



Ignacio Constanso Conde.

Actualización de un estudio coste-efectividad de arrays de hibridación genómica comparada para el diagnóstico de retraso mental y/o del desarrollo

¹Constanso Conde I, ²Rodríguez Pedreira MM, ³Mosquera Rey A

¹Laboratorio de Atención Continuada. Complejo Hospitalario Universitario A Coruña, Galicia.

²Unidad de Genética. Complejo Hospitalario Universitario A Coruña, Galicia.

³Unidad de Genética. Complejo Hospitalario Universitario A Coruña, Galicia.

Dirección para correspondencia: kennycons@hotmail.com

Resumen

Introducción: El retraso mental y del desarrollo es una entidad patológica con una prevalencia del 1-3% en la población general. Llegar a un diagnóstico etiológico es importante. Actualmente, solo se detecta la etiología en el 50-80% de los casos. La estrategia diagnóstica tradicional comprende un cariotipo convencional seguido de FISH subtelo mérico. En la última década se han desarrollado los arrays de hibridación genómica comparada (aCGH). Esta tecnología ha sido llamada a sustituir la citogenética convencional para lo cual es importante demostrar que es coste-efectiva.

Objetivo: Demostrar que la tecnología aCGH es coste-efectiva frente a la citogenética convencional en el cribado del retraso mental y del desarrollo.

Material y métodos: Tomando como referencia un artículo publicado en el 2007, se realiza búsqueda bibliográfica en busca de una actualización de variables importantes que afectan al estudio coste-efectividad. Estas variables son los costes de material (aCGH, scanners...) y las probabilidades dentro del algoritmo diagnóstico usado.

Resultados: Desde el año 2007 los costes asociados a la tecnología aCGH no han cambiado significativamente. Ya el estudio del 2007 demostró ser coste-efectivo, pero con una nueva estrategia denominada *patient to patient* y la actualización de las probabilidades dentro del algoritmo diagnóstico se demostró que la tecnología aCGH era dominante (más barata y efectiva) frente a la citogenética convencional.

Conclusión: Las Unidades de Genética deberían valorar la implantación de la tecnología aCGH para el cribado del retraso mental y del desarrollo ya que ha demostrado ser más efectiva y barata que la citogenética convencional.

Palabras clave: Coste-efectividad, Arrays, aCGH, Citogenética, Retraso mental.

Updating a cost-effectiveness study of comparative genomic hybridization arrays for the diagnosis of mental retardation and developmental delay

Abstract

Introduction: Mental retardation and developmental delay is a pathological entity with a prevalence of 1-3% in the general population. Reach an etiologic diagnosis is important. Currently, the etiology is detected only in 50-80% of cases. The traditional diagnostic strategy comprises a conventional karyotype followed subtelomeric FISH. In the last decade arrays of comparative genomic hybridization (aCGH) have been developed. This technology has been designed to replace conventional cytogenetics for which it is important to demonstrate that it is cost-effective.

Objective: Demonstrate that aCGH technology is cost-effective compared to conventional cytogenetic in the screening of mental retardation and developmental.

Material and methods: By reference to an article published in 2007, is performed literature search looking for an update on important variables that affect the cost-effectiveness study. These variables are the material costs (aCGH, scanners,...) and the probabilities used in the diagnostic algorithm.

Results: Since 2007, the costs associated with aCGH technology have not changed significantly. Since the 2007 study proved to be cost-effective, but with a new strategy called "patient to patient" and the update of the probabilities in the diagnostic algorithm was demonstrated that aCGH technology was dominant (cheaper and more effective) versus cytogenetics conventional.

Conclusion: Genetic Units should evaluate the implementation of aCGH technology for screening of mental retardation and development as it has proven to be more effective and cheaper than conventional cytogenetics.

Key words: Cost effectiveness, Arrays, aCGH, Cytogenetic, Mental Retardation.

Introducción. Retraso mental y retraso del desarrollo

Descripción y prevalencia

El retraso mental (Mental Retardation, MR) es una condición del individuo definida (según la OMS) por un cociente de inteligencia (IQ) menor de 70 y una función cognitiva significativamente limitada. Además se deben

tener limitadas las capacidades adaptativas en dos o más de las siguientes áreas: habilidades sociales, vida en la comunidad, comunicación, vida en el hogar, salud, autosuficiencia, trabajo y ocio. Para establecer la condición de MR se requieren test de inteligencia válidos y precisos, y por ello está limitado a niños mayores de 5 años en la mayoría de los casos. El MR está generalmente dividido en leve (IQ=50-70),

moderado (IQ=35-50) y severo (IQ=20-35); en los casos que el IQ es menor de 20 se define como profundo. Las personas con MR moderado o severo requieren ayuda de por vida y la mitad de las que tienen un MR leve están significativamente discapacitados a lo largo de su vida¹.

La prevalencia del MR en la población general se estima que está en torno al 1-3%^{2,3}, en donde la forma leve de MR tiene una frecuencia de siete a diez veces más que la forma moderada o grave⁴.

El trastorno general del desarrollo (DD, Developmental Delay) se caracteriza por retraso significativo en dos o más de las siguientes áreas: cognición, lenguaje, capacidades motoras, habilidades sociales/personales y vida diaria. Para ello, Siempre se ha de comparar al individuo con otro de la misma edad. El término DD está reservado a niños menores de cinco años, ya que a esa edad no es posible realizar un test de inteligencia para valorar su cociente intelectual. Así, un niño con DD no está destinado necesariamente a tener MR. Varias situaciones, como parálisis cerebral, desórdenes neuromusculares o efectos de un ambiente adverso pueden resultar en un retraso temprano del aprendizaje a pesar de que el niño pueda tener un test normal de inteligencia en el futuro. Como el MR, la prevalencia de DD en la población general se estima en un 3%⁵.

Además, tanto el MR como el DD pueden tener asociadas otras características, como retraso en el crecimiento, dismorfias y malformaciones congénitas múltiples.

Etiología

En la mayoría de los pacientes con MR/DD no se encuentra en su historia o en un examen físico hallazgos que

sugieran una causa de su patología. La etiología del MR/DD es compleja y en ella pueden intervenir factores ambientales, anomalías cromosómicas, desórdenes Mendelianos, metabólicos y neurológicos, presentándose bien por separado o combinadas. La etiología del MR/DD severo se identifica en el 50% de los casos, mientras que en el MR/DD leve solo en el 20% de los casos, aunque hay estudios que afirman que este 20% de diagnósticos encontrados es independiente de su severidad⁶⁻⁹. Es decir, en el 50-80% de los casos de MR/DD no se consigue determinar la etiología de la enfermedad.

En pacientes no seleccionados con MR/DD idiopático las anomalías cromosómicas son la causa aislada más común³. Las ratios de detección de estas anomalías cromosómicas van del 15-40% en los MR/DD graves, a ratios sustancialmente menores en los MR/DD leves^{9,10}. De estas anomalías genéticas, el 5% se hallan en las regiones subteloméricas de los cromosomas^{11,12}.

Además, hay una gran cantidad de datos que correlacionan las anomalías cromosómicas con fenotipos clínicos de MR/DD¹³.

Importancia de un diagnóstico etiológico precoz y correcto

En la rutina, pacientes con MR/DD idiopático son sometidos a un amplio espectro de pruebas diagnósticas, incluyendo un examen físico y dismorfológico, investigaciones metabólicas y neurológicas y test genéticos. La identificación precoz de una causa escondida de origen genético es de gran importancia para el paciente y la familia, así como para el personal sanitario.

Aunque el conocimiento de la etiología de MR/DD normalmente no permite un tratamiento, es de ayuda para el

manejo de la enfermedad, establecer un pronóstico a corto y largo plazo así como para la prevención de posibles complicaciones. Para los pacientes y su familia puede ayudar a la aceptación de la discapacidad y la conexión con grupos de ayuda. Está comprobado que un diagnóstico etiológico de la enfermedad proporciona un importante alivio emocional a los padres¹⁴.

Un diagnóstico precoz puede elucidar el riesgo de recurrencia para los padres en un contexto de consejo reproductivo, identificando al posible portador de la anomalía genética. Además facilita un posible diagnóstico prenatal en ausencia de malformaciones fetales visibles por ultrasonidos. Cuando una familia tiene un hijo con alguna discapacidad mental, muchas de ellas evitan tener más hijos a menos que haya un riesgo de recurrencia bajo o se tenga un diagnóstico prenatal preciso. Dependiendo de la etiología subyacente, el riesgo de recurrencia varía enormemente, abarcando del riesgo poblacional hasta un 50%, aunque hay casos que, según la etiología, el riesgo de recurrencia puede ser del 100%. Se ha estimado que, independientemente de la etiología subyacente, el riesgo de recurrencia es del 8%¹⁵.

Finalmente, reconocer la etiología eliminaría pruebas adicionales superfluas y que consumen gran cantidad de tiempo y recursos. El impacto sociosanitario es enorme porque, aparte del coste derivado por la patología directamente, más del 50% de pacientes nunca llegan a ser diagnosticados genéticamente y eso genera un número elevado de consultas y pruebas adicionales por parte de las familias¹⁶.

Diagnóstico del MR/DD. La citogenética convencional

Durante los últimos 50 años, desde que Tjio y Levan¹⁷ hablaron por vez pri-

mera de los 46 cromosomas humanos, se han hecho grandes esfuerzos para asociar anomalías genéticas con enfermedad genética. Inicialmente, los estudios cromosómicos se desarrollaron usando simples técnicas de tinción, las cuales solo permitían la detección de grupos enteros de cromosomas. Gracias a ellas, se descubrieron las trisomías con fenotipos muy específicos, como las trisomías 21, 13 y 18 (síndromes de Down, Patau y Edwards, respectivamente) y potenciaron el campo de la citogenética clínica para establecer el diagnóstico etiológico de los pacientes con MR/DD. En los 70, cuando las técnicas de G-banding estuvieron disponibles, la capacidad del cariotipo para detectar anomalías cromosómicas se incrementó. La técnica del G-bandeo permitió la identificación de la alternancia de bandas claras y sombreadas en cada cromosoma, la detección de aneuploidía (cromosomas extra o perdidos) y la identificación de anomalías cromosómicas estructurales microscópicas balanceadas y desbalanceadas, incluyendo deleciones, duplicaciones y traslocaciones. El ratio de detección de esta técnica en pacientes con MR/DD moderado o severo es del 3,7%⁵.

Así, el análisis del cariotipo de los cromosomas G-bandeados fue durante largo tiempo (casi hasta la actualidad) el estándar citogenético para la detección de anomalías cromosómicas en MR/DD.

No obstante, las limitaciones del cariotipo cromosómico convencional son:

- Lleva entre cuatro y diez días cultivar las células, visualizar los cromosomas y desarrollar el análisis.
- Requiere técnicos experimentados, lo cual incrementa el coste de personal y puede llevar a proble-

mas de organización en laboratorios pequeños.

- Su interpretación es dependiente del operador.
- La resolución de un cariotipo convencional está limitado a 5-10 Mb¹⁸ (incluso a 15 Mb cuando el patrón de bandas es confuso) dependiendo de:
 - La localización en el genoma.
 - La calidad en la preparación del cromosoma.
 - La habilidad y experiencia del citogenetista.
- En el cariotipo, las regiones subteloméricas (fuertemente asociadas a desórdenes MR/DD) están poco definidas y son difíciles de estudiar.

En el MR/DD idiopático las anomalías genómicas más pequeñas son de gran importancia clínica y esto trajo consigo una demanda de técnicas citogenéticas de mayor resolución. En los años 90, la introducción de técnicas como el FISH (Fluorescence in Situ Hybridization) representaron un gran avance para incrementar la resolución del cariotipo y permitir así la detección de anomalías cromosómicas submicroscópicas. Estas anomalías se dan en numerosos síndromes con microdeleciones (incluyendo regiones subteloméricas) con una alta frecuencia relativa en la población general (DiGeorge/velo-cardio-facial, Williams, Prader-Willi) y algunos síndromes con microduplicaciones (dup(17)(p11.2p11.2)).

En el FISH, sondas fluorescentes específicas de ADN son hibridadas al núcleo o a cromosomas metafásicos para detectar al microscopio de fluorescencia la presencia, el número y la locali-

zación de regiones cromosómicas submicroscópicas. Actualmente hay una gran cantidad de sondas FISH disponibles en el mercado para los desórdenes cromosómicos más comunes, y es el método más usado cuando el fenotipo clínico es sugestivo de un desorden particular¹⁹. No obstante, con estas técnicas, solo un número limitado de regiones específicas del genoma pueden ser investigadas al ser locus específicas, restringiendo su aplicación de rutina para las regiones críticas bien conocidas para determinados síndromes asociados a microdeleciones y microduplicaciones concretas²⁰.

Como muchos pacientes con MR/DD no tienen un fenotipo definido y el cariotipo es normal, el FISH convencional no es útil. La evidencia dice que muchas aberraciones causantes de MR/DD idiopático, en torno al 5%²¹⁻²³, se localizan en la región subtelomérica de los cromosomas. Un gran avance supuso el desarrollo de un test que medía cada telómero de un individuo por FISH (multi-telómero FISH) y tuvo una gran aceptación en los laboratorios diagnósticos²⁴.

Con el FISH subtelomérico, la potencia diagnóstica para MR/DD es de 2,5-3%^{25,26}, y en un largo metanálisis reciente, el ratio (usando cariotipo y/o FISH) varió entre 3,5% a 13% con un 9,5% como media²⁷.

A pesar de estos avances, el FISH y el FISH telomérico seguían estando limitados a regiones concretas, por lo que se intentó desarrollar otras técnicas que abarcaran regiones más amplias del genoma. Unas estaban basadas en el tecnología FISH (SKY, M-FISH y COBRa-FISH)²⁸ y otras en la amplificación de ADN, como el MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) y la PCR cuantitativa (Q-PCR)²⁹. No obstante, estas tecnolo-

gías no son prácticas en los test clínicos rutinarios para estudiar el genoma completo porque pierden resolución, aumentan costes y tiempos de análisis.

Microarrays de Hibridación Genómica Comparada

Para resolver las limitaciones que tenían las tecnologías FISH, m-FISH, MLPA o q-PCR, a principio de los años 90 se comenzó a desarrollar la tecnología llamada aCGH (array Comparative Genome Hybridisation, en español arrays de Hibridación Genómica Comparada). La tecnología aCGH tiene mayor resolución (figura 1) y un excelente rendimiento cuando se compara con la citogenética convencional (cariotipo o FISH)³⁰⁻³².

En la tecnología aCGH primero se extrae del paciente ADN genómico (de linfocitos de la sangre periférica, fibroblastos de la piel u otro tejido disponible) y se une a un fluorocromo (normalmente Cy3-unido a dCTPs). El ADN del paciente unido, junto con una cantidad igual de ADN control unido con otro fluorocromo (normalmente Cy5-unido a dCTPs), son cohibridados sobre unos fragmentos de ADN spoteados sobre el microarray³³. La

intensidad de los puntos es medida a 532 nm (Cy3) y a 635 nm (Cy5). Si la cantidad de Cy3 y Cy5 intensidades de fluorescencia es igual en un punto, esta región genómica del paciente se interpreta como normal/balanceada; si se detecta un incremento del ratio Cy3/Cy5 estaremos ante una duplicación en el ADN del paciente y una delección si es a la inversa (figura 2, a y b). Posteriormente se representan las intensidades de los fluorocromos frente a la posición cromosómica, detectando una delección o duplicación cuando tenemos puntos fuera de la media del gráfico: delección en la zona negativa (con círculo rojo en la figura 2c), y duplicación en la zona positiva. La resolución del aCGH está determinada por el tamaño y número de los clones unidos al array para detectar los cambios en el número de copias.

La tecnología CGH fue mencionada por vez primera por Kallioniemi et al. para estudiar ADN genómico en cáncer³⁴. La técnica se basaba en la diferente hibridación del ADN de células cancerígenas respecto al de células sanas, cada una con fluorocromos diferentes, sobre cromosomas metafásicos. El ratio de la intensidad de los dos fluorocromos reflejaban las anomalías genómicas entre ambos. Debido a

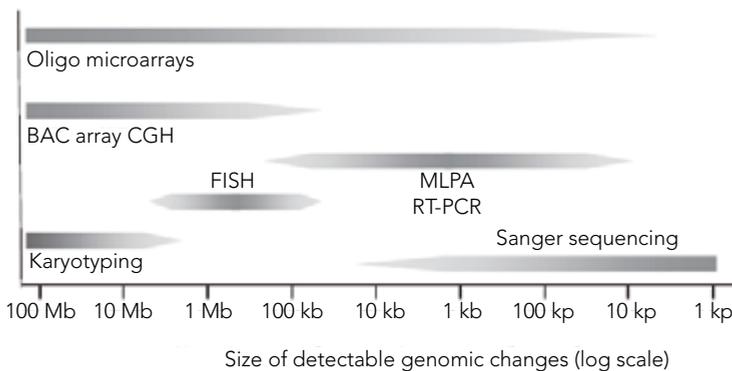


Figura 1. Varios métodos con diferentes resoluciones detectan diferentes tamaños de anomalías genéticas. Tomado de Shen et al.

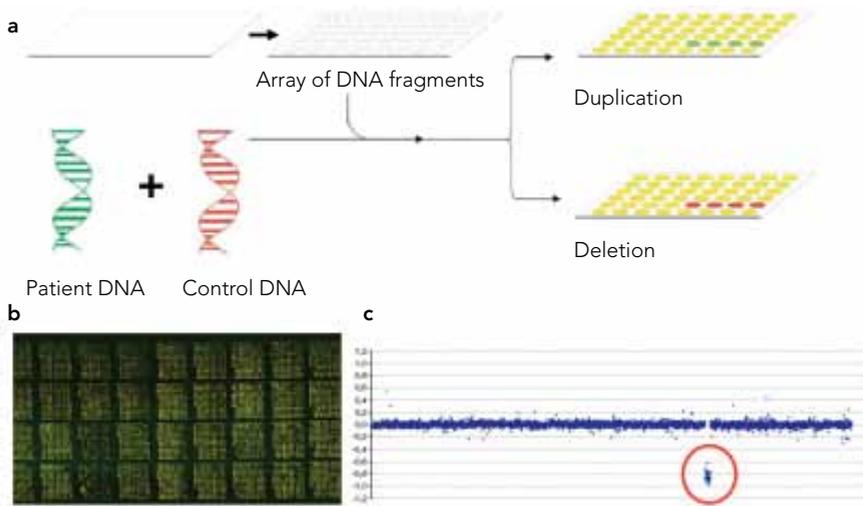


Figura 2. a: bases de la hibridación en un array CGH; b: vista de un zCGH; c: visualización de los datos en el software. Tomado de Ravel et al.

que esta técnica usa cromosomas metafásicos como sondas de hibridación se llamó CGH cromosómico. Aunque el CGH cromosómico ha demostrado su efectividad en detectar largos desequilibrios genómicos en el genoma canceroso, el poder de detección estaba limitado por la resolución del cromosoma metafásico.

El mayor avance en CGH vino en la última década. En lugar de hibridar sobre sondas genómicas procedentes del cromosoma metafásico, el nuevo esquema utilizaba ADN genómico clonado como sondas ya en formato de microarray. La resolución del nuevo microarray CGH, la cual estaba determinada por la densidad y el tamaño de las sondas, fue mejorada enormemente. El primer microarray CGH, llamado aCGH como tal, fue desarrollado en 1997 por Solinas-Toldo et al. con ADN clonado a partir de cósmidos y plásmidos³⁵. La tecnología aCGH-BAC (Bacterial Artificial Chromosome) era capaz de detectar tanto anomalías microscópicas como submicroscópicas

(de 1Mb) en una gran parte del genoma en un solo análisis. A lo largo de la última década se mejoró aún más esta técnica pasando de los aCGH-BAC de baja resolución y región específicos a los aCGH de oligonucleótidos de genoma completo de alta densidad. Las mejoras estaban centradas en incrementar la densidad de sondas y la región genómica así como la ratio señal-ruido. Comparadas con los BAC arrays, los arrays de oligonucleótidos tienen varias ventajas³⁶:

- Reproducibilidad: en oposición a los BAC arrays, en los cuales el contenido de las sondas (productos de PCR de un clon de BAC) varía de ensayo a ensayo, las secuencias de las sondas en los oligo-aCGH son uniformes y con gran densidad. Como consecuencia es más reproducible.
- Sensibilidad y especificidad: el espacio entre sondas es más pequeño y por ello tiene una densidad mucho mayor de sondas lo que lle-

va a una mejor detección de anomalías genómicas más pequeñas mejorando la sensibilidad. El hecho de que las sondas de oligonucleótidos se seleccionan a partir de genoma humano de referencia permite el uso de cualquier secuencia de interés como diana potencial, dando una especificidad que es imposible con los BAC arrays, en los que los clones pueden ser seleccionados solo de librerías existentes y necesitan ser validados para su localización física.

- Personalización: las sondas de oligonucleótidos son sintetizadas in situ sobre los arrays, permitiendo una fácil personalización de su contenido. Además, muchos fabricantes comerciales ofrecen un gran número de tipos de aCGH así como interfaces de PC, que permiten su uso de una manera fácil y rápida en un laboratorio clínico, mientras que en los BAC arrays es difícil actualizar toda la información a medida que se amplía el conocimiento en genética.
- Robustez y fiabilidad: a causa de un ratio mayor señal-ruido que provee una mayor confianza en el diagnóstico de aberraciones cromosómicas³⁷.

A continuación un breve resumen de las ventajas e inconveniente de los aCGH frente a la citogenética convencional:

- Ventajas:
 - Mayor resolución de los aCGH frente al cariotipo y el FISH.
 - En los aCGH se puede examinar el genoma completo en un solo análisis mientras que en la citología convencional solo se examinan regiones concretas del

genoma (FISH) o todo el genoma a muy baja resolución (cariotipo).

- Desventajas:
 - No puede detectar reordenamientos cromosómicos balanceados ni mutaciones puntuales.
 - No puede detectar disomías uniparenterales.
 - Es difícil detectar bajos niveles de mosaicismo.

Recomendaciones de las guías clínicas

Los aCGH han ido apareciendo a lo largo de los últimos años en las guías clínicas más prestigiosas para el manejo del MR/DD. Así, la American College of Medical Genetics (ACMG) publica en el año 2005³⁸ sus recomendaciones para el manejo de esta enfermedad. Básicamente recomienda realizar un cariotipo como primera prueba ante un MR/DD seguido de un FISH subtelomérico si el cariotipo es negativo. En el caso de un MR/DD sugestivo de un síndrome asociado a una microdelección/duplicación concreta, la prueba de elección sería un FISH. Ya en esta guía clínica habla de la posibilidad de usar el aCGH cuando todas las pruebas anteriores son negativas, aunque advierte de que es una tecnología todavía en fase de implantación.

También el grupo europeo de genética humana publica un artículo en el año 2007³⁹ dedicado a la implantación del aCGH en el algoritmo diagnóstico del MR/DD dentro de la práctica clínica. Aunque habla de las bondades de esta nueva tecnología todavía opinan que se necesita un conocimiento más profundo de esta para poder utilizarla como práctica habitual.

En el año 2010, de nuevo la ACMG, publica una nueva guía³² en la cual se recomienda el aCGH como prueba de cribado en la evaluación inicial de individuos MR/DD (postnatal) que presenten múltiples anomalías no relacionadas estrechamente con un determinado síndrome desórdenes de espectro autista.

Recomiendan también una prueba confirmatoria por FISH del paciente afecto detectado por aCGH así como una evaluación parental también por FISH.

Otro grupo americano publica en ese mismo año un artículo³¹ en el que también recomienda la implantación del aCGH como prueba de elección para el cribado inicial de MR/DD. En este artículo detallan el algoritmo diagnóstico ideal (figura 3).

Recientemente, se ha publicado el "Consenso para la Implementación de los Arrays [CGH y SNP-arrays] en la Genética Clínica" en España (www.institutoroche.es). En esta publicación se concluye que los aCGH deberán estar disponibles como primera opción sistemática del laboratorio para la evaluación diagnóstica de los pacientes con MR/DD, trastornos del espectro autista y anomalías congénitas múltiples.

Coste de la enfermedad

El impacto sociosanitario del MR/DD es enorme porque, aparte del coste derivado por la patología directamente, más del 50% de pacientes nunca llegan a ser diagnosticados genéticamente y eso genera un número elevado de consultas y pruebas extra por parte de las familias¹⁶.

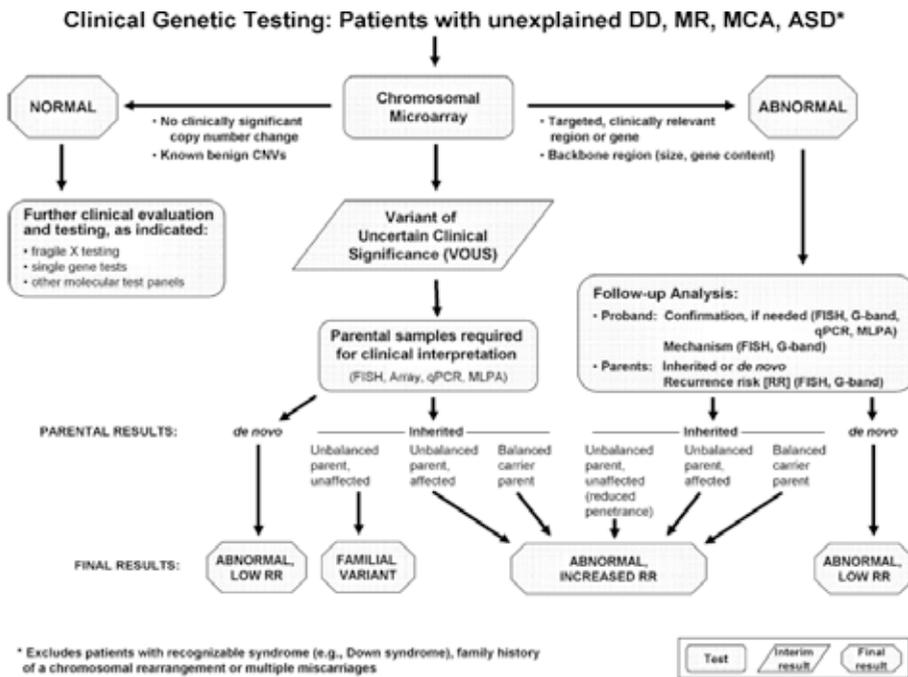


Figura 3. Algoritmo diagnóstico propuesto por Miller³¹

En Europa central, el gasto en cuidados sanitarios del retraso mental según las cuentas de la International Classification of Disease (ICD) es del 8% del coste total y excede de lejos los gastos relacionados a otra categoría de la ICD⁴⁰. Además del impacto sobre el propio paciente, el retraso mental genera grandes retos para los miembros de la familia: han de proporcionar caros cuidados al enfermo y sufren una restricción de su libertad individual así como de sus actividades sociales.

Es por ello de suma importancia plantear un estudio de evaluación económica de la nueva tecnología aCGH en este contexto, sabiendo el enorme coste que supone la falta de diagnóstico en esta enfermedad debido, en gran medida, a la gran cantidad de pruebas adicionales necesarias para llegar a un diagnóstico, y la mayoría de las veces para no alcanzar ninguno.

Un importante trabajo publicado en el año 2007 por el National Health Service (NHS)⁴¹ y firmado por Wordsworth *et al.*, compara el coste-efectividad de la citogenética convencional frente a la nueva tecnología aCGH para el diagnóstico de MR/DD. Concluyen que el aCGH es coste-efectivo frente a la citogenética convencional.

Objetivo

Desde el año 2007 en que ha sido publicado el artículo del NHS⁴¹, la tecnología aCGH debería haber evolucionado en diversos aspectos (coste y potencia diagnóstica) lo que debería implicar un cambio en los resultados finales de coste-efectividad. El objetivo de este estudio es ver cómo afectarían estos cambios al estudio del 2007.

También se hará una valoración del proceso diagnóstico seguido para

MR/DD en la Unidad de Genética del Hospital de A Coruña y compararlo con el algoritmo donde se incluyen los aCGH para finalmente estudiar si sería coste-efectiva esta nueva tecnología.

Material y métodos

Algoritmo diagnóstico de referencia, el estudio de Wordsworth *et al.* (2007)

Para el estudio coste-efectividad del aCGH en el diagnóstico de MR/DD se tomará como referencia el estudio de Wordsworth *et al.*⁴¹. Por consiguiente, primero se explicará brevemente en qué consistió dicho estudio.

Wordsworth *et al.* (2007) compararon la tecnología aCGH frente a la citogenética convencional e hicieron un estudio coste-efectividad. Para ello, primero calcularon los costes unitarios del cariotipo, del FISH, del m-FISH (FISH multiplex), del MLPA y finalmente de los del aCGH. Incluyeron tanto los costes de fungible como los costes de personal. Para el cálculo de estos costes utilizaron los datos de varios laboratorios importantes del Reino Unido. Una vez calculados los costes unitarios de cada tecnología, consultaron a estos mismos laboratorios cuál era el algoritmo diagnóstico seguido por ellos en el abordaje del MR/DD, así como los pacientes detectados y su patología. También consultaron guías clínicas relevantes en el manejo del MR/DD y estudios donde se comparaban los resultados obtenidos al utilizar las tecnologías anteriormente citadas.

El resultado de todo ello lo plasmaron en un árbol diagnóstico incluyendo el coste en cada etapa de este. Comenzaron con un población hipotética de 100 pacientes con MR/DD idiopático. El árbol de decisiones se representa en la figura 4.

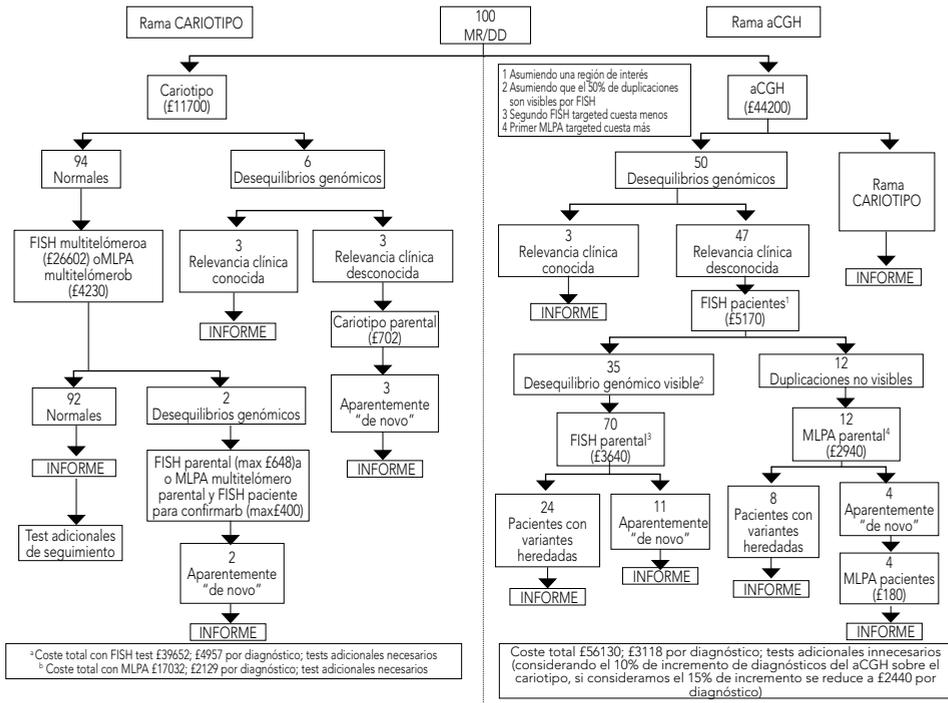


Figura 4. Árbol de decisiones propuesto por Wordsworth et al.⁴¹

Los resultados finales los expresaron como coste por diagnóstico. Normalmente los estudios de coste-efectividad exponen sus resultados finales como coste incremental por QALY. El QALY (en inglés, Quality Adjusted Life per Year) o AVAC (en español, Años de Vida Ajustados por Calidad) mide la calidad de vida relacionada con la salud. Esta unidad estandarizada de salud sirve para comparar enfermedades entre sí en un estudio coste-efectivo. Se basa en medidas objetivas (clínicas) de la enfermedad así como en medidas subjetivas. Estas medidas subjetivas se basan en cuestionarios que rellenan los enfermos respondiendo acerca de su percepción de la enfermedad. Así que se entiende por qué en el caso del MR/DD no sea posible el uso de los AVACs.

Para expresar nuestros resultados finales se utilizará la medida del coste-

efectividad incremental. Esta es una medida que se utiliza para comparar dos estrategias diagnósticas o terapéuticas y que representa el coste añadido de una estrategia frente a otra para diagnosticar o tratar a cada nuevo paciente que no hubiera sido diagnosticado con la estrategia antigua. Si tenemos dos estrategias A y B, el coste incremental se calcularía: $(\text{Coste A} - \text{Coste B}) / (\text{Efectividad A} - \text{Efectividad B})$. En nuestro caso, como hemos dicho anteriormente, la efectividad se medirá como "pacientes diagnosticados".

Proceso de actualización del algoritmo de referencia

En el estudio de Wordsworth et al. (2007) ya se confirmaba que la nueva tecnología aCGH era coste-efectiva. Desde entonces, la tecnología aCGH debería haber experimentado un aba-

ratamiento de costes así como una mejora sustancial en su poder diagnóstico (mejor resolución de los arrays y bases de datos más completas).

Para conocer los costes actualizados al 2012 se pide precio a las principales casas comerciales del sector de los microarrays. Estas nos proporcionan precio unitario por array (array más reactivos) y precio del lector de arrays y se estima un precio unitario medio.

Por otro lado, para estudiar cómo afectaría al estudio de Wordsworth et al. (2007) la mejora diagnóstica de los aCGH desde el año 2007, se hizo una busca bibliográfica desde ese año hasta la actualidad de grandes ensayos clínicos que usaron la tecnología aCGH como prueba de cribado de MR/DD. Posteriormente se incorporaron esos nuevos resultados al esquema del estudio de Wordsworth et al.

MR/DD en el Hospital de A Coruña

Por último, se hizo una búsqueda retrospectiva en los archivos de la Unidad de Genética del Hospital de A Coruña entre agosto de 2011 y agosto de 2012 de pacientes cuya orientación diagnóstica era MR/DD. Se recopilaron el tipo de pruebas diagnósticas que fueron solicitadas a cada paciente y los resultados de dichas pruebas así como el diagnóstico final (cuando lo había).

Resultados

Actualización de los costes

En el artículo de referencia Wordsworth et al. (2007) calcularon un precio unitario para cada aCGH de 553 €. Para ello consideraron un volumen de muestras de 1150/año para amortizar equipamiento a un año (lector de arrays, estufas...). De estos 553 € por

muestra, 235 € correspondían al coste del array en sí y a los reactivos para su preparación. Los 318 € restantes corresponden a costes de personal y fungibles varios (scanner, hornos, PCs...)

Actualmente un aCGH (60K) ronda los 200 €/muestra (incluyendo reactivos y sin tener en cuenta gastos de personal) y un scanner está en torno a los 100 000 €. Contrariamente a lo que se esperaba, los precios de esta tecnología no se han rebajado considerablemente desde el año 2007, por lo que seguiremos usando los costes calculados en Wordsworth et al. (2007). Los precios del cariotipo y FISH tampoco han cambiado significativamente desde la publicación del artículo en el año 2007.

Actualización de la potencia diagnóstica

En la búsqueda bibliográfica a través de PubMed (2007-2011) se encontraron varios artículos que utilizaron aCGH en ensayos clínicos para MR/DD. De todos los artículos se escogió aquellos que cumplieran las siguientes características:

- Que expresaran los resultados de su estudio de tal manera que se pudieran incorporar fácilmente al algoritmo de Wordsworth et al.
- Que utilizaran aCGH de oligonucleótidos.
- Que utilizaran alguna mejora sustancial de la tecnología aCGH aplicable al algoritmo de Worsworth et al.

Un aspecto determinante en los aCGH es la interpretación de las anomalías de origen desconocido. La mayoría de las aberraciones submicroscópicas detectadas por los aCGH no están documentadas. De hecho, uno de los ma-

yores esfuerzos de todas las plataformas que utilizan esta tecnología es la creación de una base de datos más potente (DECIPHER <http://www.sanger.ac.uk/PostGenomics/decip>, es la más usada) donde incorporar estas nuevas anomalías y catalogarlas como benignas (polimorfismos) o patológicas. Esto es debido a que en todas aquellas anomalías no documentadas previamente es necesario el estudio genético parental, para ver si son heredadas o de novo. Si son heredadas y los padres son sanos se consideran anomalías benignas. Si no son heredadas se consideran patológicas. Al completarse estas bases de datos de las anomalías detectadas por aCGH el número de estudios parentales será menor, con el consiguiente ahorro económico.

En el año 2010 Wook Ahn *et al.* publican un estudio³⁰ en el que utilizan el aCGH como prueba de cribado para MR/DD. Sus resultados se resumen en la tabla 1.

Además este estudio presenta una novedad importantísima para ahorrar costes con la tecnología aCGH. Se había explicado que en un aCGH una muestra de paciente se hibrida junto a una muestra control al aCGG. Wook Ahn *et al.* sustituyen la muestra control por otra muestra de paciente (estrategia "patient to patient"), así serían necesarios solo la mitad de microarrays

respecto al estudio coste-efectividad del 2007. El único riesgo de esta estrategia sería que dos pacientes presentaran la misma anomalía, situación en la que el aCGH no la podría detectar. No obstante, el riesgo de que ocurra esto es pequeñísimo, más si cabe teniendo en cuenta que procuraron aparear pacientes con fenotipos lo más diferente posible, disminuyendo aún más la probabilidad de que esto ocurra.

Algoritmo final: actualización de costes y potencia diagnóstica

En el estudio de referencia de Wordsworth *et al.* (2007), se estimó que el coste total siguiendo el algoritmo de la citogenética convencional era de 39 652 £ (49 565 €). Para el algoritmo que usaba el aCGH como prueba inicial era de 56 130 £ (70 163 €). Con la citología convencional diagnosticaron 8 casos de MR/DD mientras que con el aCGH diagnosticaron 18 pacientes. El coste incremental fue: $(56\ 130\ £ - 39\ 652\ £) / (18 - 8) =$ de 1648 £/diagnóstico añadido (2060 €/diagnóstico añadido). Es decir, el diagnóstico de cada paciente de más detectado con los aCGH y que no hubiera sido detectado por el cariotipo convencional nos valdría 2060 €. Los organismos que evalúan la implantación de nuevas tecnologías sanitarias (como NICE en Inglaterra) estiman que una tecnología es susceptible de ser implantada cuan-

Tabla 1. Resumen estudio de Wook Ahn

n	% ANOMALÍAS			% DETECCIÓN		
	Conocidas	Inciertas			Benigno	
1245	9	21		70	16	
		De novo	Heredadas			
		7	14			
			Patológicas			Benignas
		-	14			

do su coste incremental no supera los 30 000 €/AVAC. En nuestro caso, no se utiliza el AVAC como unidad de efectividad sino la variable "diagnóstico". En este punto habría que calcular los costes indirectos de MR/DD y ver si es coste-efectivo pagar 2060 € por cada nuevo paciente diagnosticado.

A continuación se comparará la citogenética convencional frente a la estrategia *patient to patient* con las nuevas probabilidades en cada etapa del algoritmo sacadas también de Wook Ahn et al. (figura 5).

Con los datos actualizados del estudio de Wook Ahn de 2010 el coste total para cribar a 100 pacientes con aCGH sería de 27 389 £ (34 236 €) frente a las 39 652 £ (49 565 €) de la citogenética convencional. La efectividad sería de 16 pacientes diagnosticados (frente a los 8 pacientes de la citogenética convencional). Es decir, con estos nuevos resultados, el aCGH se convierte en una alternativa diagnóstica "dominante" frente a la citogenética convencional. "Dominante" quiere decir que es más barata (34 236 € frente a 49 565 €) y más efectiva (16% diagnósticos frente a 8% diagnósticos). En este caso ya no habría que estudiar el coste incremental ya que al ser una estrategia diagnóstica dominante estaría siempre aconsejada su implantación.

MR/DD en el Hospital de A Coruña

En la Unidad de Genética del Hospital de A Coruña hay un "protocolo" de estudio del paciente MR/DD:

- Si se trata de retraso mental aislado se opta por la realización de cariotipo.
- Si es sugestivo de síndromes específicos se opta por técnicas FISH.
- Si es sugestivo de retrasos sindrómicos que pudieran beneficiarse

del estudio mediante aCGH como primera línea, se valora esta posibilidad.

En todos los casos se valora el estudio del Síndrome de X frágil.

Entre agosto de 2011 y agosto de 2012 se recibieron 101 peticiones de estudio citogenético en pacientes cuya orientación diagnóstica era MR/DD. En la mayoría de estos pacientes se siguió el algoritmo "cariotipo + FISH + X-frágil". Cuando se encontraba una anomalía en el paciente se hacía estudio parental mediante técnica FISH. Es decir, se sigue un algoritmo similar al convencional del estudio de Wordsworth et al. (2007). Por esto, se puede concluir que la estrategia nueva utilizando el aCGH también sería coste-efectiva en el Hospital de A Coruña. La única diferencia es el número de muestras/año, que en Wordsworth et al. (2007) era de 1150 muestras/año y en el Hospital de A Coruña de 100 muestras/año. Esto es importante para la amortización/año del lector de arrays ya que para Wordsworth et al. (2007) esta es de 100 000 €/1150 muestras = 87 €/muestra para un año de amortización mientras que para el Hospital de A Coruña sería de 100 000 €/100 muestras = 1000 €/muestra para un año de amortización. Esto, obviamente, sería impagable, no obstante la amortización de los scanners no se suele hacer a un año, sino a cuatro. Además en la Unidad de genética del Hospital de A Coruña, se estima que el número de muestras para aCGH sería de unas 300 muestras/año, ya que habría que añadir los pacientes con trastorno del espectro autista. Así, 300 muestras/año y una amortización a cuatro años hace un total de 1200 muestras, que son las mismas que en el estudio de referencia de Wordsworth et al. (2007).

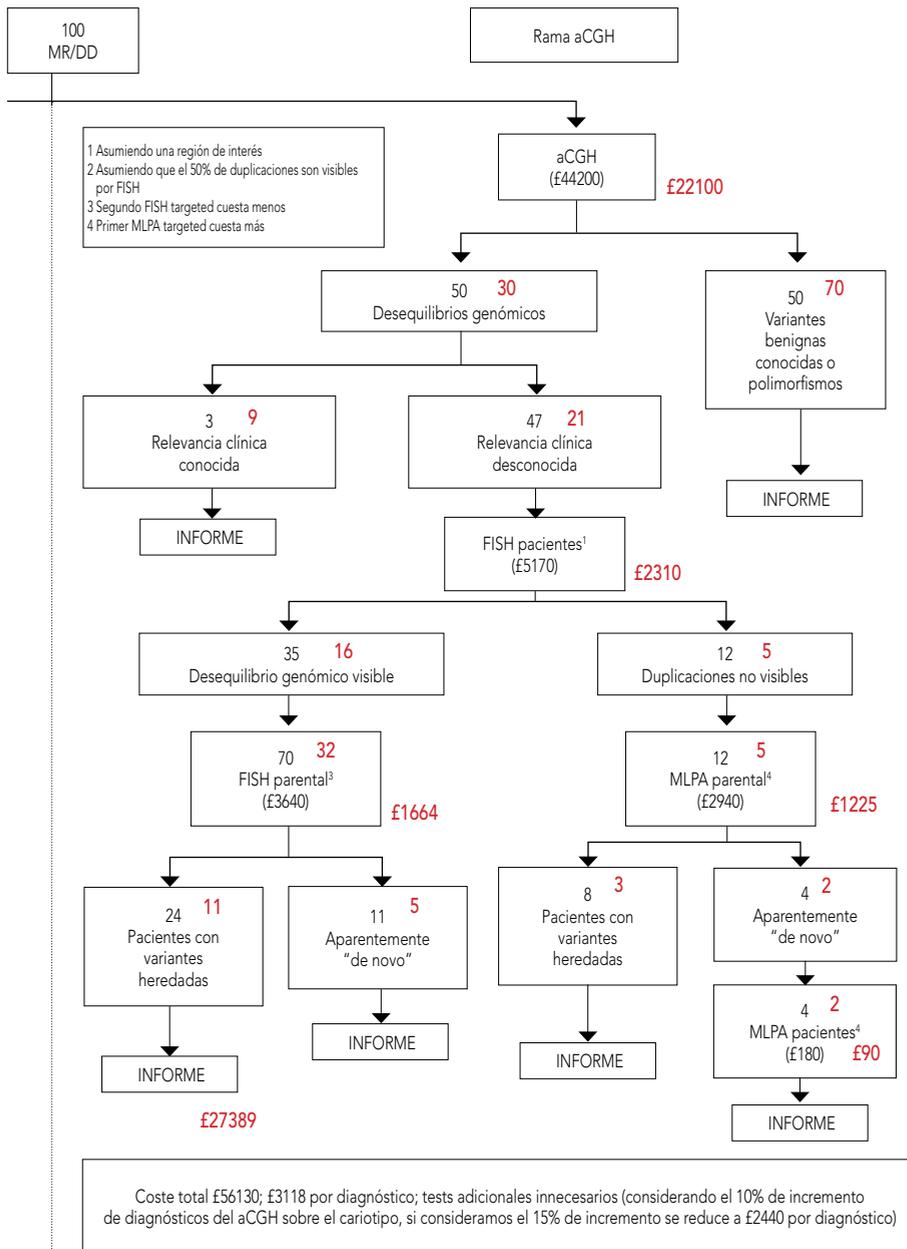


Figura 5. Árbol de decisiones propuesto por Wordsworth, et al., modificado con datos del estudio de Wook Ahn (en rojo)³⁰

Discusión y Conclusiones

Ya cuando se publicaron los resultados en 2007 del estudio coste-efectividad

de Wordsworth et al., todos los estudios posteriores lo citaban a la hora de justificar la implantación de la tecnología aCGH en el diagnóstico de retraso

mental. Han pasado solo 5 años desde entonces y el mayor conocimiento de esta técnica ha permitido demostrar que es una tecnología dominante frente al cariotipo y FISH que durante tantos años se han utilizado para el estudio de retraso mental. Esta condición de tecnología dominante apoya del todo la implantación de los aCGH en el algoritmo diagnóstico para el cribado de MR/DD, ya que es más efectiva y barata que la citogenética convencional. Además, cabe decir que la mejora de estos resultados no ha tocado techo todavía. El abaratamiento teórico de los microarrays a medida que la demanda sea mayor es un factor a tener en cuenta y cada día se mejoran y completan las bases de datos que facilitan la interpretación de los resultados.

Otro factor a tener en cuenta es la reducción del tiempo para emitir resultados, ya que en los aCGH no es necesario cultivar células como ocurre en el cariotipo convencional. Además el tiempo de operador para aCGH es bastante menor que en el cariotipo, y se tiende a una mayor automatización.

Los resultados del aCGH no son operador dependientes, y su interpretación es cada vez más sencilla gracias a los sofisticados software que ya ofrecen las propias casas comerciales junto a los microarrays para su uso en genética clínica. También hay un esfuerzo tanto de las casas comerciales como de los usuarios (ISCA consortium) para la estandarización en la manufactura de los aCGH.

La limitación más importante del aCGH ya habíamos comentado que es su incapacidad de detectar reordenamientos balanceados. Se ha demostrado mediante un estudio retrospectivo a lo largo de más de diez años, que estos reordenamientos suponían menos del 1% de las anomalías cromosómicas detectadas.

Por ello, a pesar de seguir siendo una limitación inherente a esta tecnología, creemos que sus ventajas la compensan con creces.

Uno de los principales problemas de las Unidades de Genética es que no todas tienen 1150 muestras/año como en el estudio de Wordsworth *et al.* (2007). Por ejemplo, en el Hospital de A Coruña se procesan solo 100 muestras/año. Esto trae consigo un encarecimiento de los costes. No obstante, hay fórmulas en el mercado que permiten solventar esta adversidad, como son hacer amortizaciones de los equipos a plazos más largos que un año. Otra posibilidad es la de realizar los aCGH en el propio Hospital y luego hay empresas que se dedican exclusivamente a la lectura de los arrays montados en el Hospital. El coste unitario de cada aCGH sería equivalente al del estudio de referencia de Wordsworth *et al.* (2007) independientemente del número de muestras.

Por todo ello, cabe esperar una implantación próxima de los aCGH para el abordaje del retraso mental y del desarrollo, sustituyendo al cariotipo convencional y FISH. Esto no solo nos permitirá ser más eficientes (más diagnósticos), sino también minimizar los costes del proceso diagnóstico de esta enfermedad.

Bibliografía

1. Department of Health (2001) A new strategy for learning disability for the 21st Century. <http://www.archive.official-documents.co.uk/document/cm50/5086/5086.pdf>
2. Roeleveld N, Zielhuis G, Gabreels F. The prevalence of mental retardation: a critical review of recent literature. *Develop Med Child Neurol.* 1997;39:125-32.

3. Curry CJ, Stevenson RE, Aughton D, et al. Evaluation of mental retardation: recommendations of a consensus conference. *Am J Med Genet.* 1997;72:468-77.
4. Bunday S, Thake A, Todd J. The recurrence risks for mild idiopathic mental retardation. *J Med Genet.* 1989;26:260-6.
5. Shevell M, Ashwal S, Donley D, Flint J, et al. Practice parameter: Evaluation of the child with global developmental delay. Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and The Practice Committee of the Child Neurology Society. *Neurology.* 2003;60:367-80.
6. Hunter AG. Outcome of the routine assessment of patients with mental retardation in a genetics clinic. *Am J Med Genet.* 2000;90:60-8.
7. Devriendt K, Holvoet M, Fryns J. An etiological diagnostic survey in children attending a school for special education. *Genet Couns.* 2003;14:125.
8. Flint J, Knight S. The use of telomere probes to investigate submicroscopic rearrangements associated with mental retardation. *Curr Opin Genet Dev.* 2003;13:310-6.
9. Flint J, Wilkie AO. The genetics of mental retardation. *Br Med Bull.* 1996;52:453-64.
10. Raymond GV. Abnormal mental development. In: Rimoin DL, Connor M, Pyeritz RE, Korf BR, editors. *Emery and Rimoin's principles and practice of medical genetics.* London: Churchill-Livingstone; 2002. p. 1046-65.
11. Knight SJ, Regan R, Nicod A, Horsley SW, et al. Subtle chromosomal rearrangements in children with unexplained mental retardation. *Lancet.* 1999;354:1676-81.
12. Lauritsen M, Mors O, Mortensen PB, Ewald H. Infantile autism and associated autosomal chromosome abnormalities: A register-based study and a literature survey. *J Child Psychol Psychiatry.* 1999; 40:335-45.
13. Schinzel A. *Catalogue of Unbalanced Chromosome Aberrations in Man*, 2.^a ed. Berlin: Gruyter; 2001.
14. Lenhard W, Breitenbach E, Ebert H, Schindelbauer-Deutscher HJ, Henn W. Psychological benefit of diagnostic certainty for mothers of children with disabilities: Lessons from Down syndrome. *Am J Med Genet Part A.* 2005;133A:170-5.
15. Van Naarden Braun K, Autry A, Boyle C. A populationbased study of the recurrence of developmental disabilities— Metropolitan Atlanta Developmental Disabilities Surveillance Program, 1991–94. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2005;19:69-79.
16. van Karnebeek CD, Jansweijer MC, Leenders AG, Offringa M, Hennekam RC.. Diagnostic investigations in individuals with mental retardation: A systematic literature review of their usefulness. *Eur J Hum Genet.* 2005;13:6-25.
17. Tjio HJ, Levan A. The chromosome numbers of man. *Hereditas.* 1956; 42:1-6.
18. Shaffer LG, Lupski JR. Molecular mechanisms for constitutional chromosomal rearrangements in humans. *Annu Rev Genet.* 2000; 34:297-329.

19. Speicher MR, Carter NP. The new cytogenetics: blurring the boundaries with molecular biology. *Nat Rev Genet.* 2005;6:782-92.
20. Lee JA, Lupski JR. Genomic rearrangements and gene copy-number alterations as a cause of nervous system disorders, *Neuron.* 2006;52:103-21.
21. Flint J, Wilkie AO, Buckle VJ, Winter RM, et al. The detection of subtelomeric chromosomal rearrangements in idiopathic mental retardation. *Nat Genet.* 1995;9:132-40.
22. Knight SJ, Regan R, Nicod A, Horsley SW, et al. Subtle chromosomal rearrangements in children with unexplained mental retardation. *Lancet.* 1999;354:1676-81.
23. Biesecker LG. The end of the beginning of chromosome ends. *Am J Med Genet.* 2002;107:263-6.
24. Knight S, Horsley S, Regan R, Lawrie N, et al. Development and clinical application of an innovative fluorescence in situ hybridisation technique which detects submicroscopic rearrangements involving telomeres. *Eur J Hum Gen.* 1997;5:1-8.
25. Ravnan JB, Tepperberg JH, Papenhausen P, Lamb AN, et al. Subtelomere FISH analysis of 11,688 cases: an evaluation of the frequency and pattern of subtelomere rearrangements in individuals with developmental disabilities. *J Med Genet.* 2006;43:478-89.
26. de Vries BB, Winter R, Schinzel A, van Ravenswaaij-Arts C: Telomeres: a diagnosis at the end of the chromosomes. *J Med Genet.* 2003; 40:385-98.
27. van Karnebeek CDM, Jansweijer MCE, Leenders AGE, Offinga M, Hennekam RCM. Diagnostic investigation in individuals with mental retardation: a systematic literature review of their usefulness. *Eur J Hum Genet.* 2005;13:6-25.
28. Speicher MR, Gwyn BS, Ward DC. Karyotyping human chromosomes by combinatorial multi-fluor FISH. *Nat Genet.* 1996;12:368-75.
29. de Vries BB, Pfundt R, Leisink M, Koolen DA, Vissers LE, Janssen IM, et al. Diagnostic genome profiling in mental retardation. *Am J Hum Genet.* 2005;77:606-16.
30. Ahn JW, Mann K, Walsh S, Shehab M, Hoang S, Docherty Z, Mohammed S, Mackie Ogilvie C. Validation and implementation of array comparative genomic hybridisation as a first line test in place of postnatal karyotyping for genome imbalance. *Mol Cytogenet.* 2010;3:9.
31. Miller DT, Adam MP, Aradhya S, Biesecker LG, Brothman AR, Carter NP, et al. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet.* 2010;86:749-64.
32. Manning M, Hudgins L. Array-based technology and recommendations for utilization in medical genetics practice for detection of chromosomal abnormalities. *Genet Med.* 2010;12:742-5.
33. Vermeesch JR, Melotte C, Froyen G, Van Vooren S, Dutta B, Maas N, et al. Molecular karyotyping: array CGH quality criteria for constitutional genetic diagnosis. *J Histochem Cytochem.* 2005;53(3):413-22.

34. Kallioniemi A, Kallioniemi OP, Sudar D, Rutovitz D, Gray JW, Waldman F *et al.* Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science*. 1992;258:818-21.
35. Solinas-Toldo S, Lampel S, Stilgenbauer S, Nickolenko J, Benner A, Dohner H, *et al.* Matrix-based comparative genomic hybridization: biochips to screen for genomic imbalances. *Genes Chromosomes Cancer*. 1997;20:399-407.
36. Lucito R, Healy J, Alexander J, Reiner A, Esposito D, Chi M, *et al.* Representational oligonucleotide microarray analysis: a high-resolution method to detect genome copy number variation. *Genome Res*. 2003;13:2291-305.
37. Ylstra B, van den Ijssel P, Carvalho B, Brakenhoff RH, Meijer GA. BAC to the future! Or oligonucleotides: a perspective for micro array comparative genomic hybridization (array CGH). *Nucleic Acids Res*. 2006;34:445-50.
38. Shaffer LG; American College of Medical Genetics Professional Practice and Guidelines Committee. American College of Medical Genetics guideline on the cytogenetic evaluation of the individual with developmental delay or mental retardation. *Genet Med*. 2005;7(9):650-4.
39. Vermeesch JR, Fiegler H, de Leeuw N, Szuhai K, Schoumans J, Ciccone R, *et al.* Guidelines for molecular karyotyping in constitutional genetic diagnosis. *Eur J Hum Genet*. 2007;15(11):1105-14.
40. Ropers HH, Hamel BC. X-linked mental retardation. *Nat Rev Genet*. 2005;6:46-57.
41. Wordsworth S, Buchanan J, Regan R, Davison V, Smith K, Dyer S, *et al.* Diagnosing idiopathic learning disability: a cost-effectiveness analysis of microarray technology in the National Health Service of the United Kingdom. *Genomic Med*. 2007;1(1-2):35-45.