Ambiente SI/ Refrigerada SI/ Congelada NO
Líquido Amniótico: Ambiente SI/ Refrigerada SI / Congelada NO

*Desde fuera de Santiago
Sangre Total con EDTA: Ambiente SI/ Refrigerada SÍ/ Congelada NO
Líquido Amniótico: Ambiente SI/ Refrigerada SI / Congelada NO

*Sólo si el tiempo de traslado cumple con la estabilidad de la muestra.

Método Utilizado : El estudio se realiza por MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification) con el kit comercial SALSA MLPA Probemix P245 (MRC Holland®) para Síndromes causados por Microdelecciones o Microduplicaciones. Este ensayo permite el análisis de variaciones en el número de copias en regiones críticas de distintos cromosomas donde se pueden presentar alteraciones que causan un fenotipo

clínico (TABLA 1).

- Intervalos de Referencia** : No aplica
- Valor de Alerta** : No aplica
- Parámetros de Desempeño^{3,4}** : Este MLPA para Síndromes por Microdelección o Microduplicación, es un ensayo para la detección de un distintivo grupo de microdelecciones y microduplicaciones recurrentes, con el objetivo de confirmar la causa y establecer un diagnóstico clínico, especialmente en casos de sospecha de síndromes asociados a retrasos en el desarrollo y/o discapacidad intelectual (ID).

TABLA 1: Síndromes detectados por el MLPA probemix P245[±]

Síndrome	Locus Genético	#OMIM
1p36 microdeletion syndrome	1p36	607872
2p16.1-p15 microdeletion syndrome	2p16.1-p15	612513
2q23.1 microdeletion/microduplication syndrome	2q23.1	156200
Glass syndrome	2q32-q33	612313
3q29 microdeletion syndrome	3q29	609425
3q29 microduplication syndrome	3q29	611936
Wolf-Hirschhorn syndrome	4p16.3	194190
Cri-du-Chat syndrome	5p15	123450
Sotos syndrome	5q35.3	117550
Williams-Beuren syndrome	7q11.23	194050
Williams-Beuren duplication syndrome	7q11.23	609757
Langer-Giedion syndrome	8q24.11-q24.13	150230
9q22.3 microdeletion syndrome	9q22.3	-
DiGeorge syndrome-2	10p13-p14	601362
Prader-Willi syndrome	15q11.2	176270
Angelman syndrome	15q11.2	105830
Witteveen-Kolk* / 15q24 microdeletion syndrome	15q24	613406
Miller-Dieker syndrome	17p13.3	247200
Lissencephaly-1	17p13.3	607432
Smith-Magenis syndrome	17p11.2	182290
Potocki-Lupski syndrome	17p11.2	610883
<i>NF1</i> microdeletion syndrome**	17q11.2	613675
Koolen-de Vries syndrome	17q21.31	610443
17q21.31 microduplication syndrome	17q21.31	613533
DiGeorge syndrome	22q11.21	188400
22q11.2 microduplication syndrome	22q11.2	608363
Distal 22q11.2 deletion syndrome	22q11.2	611867
Phelan-McDermid syndrome	22q13	606232
Rett syndrome	Xq28	312750
<i>MECP2</i> duplication syndrome	Xq28	300260

*Este probemix tiene un número limitado de sondas por cada región crítica cromosómica, por lo tanto no detectará todas las alteraciones posibles causantes de los síndromes incluidos en esta tabla.

*el gen *SIN3A*, que ha sido descrito como crítico en el síndrome Witteveen-Kolk, no está cubierto por las sondas en este Probemix.

**aproximadamente el 5% de los pacientes con neurofibromatosis tipo 1 presentan esta microdelección heterocigota de 1.4 Mb que incluye el gen *NF1* (ref. GeneReviews® [Internet]-PubMed).

Información Clínica^{3,4}

: Aproximadamente 1-3% de la población está afectada por algún tipo de discapacidad intelectual (ID) y/o retraso en el desarrollo, los que en algunos casos son el resultado de una alteración en el número de copias (ganancia o pérdida) de una región subcromosómica específica que contiene genes de funcionamiento crítico. Este tipo de fenotipos clínicos son de los más difíciles de diagnosticar y se denominan síndromes por microdelección y microduplicación (*microdeletions and microduplication syndromes; MMSs*). Estos se definen como un grupo de desórdenes reconocibles clínicamente y caracterizados por una delección o duplicación pequeña (menor a 5Mb) de un segmento cromosómico crítico, alteración que puede abarcar varios genes. El fenotipo resultante está determinado por la haploinsuficiencia o trisomía de los genes que estén involucrados en la alteración de la región crítica cromosómica. Síndromes clínicos para los que se ha descrito una clara asociación entre genes alterados y fenotipo, o para los que hay una fuerte sospecha de asociación, incluyen Síndrome de DiGeorge (microdelección de 22q11), Síndrome de Williams-Beuren (microdelección de 7q11), Neurofibromatosis tipo 1 (microdelección de 17q11), Síndrome de Smith-Magenis (microdelección de 17p), entre otros. Las alteraciones genéticas de tipo microdelecciones /microduplicaciones, no son detectables por la citogenética con la resolución de bandas actual en un cariotipo de alta resolución o de rutina (>5Mb), por lo tanto para el diagnóstico de dichas condiciones se requiere de técnicas moleculares como FISH (*Fluorescence In Situ Hybridisation*), MLPA (*Multiplex ligation-dependent probe amplification*) o aCGH (*array Comparative Genomic Hybridisation*).

Limitaciones de la técnica

El MLPA para Síndromes causados por microdelecciones /microduplicaciones puede servir como una primera o segunda opción de screening cuando se sospecha de algún fenotipo clínico relacionado a este tipo de alteraciones, debido a que es una técnica de menor precio y que toma menos tiempo en entregar un resultado. Sin embargo tiene varias limitaciones a tener en cuenta:

- Solo cubre un número limitado de regiones en algunos loci cromosómicos, por lo tanto no detectará todas las posibles causas de los síndromes en la Tabla 1. Consecuentemente, la tasa de detección variará de acuerdo a que tan heterogéneo sea el desorden que se estudie.
- Esta metodología no detecta mosaicismo ni alteraciones cromosómicas balanceadas.
- Alteraciones poco frecuentes a nivel de secuencia de DNA como SNPs raros, variantes patogénicas puntuales o indels, no son detectados por ésta metodología. Además este tipo de variantes en el DNA puede interferir en la unión de las sondas del ensayo al DNA del paciente, resultado en falsos positivos o falsos negativos. Por esto, todos los resultados deben ser interpretados bajo un contexto clínico general.
- En el caso de observarse una alteración, no es posible determinar los puntos de quiebre de ésta.
- El MLPA no puede detectar alteraciones fuera de las regiones blanco de las sondas que éste incluye, tampoco detectará translocaciones o inversiones cromosómicas neutrales en número de copias.

Por lo tanto, un resultado negativo de este ensayo de MLPA, no permite excluir la condición clínica bajo estudio, ya que si la sospecha clínica persiste y la alteración es indetectable con este ensayo se requerirá de otro alternativo como aCGH, FISH u otro.

Sistema de Información de Exámenes, SINFEX

Interpretación de resultados:

La interpretación del resultado dependerá del tipo de alteración que se observe.

Factores Interferentes:

Sangre tomada con Heparina inhibe la PCR.

Referencias

1. Richardson A. *et al* (2006) Blood storage at 4 °C. Factors involved in DNA yield and quality. *J.Lab.Clin. Med*; 147 (6): 290-294.
2. Sotoudeh M. *et al* (2021) Pre-analytical practices in the molecular diagnostic test, a concise review. *Iran J Pathol*. 16(1):1-19.
3. Goldenberg P. (2018) An Update on Common Chromosome Microdeletion and Microduplication Syndromes. *Pediatr Ann.*;47(5):e198-e203.
4. Weise A. *et al* (2012) Microdeletion and Microduplication Syndromes. *J Histochem Cytochem* 60:346-358
5. Inserto del Kit SALSA® MLPA® Probemix P245 Microdeletion Syndromes-1A. MRC Holland®

