

Presente y futuro de la genética en las enfermedades minoritarias

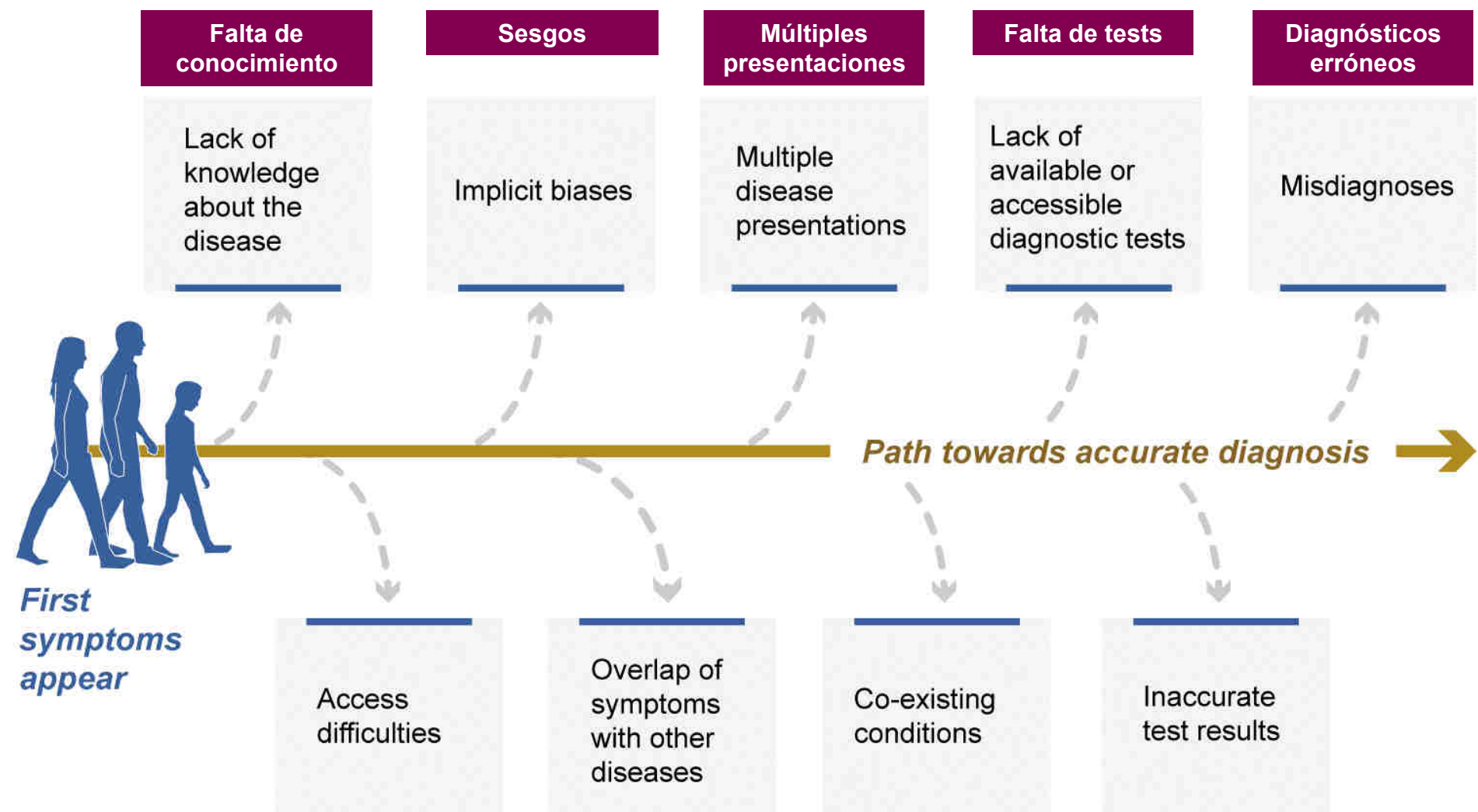
Antònia Obrador

Unidad de Diagnóstico Molecular y Genética Clínica
Unidad de Genética y Genómica de las Islas Baleares (GENIB)
HOSPITAL UNIVERSITARI SON ESPASES

Genética de las enfermedades minoritarias

- Centenares de millones de personas están afectadas por alguna de las 10.000 enfermedades minoritarias de causa genética.
- La inmensa mayoría de estos pacientes experimenta múltiples dificultades para ser diagnosticado y a menudo no se dispone de tratamientos apropiados.
- Enormes esfuerzos están mejorando esta situación con la investigación de los genes responsables de estas enfermedades y con estrategias de mejora de los tiempos de diagnóstico, manejo y tratamiento. Existen consorcios internacionales: International Rare Diseases Research Consortium.
- Nuevas tecnologías como la secuenciación de EXOMAS ha permitido llegar a un ratio de diagnóstico genético del 25-30%.

Genética de las enfermedades minoritarias



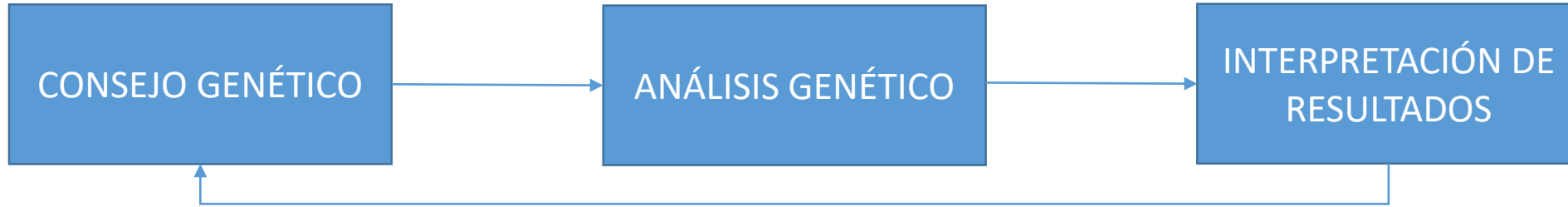
Source: GAO analysis of published literature on rare diseases. | GAO-22-104235





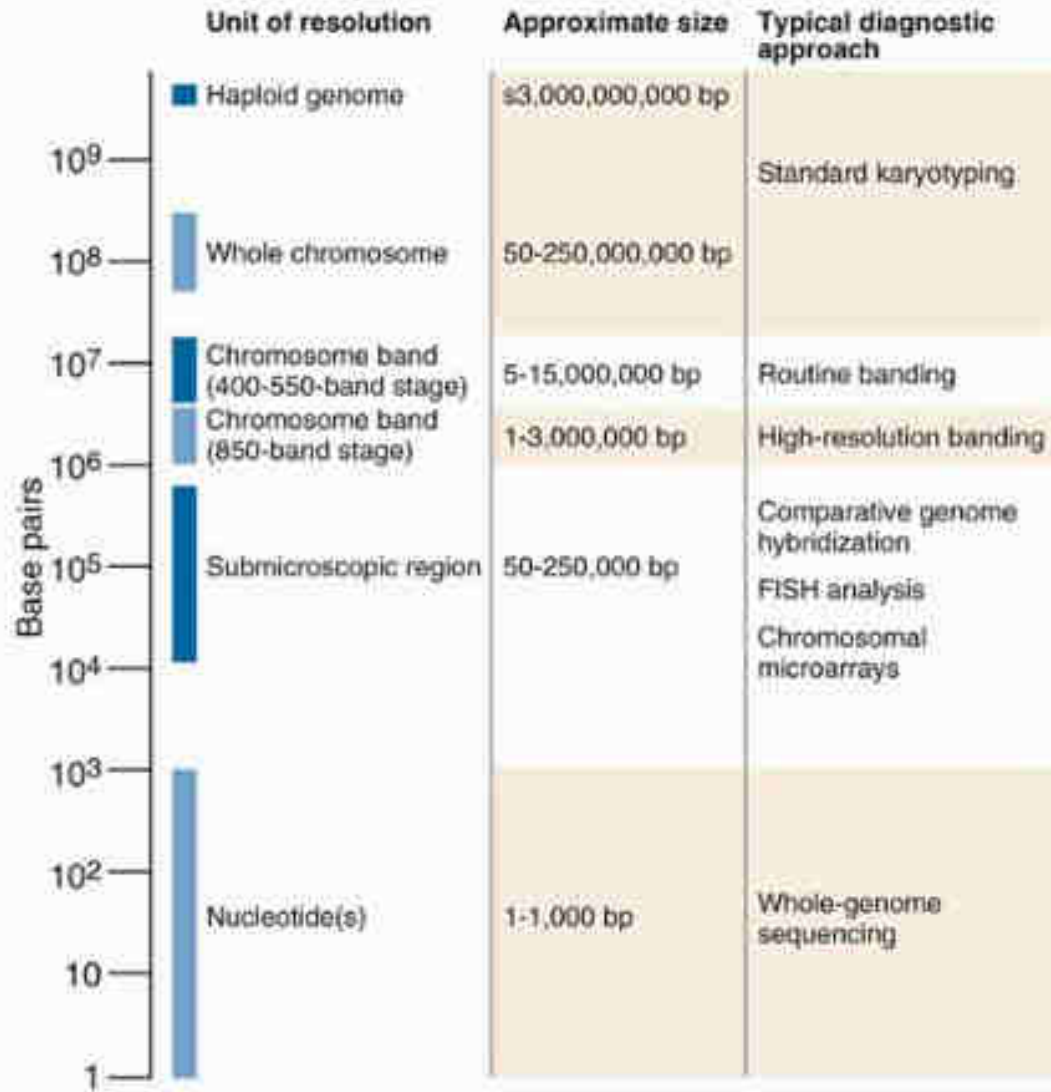
- La gran complejidad intrínseca que presenta nuestro propio genoma humano:
 - 2.850 millones de bases
 - 22.000 genes (muchos con función desconocida)
 - 98% del genoma es no codificante
- 99% de identidad entre individuos.
- 10 millones de SNPs (cambios de nucleótidos no asociados a ninguna patología).
- Más de 6.000 enfermedades de las cuales se conoce el origen genético (recogidas en OMIM).
- Enfermedades causadas por diferentes mecanismos para los cuales se deben realizar diferentes abordajes técnicos para su correcto diagnóstico.

Determinación de las causas genéticas de una enfermedad



- El clínico recoge toda la información tanto clínica como familiar para determinar el patrón de herencia y si se conoce la enfermedad.
- El genetista decide cómo abordar el análisis genético:
 - Qué busco? Enfermedad/Patrón de herencia.
 - Dónde lo busco? En qué región del genoma se encuentra el gen responsable de la enfermedad.
 - Cómo lo busco? Qué técnica diagnóstica es la más apropiada.

Determinación de las causas genéticas de una enfermedad



Técnicas anteriores a NGS



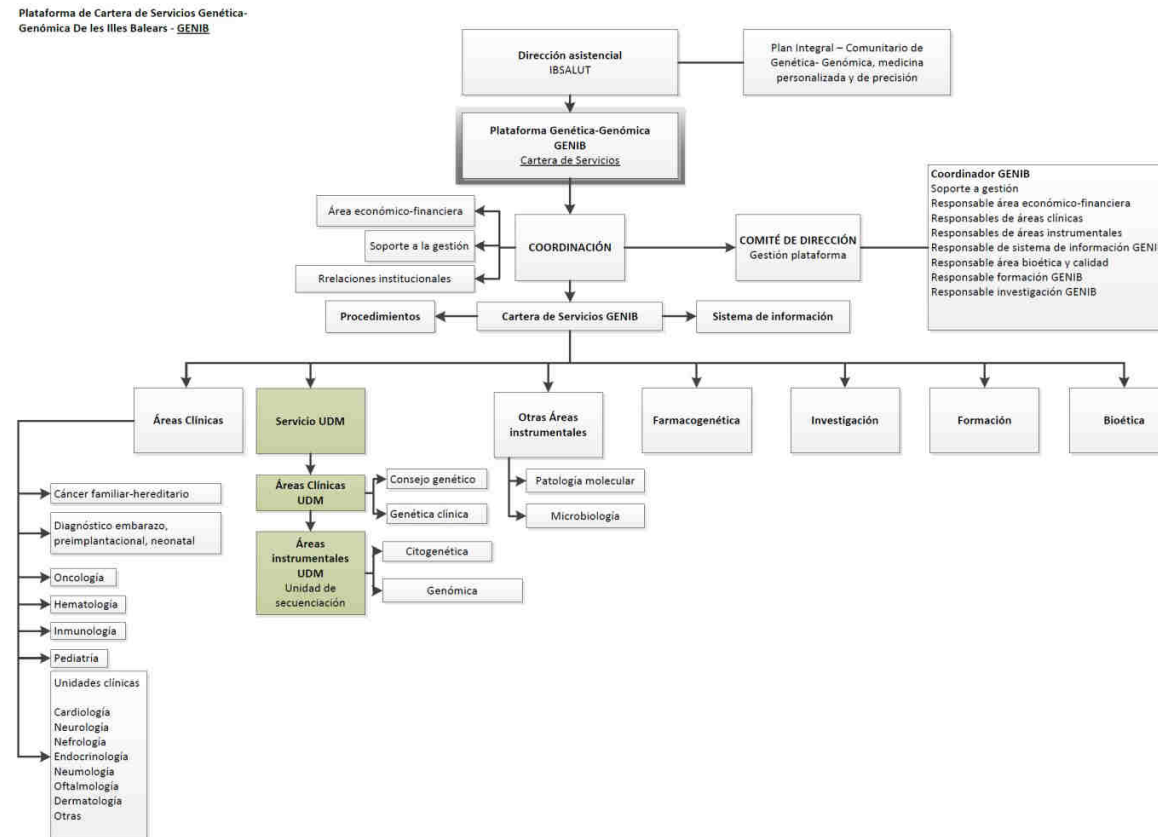
Nuevas técnicas genómicas



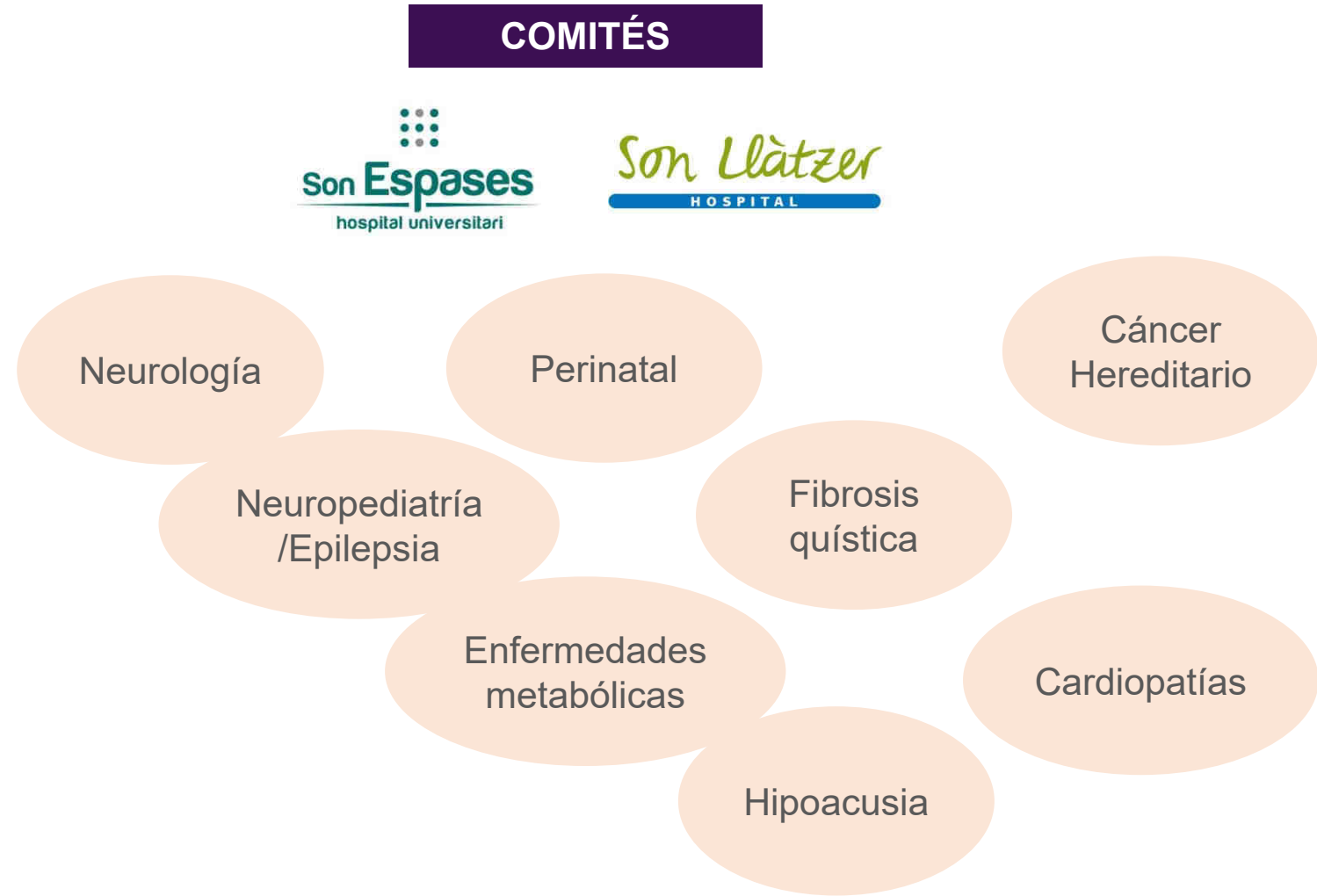
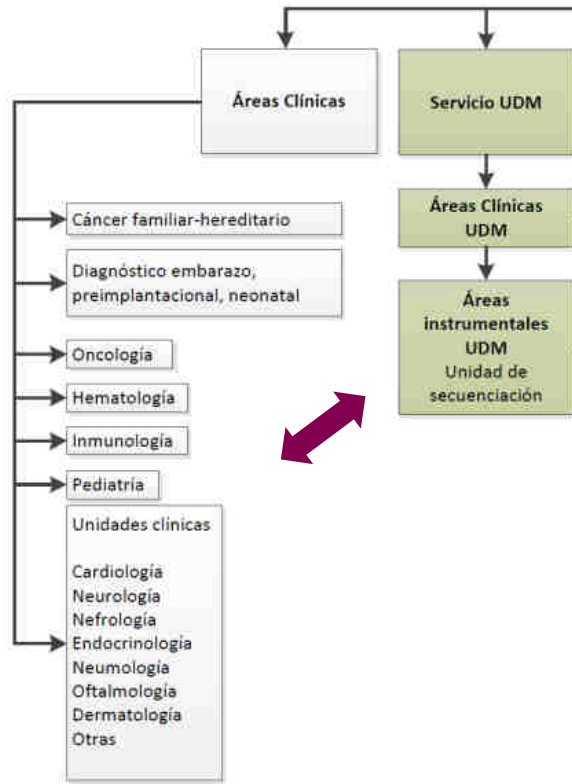
Unidad de Genética-Genómica de las Illes Balears (GENIB)

Unidad de Diagnóstico Molecular y Genética Clínica

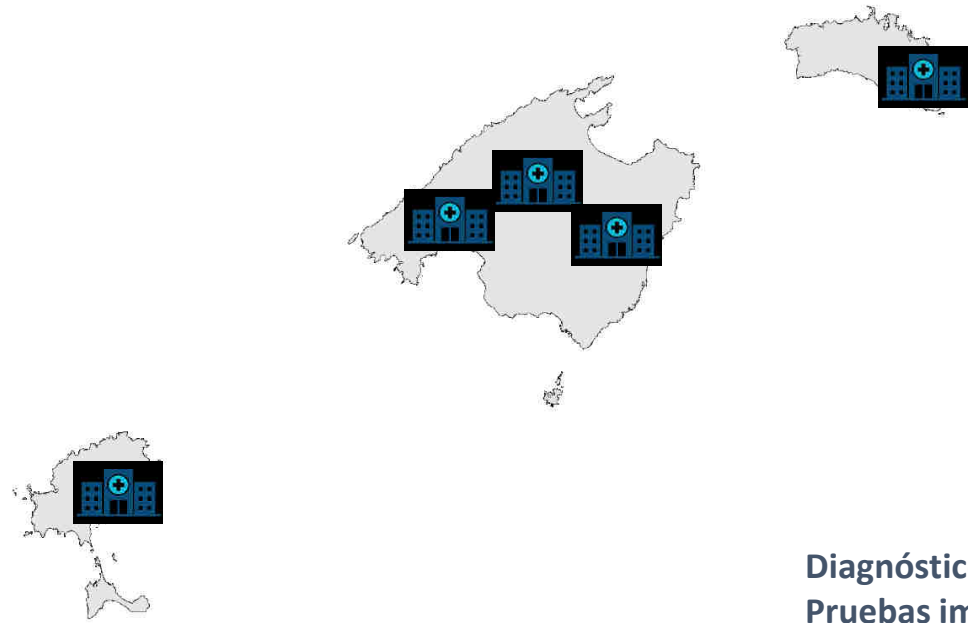
Garantizar que cualquier persona de la Comunidad Illes Balears afecta por una enfermedad de base genética, con riesgo de padecerla en un futuro, con riesgo de transmitirla o cuyo problema de salud requiera de técnicas de análisis genético o genómico, disponga de un acceso equitativo a la evaluación clínica, al consejo genético y a las pruebas pertinentes para el correcto manejo de dicho problema.



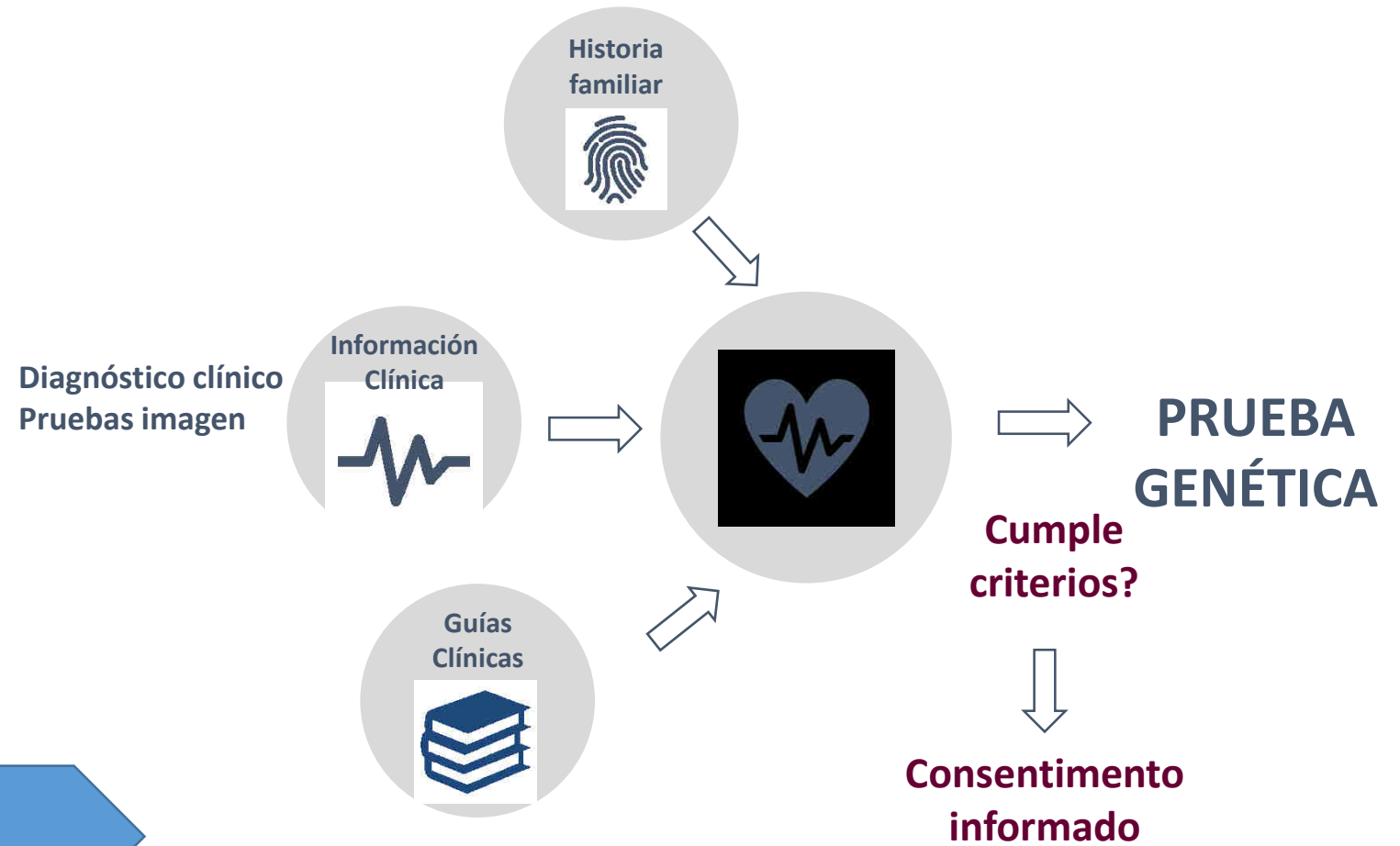
Circuitos de trabajo



Presentación del caso



AVALUACIÓN CLÍNICA DEL PACIENTE



AVALUACIÓN CLÍNICA

Consentimento informado

OBJETIVOS DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO

- Explica el procedimiento con una breve descripción.
- Explica la información que aporta la prueba y sus limitaciones.
- Pone de manifiesto los resultados que se esperan obtener del estudio y el tiempo de espera aproximado.
- Determina los hallazgos que se informan o no al paciente (posibilidad de incluir el panel de hallazgos incidentales)

PANEL DE GENES RECOMENDADOS POR LA ACMG (INCIDENTALES):

ACTA2, ACTC1, APC, APOB, ATP7B, BMPR1A, BRCA1, BRCA2, CACNA1S, COL3A1, DSC2, DSG2, DSP, FBN1, GLA, KCNH2, KCNQ1, LDLR, LMNA, MEN1, MLH1, MSH2, MSH6, MUTYH, MYBPC3, MYH11, MYH7, MYL2, MYL3, NF2, OTC, PCSK9, PKP2, PMS2, PRKAG2, PTEN, RB1, RET, RYR1, RYR2, SCN5A, SDHAF2, SDHB, SDHC, SDHD, SMAD3, SMAD4, STK11, TGFB1, TGFB2, TMEM43, TNNT2, TP53, TPM1, TSC1, TSC2, VHL, WT1.

AVALUACIÓN CLÍNICA

DECLARACIONES:

Referent al tipus d'anàlisi:

Opció 1. Anàlisi dels gens coneguts i relacionats amb la malaltia o amb el trastorn genètic.



☐ No

Opció 2. Estudis addicionals voluntaris: vull que s'analitzin els gens recomanats per l'ACMG.



☐ No

Referent als resultats:

Vull ser informat de les troballes en els gens relacionats amb la malaltia que origina l'estudi.



☐ No

Vull ser informat de les troballes incidentals que es puguin detectar, no relacionades amb la malaltia i que puguin tenir conseqüències importants per a la meua salut o la dels meus familiars, específicament, les que afectin els gens que tenen rellevància clínica.



☐ No

Referent a la mostra d'ADN:

Vull que un cop realitzat l'estudi:



☐ Es destrueixi l'ADN.

☒ Es conservi l'ADN a la UDMGC.

Quant a la investigació:

Autoritz que la mostra i les dades clíniques i genètiques siguin utilitzades per a la investigació clínica.



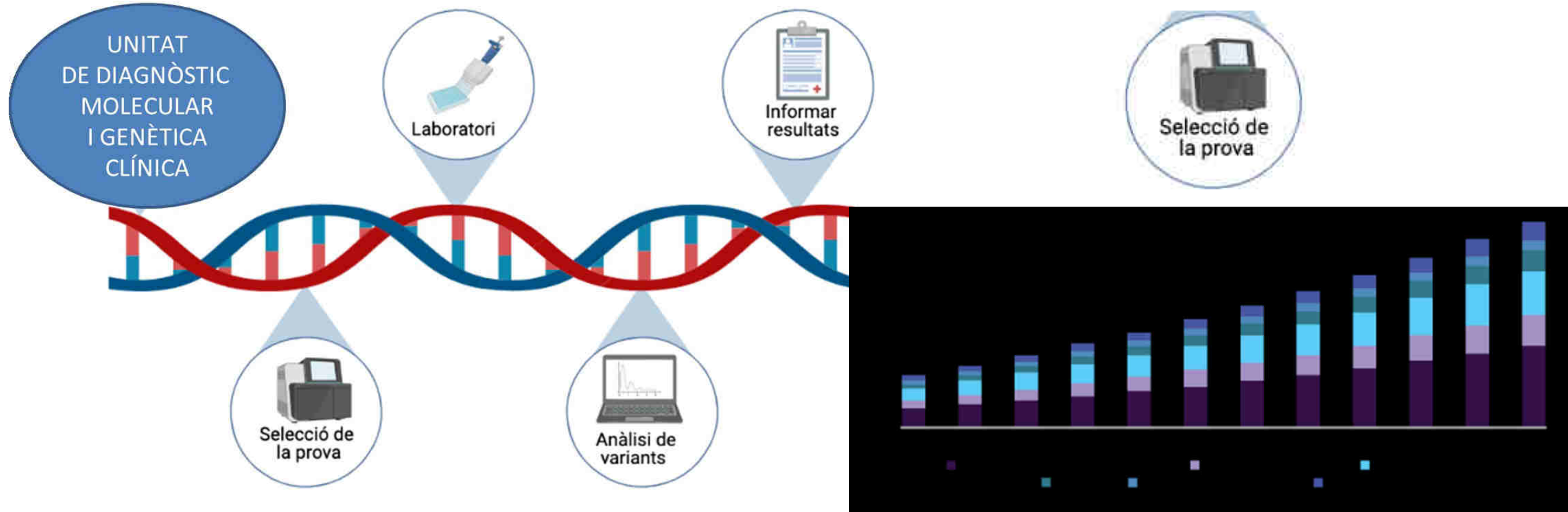
☐ No

Genètica



Test genético

PROCESAMIENTO PRE-ANALÍTICO Y ANALÍTICO



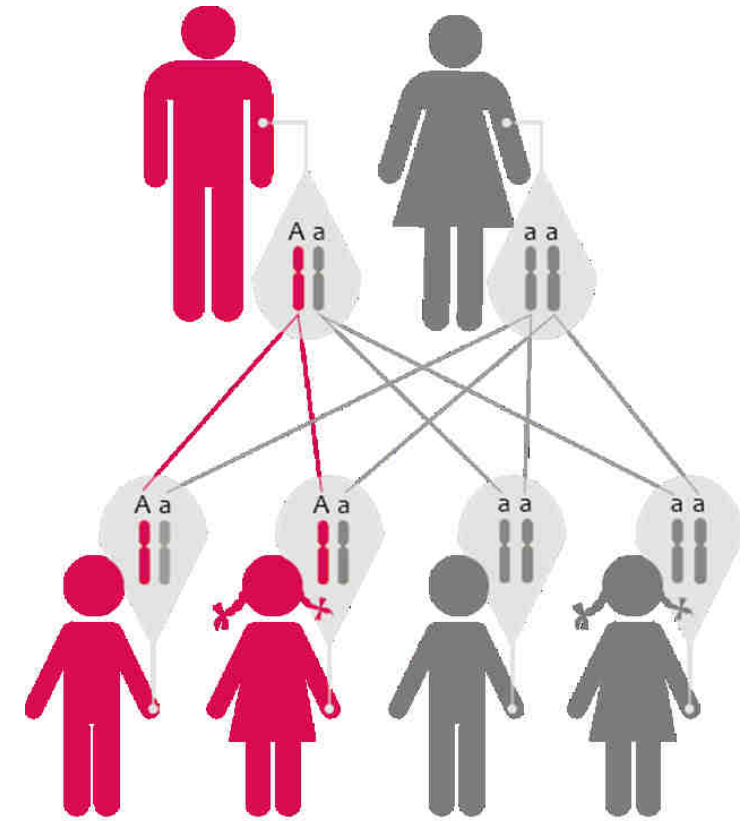
AVALUACIÓN CLÍNICA

TEST GENÉTICO

Asesoramiento genético

- Informar del resultado genético.
- Valorar el riesgo del paciente y familiares.
- Tratamiento y seguimiento disponibles.
- Aspectos éticos y particulares de cada familia para actuar en concordancia.

IDENTIFICACIÓN FAMILIARES DE RIESGO

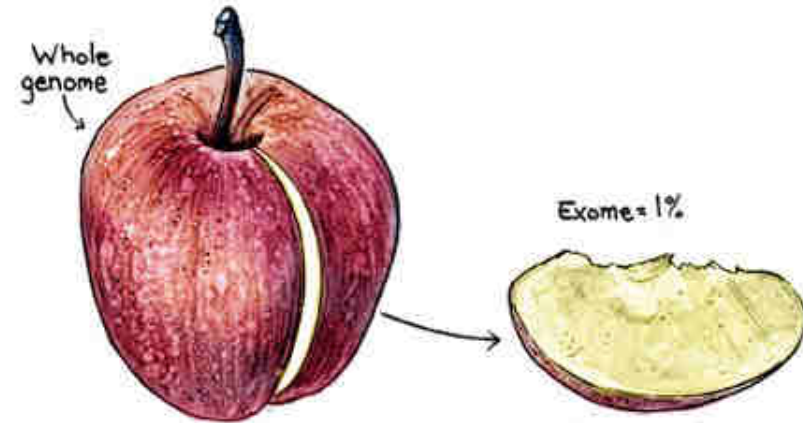
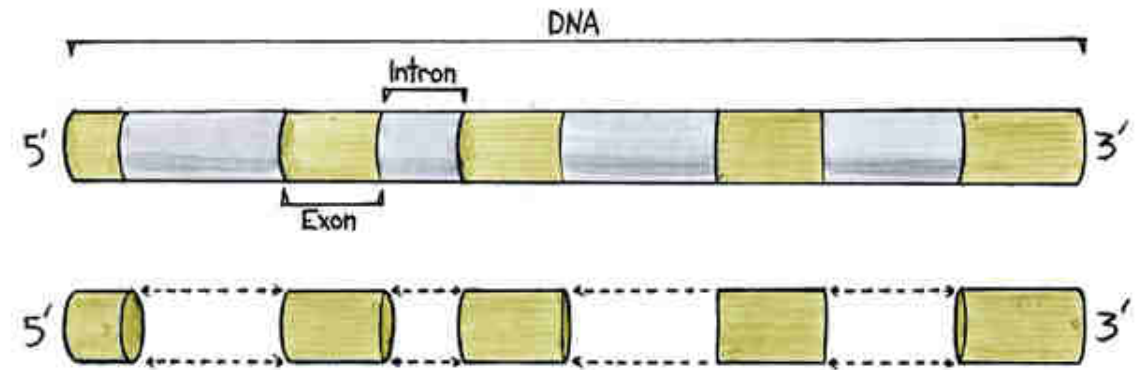
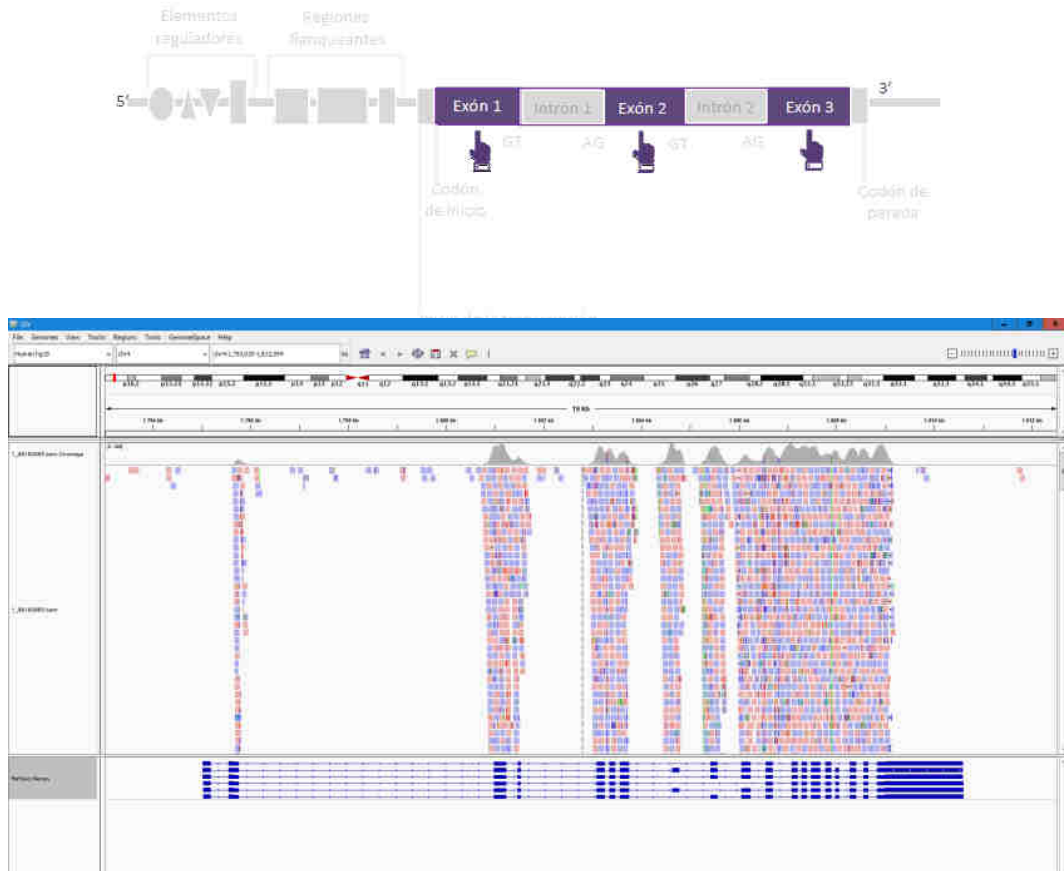


AVALUACIÓ CLÍNICA

TEST GENÉTICO

ASESORAMIENTO GENÉTICO

Resultados test genéticos: exomas



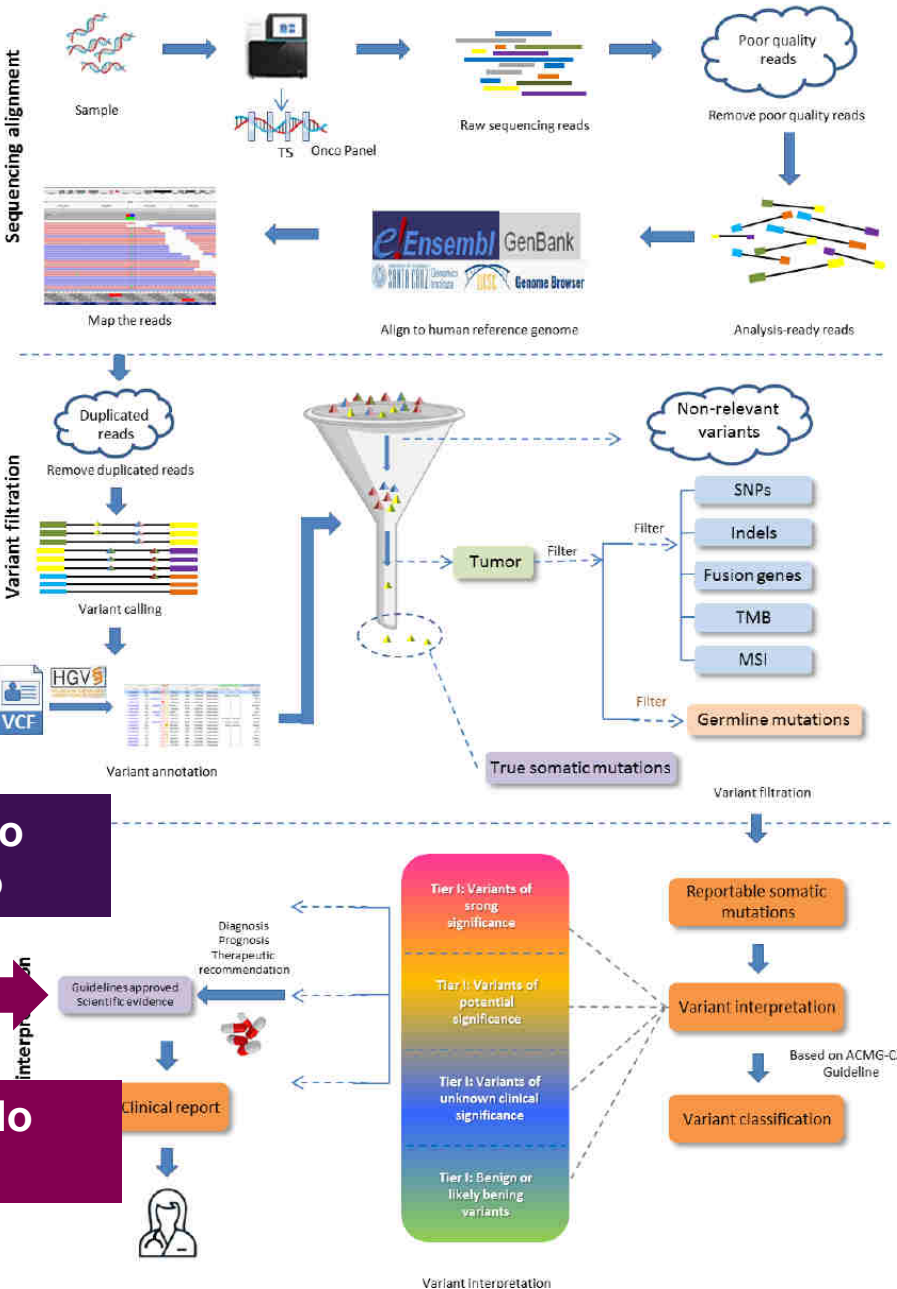
Copyright © 2012 University of Washington

Resultados test genéticos: exomas

Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology

Sue Richards, PhD¹, Nazneen Aziz, PhD^{2,16}, Sherri Bale, PhD³, David Bick, MD⁴, Soma Das, PhD⁵, Julie Gastier-Foster, PhD^{6,7,8}, Wayne W. Grody, MD, PhD^{9,10,11}, Madhuri Hegde, PhD¹², Elaine Lyon, PhD¹³, Elaine Spector, PhD¹⁴, Karl Voelkerding, MD¹³ and Heidi L. Rehm, PhD¹⁵; on behalf of the ACMG Laboratory Quality Assurance Committee

	Benign		Pathogenic			
	Strong	Supporting	Supporting	Moderate	Strong	Very Strong
Population Data	MAF is too high for disorder <i>BA1/BS1</i> OR observation in controls inconsistent with disease penetrance <i>BS2</i>			Absent in population databases <i>PM2</i>	Prevalence in affecteds statistically increased over controls <i>PS4</i>	
Computational And Predictive Data		Multiple lines of computational evidence suggest no impact on gene /gene product <i>BP4</i> Missense in gene where only truncating cause disease <i>BP1</i> Silent variant with non predicted splice impact <i>BP7</i>	Multiple lines of computational evidence support a deleterious effect on the gene /gene product <i>PP3</i>	Novel missense change at an amino acid residue where a different pathogenic missense change has been seen before <i>PM5</i> Protein length changing variant <i>PM4</i>	Same amino acid change as an established pathogenic variant <i>PS1</i>	Predicted null variant in a gene where LOF is a known mechanism of disease <i>PVS1</i>
Functional Data	Well-established functional studies show no deleterious effect <i>BS3</i>		Missense in gene with low rate of benign missense variants and path. missenses common <i>PP2</i>	Mutational hot spot, or well-studied functional domain without benign variation <i>PM1</i>	Well-established functional studies show a deleterious effect <i>PS3</i>	
Segregation Data	Non-segregation with disease <i>BS4</i>		Co-segregation with disease in multiple affected family members <i>PP1</i>	Increased segregation data →		
De novo Data				De novo (without paternity & maternity confirmed) <i>PM6</i>	De novo (paternity & maternity confirmed) <i>PS2</i>	
Allelic Data		Observed in trans with a dominant variant <i>BP2</i> Observed in cis with a pathogenic variant <i>BP2</i>		For recessive disorders, detected in trans with a pathogenic variant <i>PM3</i>		
Other Database		Reputable source w/out shared data = benign <i>BP6</i>	Reputable source = pathogenic <i>PP5</i>			
Other Data		Found in case with an alternate cause <i>BP5</i>	Patient's phenotype or FH highly specific for gene <i>PP4</i>			



Significado biológico ↔ Significado clínico ??



Información genómica: bases de datos propias

Cardiopatías
Cáncer
Hereditario



Información clínica



Información genómica

- Se ha adaptado el programa creando campos específicos para la patología y genética de cada enfermedad.
- Unificamos las familias que anteriormente se encontraban en otras bases de datos (en proceso)
- Adaptamos el sistema para generar un pdf i poder introducir el informe en la historia clínica del paciente (en proceso)

Ejemplo integración de datos genómicos-clínicos: Progeny

Datos relativos al individuo

Datos de contacto

Nombre y apellidos, genero, fecha de nacimiento, etc.

Datos de paciente

Numero CIP, NHC, Hospital, Facultativo, etc.

Historia familiar

SCD, HCM, DCM, LVNC, etc.

Historia Cardiaca

ECG, resonancia, analítica, etc.

Antecedentes patológicos

Comorbidad, tabaco, alcohol, etc.

Datos relativos a la familia

Código y nombre de familia, Diagnóstico

Evaluación molecular: Genes, variantes genéticas

Estudios moleculares

Diagnóstico y clasificación de diagnóstico.

Evaluación molecular: Genes, variantes genéticas, clasificación genética, método de secuenciación, clínica del gen, etc.

Molecular Data Entry Personal Information Cardiology Other Cardiac History Historia Clínica Adicional Family History Molecular Studies

Información del Paciente

Nombre Pedigree: TEST21-00001

Género: M

Título:

Nombre: Pau

Primer apellido: Coll

Segundo apellido:

Origen: Europa Occidental

Código de familia: 00001

Nombre de Familia: Montest

Hospital: H.U. SON ESPASES

CIP: 333111555

NHC: 123456

Fecha de nacimiento:

Edad del diagnóstico: 37

Aproximado

Fecha de Fallecimiento:

Edad de Fallecimiento:

Causa de Fallecimiento:

Gestación:

día/semana/mes

Edad actual:

Edad de fallecimiento:

Aproximado

Pedigree Created: 13/10/2021

Relación con proband: proband

Patología asociada: Hypertrophic Cardiomyopathy

Clasificación diagnóstica: Clinically affected

Derivación de pruebas genéticas:

resultado genético pendiente

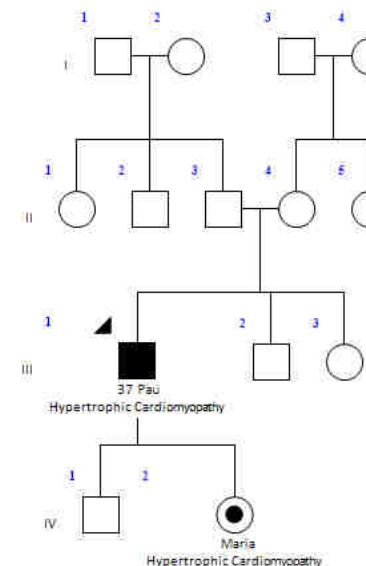
Fecha pedido:

Facultativo:

Diagnóstico:

Genetic Analysis

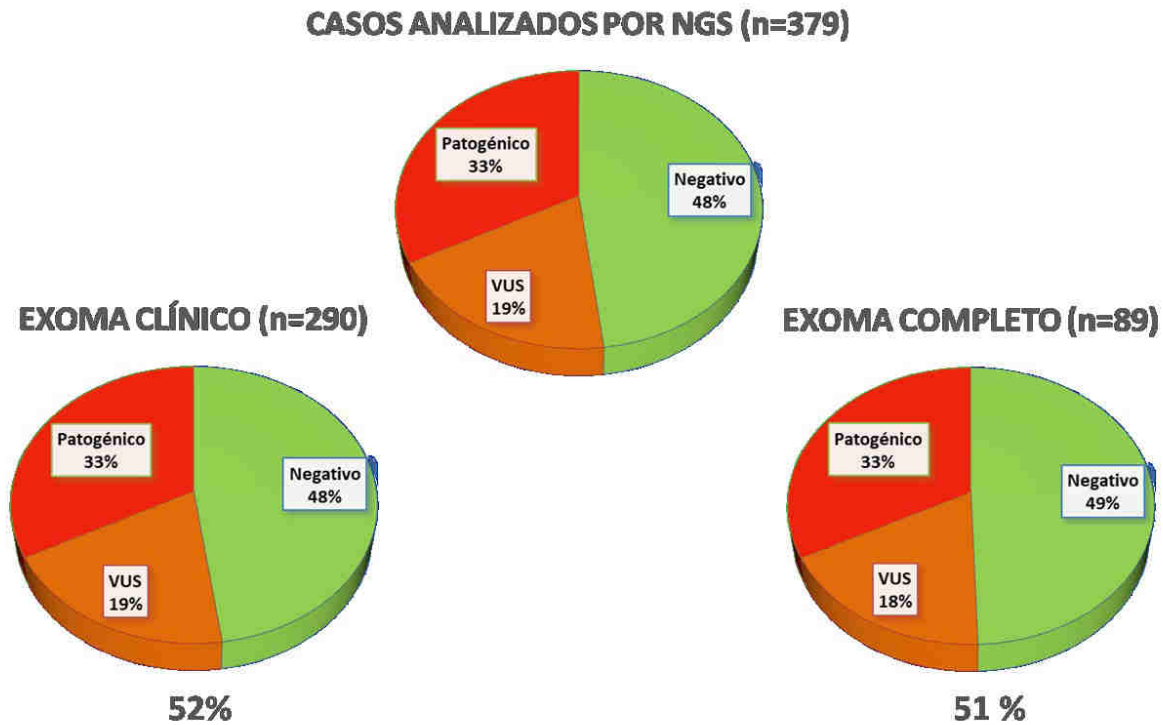
Date Reported	Sequencing	Total genes	Panel	Gene_CAR	Reference Transcript	Variant (mRNA)	Variant (Protein)	ACMG Classification	Gene-associated Pathologies	Zygosity	Laboratory
03/06/2019	WES		MYBPC3, TNNI3, MYH7, TNNT	MYBPC3	NM_000247.2	c.2198G>A	p.Arg733His	Likely Pathogenic	Hypertrophic Cardiomyopathy	Heterozygous	UDMGC
03/06/2019	WES		MYBPC3, TNNI3, MYH7, TNNT	TNNI3	NM_000363.4	c.150+9G>A		VUS	Hyperthrophic Non-Compacted	Heterozygous	UDMGC



Code 00001

Nombre de Familia: Montest	Creado 2021-10-13
Description test:	
Diagnóstico: Hypertrophic cardiomyopathy	Gen MYBPC3

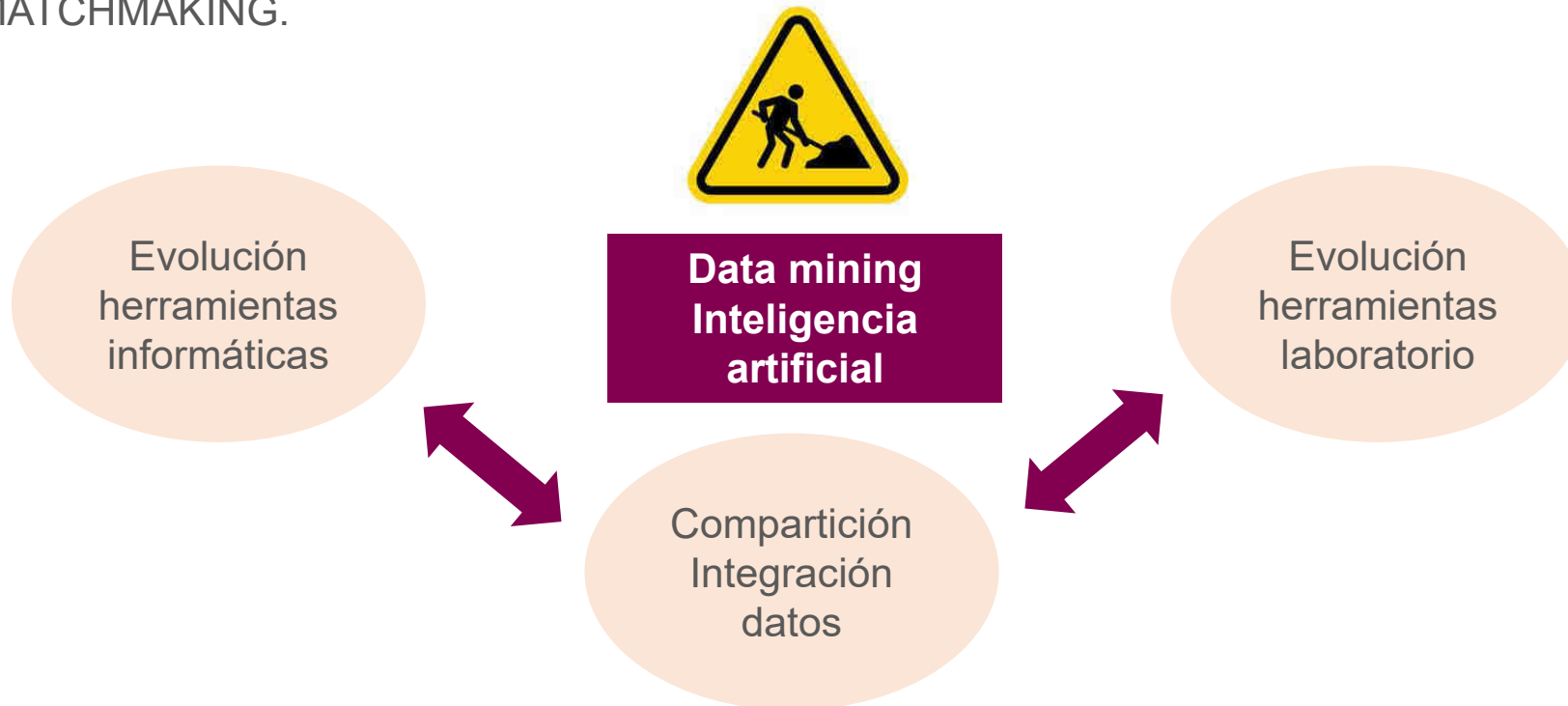
Rendimiento diag



- En casos claros de causa genética, el rendimiento diagnóstico del exoma completo ronda el 50% de los casos.
- En un periodo de 3 años, el rendimiento aumenta un 10% debido al mayor conocimiento sobre las causas genéticas de las enfermedades.
- Anualmente se clasifican 10.000 variantes y se descubren 250 nuevas asociaciones gen-patología.

Mejora del rendimiento diagnóstico

- Colaboración genetistas-clínicos mejora el rendimiento con incrementos de hasta el 12%.
- Nuevas herramientas informáticas.
- Estudios de co-segregación en las familias.
- Plataformas que comparten información fenotípica y genotípica para identificar pacientes con mismos fenotipos y genes implicados: MATCHMAKING.



Limitaciones exomas

Mosaicismo

Inserciones/
Deleciones

Reordenamientos
cromosómicos

Splicing

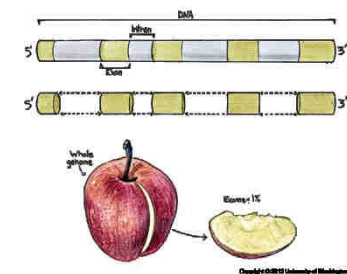
Patrones de
herencia
poco
frecuentes

Mechanism	Perspective for Solutions ^a	Mechanism Subcategory	Description	Approaches
Mosaicism	horizon	tissue-specific mosaicism	mosaic manifestations of Mendelian disorders; disorders that manifest only as mosaicism	deep sequencing of multiple tissues
Genomic alterations	horizon	small insertions/deletions	small structural changes missed by ES and microarray (<50 bp)	GS
		large insertions/deletions	larger structural changes missed by ES and microarray (>50bp)	GS
		chromosomal rearrangements	inversions/translocations; multiple deletions/duplications	GS
		repeat expansions	triplet and other expansions	long-read GS
		transposable elements (retrotransposons)	genomic sequences that copy and paste into locations throughout the genome (such as mobile element insertions)	novel approaches to data analysis
Gene regulation	horizon	splicing mutations	synonymous or splice site or intronic mutations	GS, RNA sequencing (RNA-seq)
		imprinting	altered parent-of-origin specific expression pattern	methylation arrays
	next frontier	regulatory DNA mutations	promoter, enhancer, and other regulatory mutations	GS, RNA-seq, High-C, prediction tools
		noncoding RNA mutations	intronic, intergenic, and antisense RNAs (e.g., microRNAs, small nucleolar RNAs [snoRNAs])	novel approaches to data analysis
		mutations that alter post-transcriptional or post-translational modifications	altered RNA or protein modifications that impact stability or catalytic function	novel approaches to data analysis
Complex inheritance	horizon	unusual or less common inheritance patterns	sex-limited expression, paradoxical inheritance, necessary but not sufficient CNVs, uniparental disomy	novel approaches to data analysis
	next frontier	genetic modifiers	allele from one gene reduces or exacerbates the penetrance or expressivity of phenotype associated with another gene	novel approaches to data analysis; validation in model organisms
		gene-environment interaction	rare susceptibility allele combined with environmental trigger	environmental exposure data capture, validation in model organisms, metabolomics
		maternal effects	mutation in the mother results in altered fetal environment	environmental-exposure data capture; validation in model organisms
		digenic, oligogenic, or polygenic	interaction of two or more genes	novel approaches to data analysis; validation in model organisms

^aHorizon: near-term (within 5 years); frontier: longer-term (5 years and beyond).



Estudio piloto para la implementación de la secuenciación del genoma completo (WGS) en la rutina diagnóstica



Se seleccionaron 20 pacientes con los criterios de inclusión siguientes:

- 1) Array 60k y/o Exoma (WES o TS One) realizado con resultados negativos.
- 2) Exoma (WES o TS One) realizado con gen candidato con herencia autosómica recesiva (una sola variante en heterozigosis).
- 3) Array 60k y/o Exoma (WES o TSONe) realizado con resultados que no explican (íntegramente) el fenotipo.

Caso	Fenotipo	Resultados previos	Motivo del estudio	Resultados positivos WGS				
				Gen	Tipo de variante detectada	Variante	Patología asociada	Herencia
1	Dilatación aórtica/Marfan	TS ONE (intuye la delección)	Comprobar la delección	NOTCH1	CNV (deletion 115 kb)	Del chr9:139,403,225-139,518,338/+	Aortic Valve Disease (OMIM 109730)	Autosómico Dominante
2	Pseudohermafroditismo	TS ONE: HSD17B3 p.(Ala200Val) /+ LP	Encontrar la 2ª mutación	HSD17B3	SNV (deep intronic)	c.822+1193C>T/+ Donor Gain Splice AI Score: 0.8 Distance: 2 VUS	Pseudohermaphroditism (OMIM 264300)	Autosómico recesivo
3	Hipotonía/Enfermedad mitocondrial	TS ONE: VUS SUC1G1 p.(Gly301Arg) /+	Encontrar la 2ª mutación	SUC1G1	SNV (deep intronic)	c.589+1018G>A 2a Acceptor Gain Splice AI Score: 0.7 Distance: 2 VUS	Mitochondrial DNA depletion syndrome 9 (OMIM 245400)	Autosómico recesivo
4	Ataxia	TS ONE: VUS SLC1A3 p.(Met307Val) /+ Ataxia episódica AD	No explica adecuadamente el fenotipo	KCNK3	SNV (codificante)	c.151T>G / p.Ser51Ala VUS	Spinocerebellar ataxia 13 (OMIM 605259)	Autosómico dominante
5	Amaurosis congénita, atrofia cerebelosa, sordera, displasia ósea	WES: NEGATIVO	Encontrar causa del fenotipo	NMNAT1 ²	SNV + SV (splicing + tandem duplicación)	PAT c.439+SG>T/+ Dup chr1:9,976,141-9,983,607 (7,5 kb)	Leber congenital amaurosis 9 (OMIM 608553)	Autosómico recesivo
6	Retraso en el desarrollo, retinopatía, epilepsia	WES: VUS NDP c.377G>C Cys126Ser/Y Síndrome de Norrie XLR	No explica adecuadamente el fenotipo	TCF4	Expansión STR	PAT chr18:53,253,387-53,253,458 (CAG) ₅₈	Corneal dystrophy, Fuchs endothelial, 3 (OMIM 613267)	Autosómico dominante



Resultados genoma completo

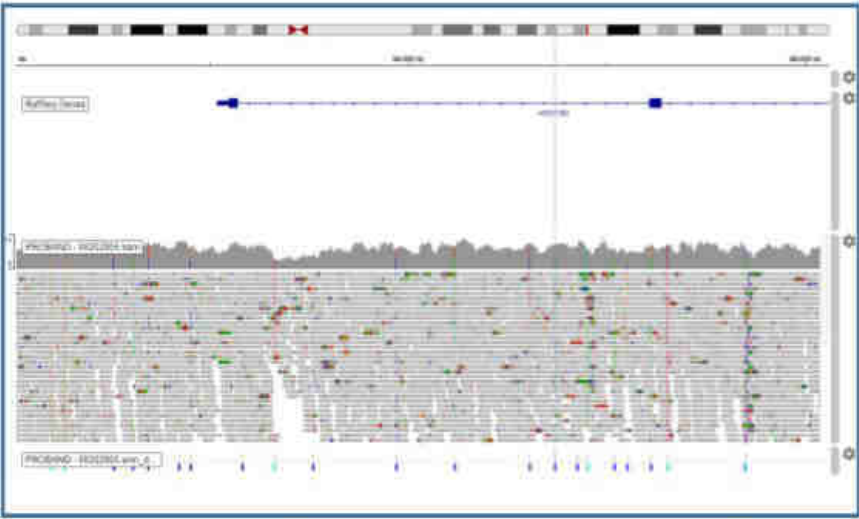
Conclusiones :

Mejora la cobertura del exoma



WGS

Permite detectar variantes deep-intronic



Detecta CNVs y SVs de forma fiable



y también detecta expansión de STRs:



Conclusiones

- ✓ En la actualidad existen dificultades en el diagnóstico de enfermedades minoritarias tanto desde el punto de vista clínico como desde el punto de vista de la genética.
- ✓ La enorme complejidad del genoma humano y la falta de conocimiento implican que no se pueden diagnosticar genéticamente a todos los pacientes y en los próximos años se deberán ir incorporando mejoras en las técnicas genómicas y en la integración de datos para mejorar el diagnóstico.
- ✓ El flujo de trabajo vehiculado con los comités específicos para cada enfermedad incrementan el rendimiento diagnóstico.
- ✓ En un futuro próximo se realizarán test genéticos para enfermedades de causa genética, farmacogenética, estudio alteraciones somáticas y se aplicará big data a los análisis.





MUCHAS GRACIAS

antonia.obrador@ssib.es

Antònia Obrador

Unidad de Diagnóstico Molecular y Genética Clínica
Unidad de Genética y Genómica de las Islas Baleares
HOSPITAL UNIVERSITARI SON ESPASES