

MIOPATÍAS CONGÉNITAS: ASPECTOS GENÉTICOS



Dra. Pia Gallano
Dra. Lidia Gonzalez-Quereda
Maria José Rodriguez

Servicio de Genética
Hospital de Sant Pau
Barcelona



INTRODUCCIÓN

Las enfermedades musculares de inicio temprano que se presentan generalmente desde el nacimiento incluyen tres grandes categorías:

- Miopatías Congénitas (MC)
- Síndromes Miasténicos Congénitos (SMC)
- Distrofias Musculares Congénitas (DMC)

Algunas MC asocian alteraciones a nivel de la unión neuromuscular.

En ocasiones es difícil diferenciar clínicamente una MC de un SMC → los fenotipos clínicos están solapados

Todas ellas son “Enfermedades Raras”: MC prevalencia de 1:22.000 a 1:28.000

DIAGNÓSTICO GENÉTICO ¿POR QUÉ?

Confirmar/Excluir el diagnóstico clínico

- Distinguir las entidades con un cuadro clínico semejante

Mutaciones en genes diferentes pueden originar un cuadro clínico parecido:

→ **HETEROGENEIDAD GENÉTICA**.

“UNA ENFERMEDAD” → varios genes posibles

Enfermedades clínicamente diferentes pueden provenir de mutaciones en un mismo gen:

→ **HETEROGENEIDAD FENOTÍPICA** o *variabilidad clínica*.

VARIAS ENFERMEDADES → un mismo gen

Miopatías Congénitas

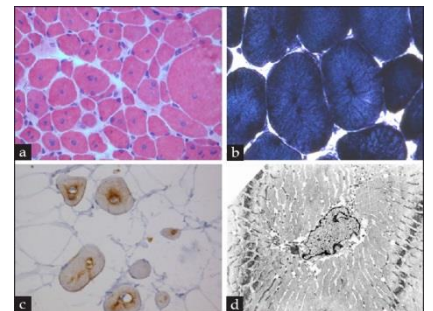
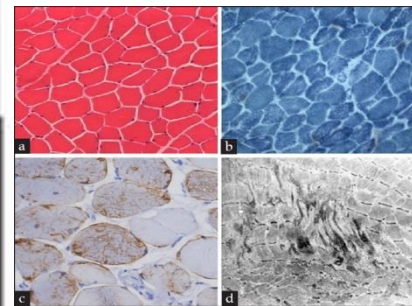
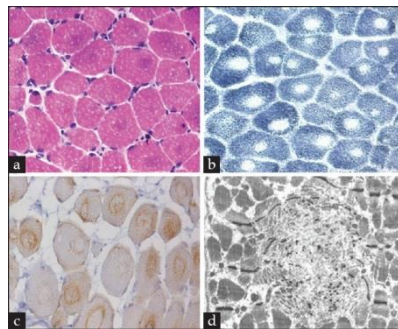
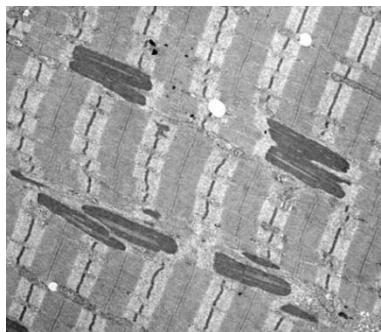


M. Nemalínicas

M. Central Core

M. Multiminicore

M. Centronuclear



PRINCIPALES GRUPOS DE MIOPATÍAS CONGÉNITAS (CM)

MC con desorganización estructural tipo “cores”

Miopatía con cores centrales : *RYR1*, *MYH7*, *CCD8*

Miopatía con multiminicores: *SEPN1*, *RYR1*, *TTN*

MC con núcleos centrales

Miopatía miotubular (MTM): *MTM1*

Miopatías centronucleares AD: *DNM2*

Miopatías centronucleares AR: *BIN1*

Miopatía fibras en collar: *MTM1*

MC con inclusiones y/o agregados proteicos

Miopatía nemalínica (NM): *ACTA1*, *NEB*, *TPM2*, *TPM3*, *CFL2*, *TNNT1*, *KBTBO13*

Cap disease: *TPM2*, *TPM3*, *ACTA1*

Miopatía con agregados de filamentos de actina, Actinopatías: *ACTA1*

Miopatía con acumulación de miosin: *MYH7*

Cuerpos citoplasmáticos, Miopatía con reducción de cuerpos...

MC con desproporción del tipo de fibra

Miopatía con desproporción de tipos de fibras: *TPM3*, *TPM2*, *ACTA1*, *RYR1*

Formas raras

Agregados tubulares, Espirales cilíndricas, sarcotubular...

PRINCIPALES GRUPOS DE SÍNDROMES MIASTÉNICOS CONGÉNITOS (SMC)

Síndromes presinápticos

CHAT, SYT2, SNAP25, SLC18A3, SLC5A7, MYO9A

Síndromes sinápticos

COLQ, LAMB2, AGRIN, COL13A1

Síndromes postsinápticos

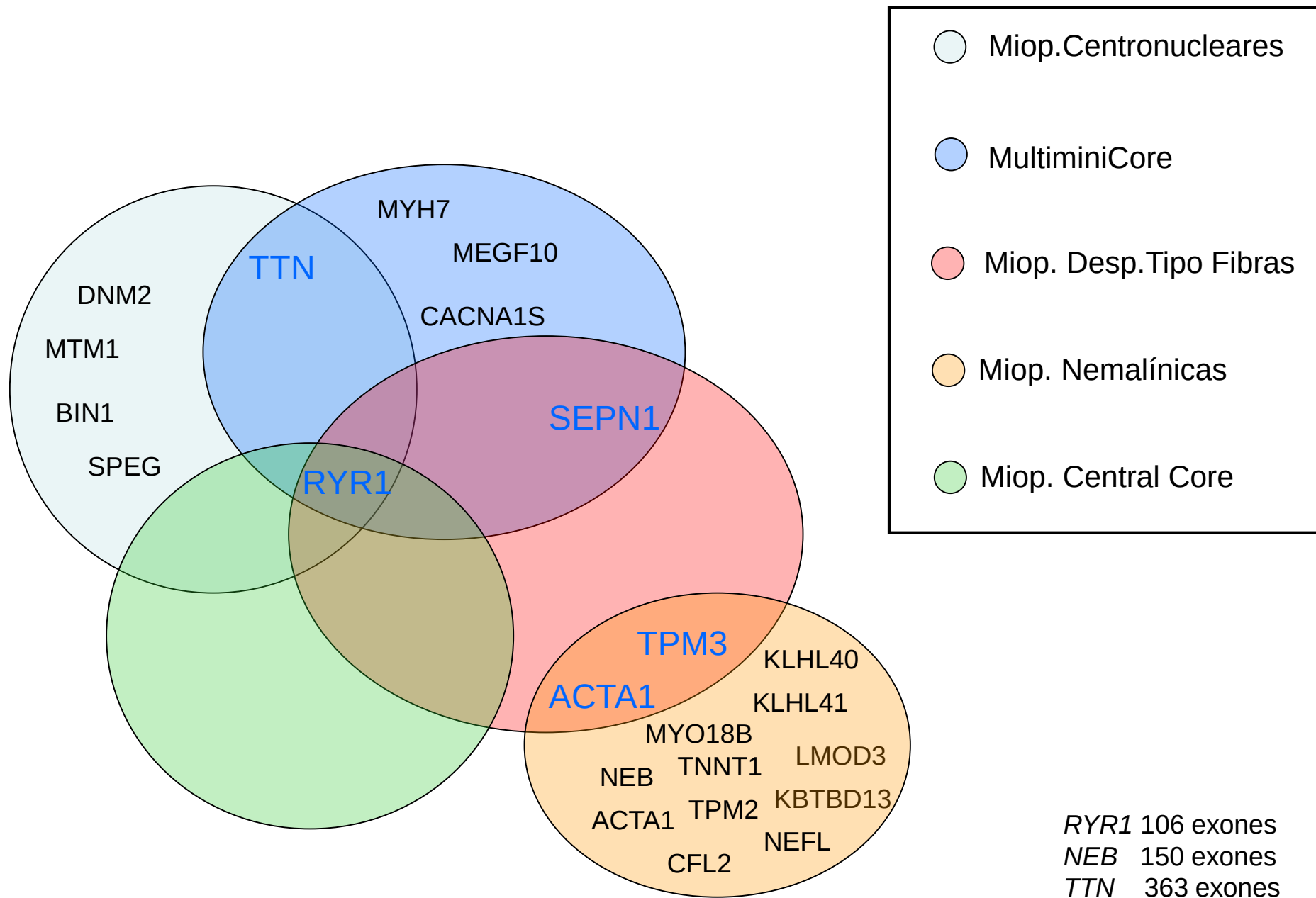
CHRNA1, CHRNB1, CHRND, CHRNE, CHRNG, RAPSN, DOK7, MUSK, LRP4, PLEC, COL13A1, SC4A

Defectos congénitos de la glicosilación de proteínas

GFPT1, DPAGT1, ALG2, ALG12, GMPPB

Otros SMC

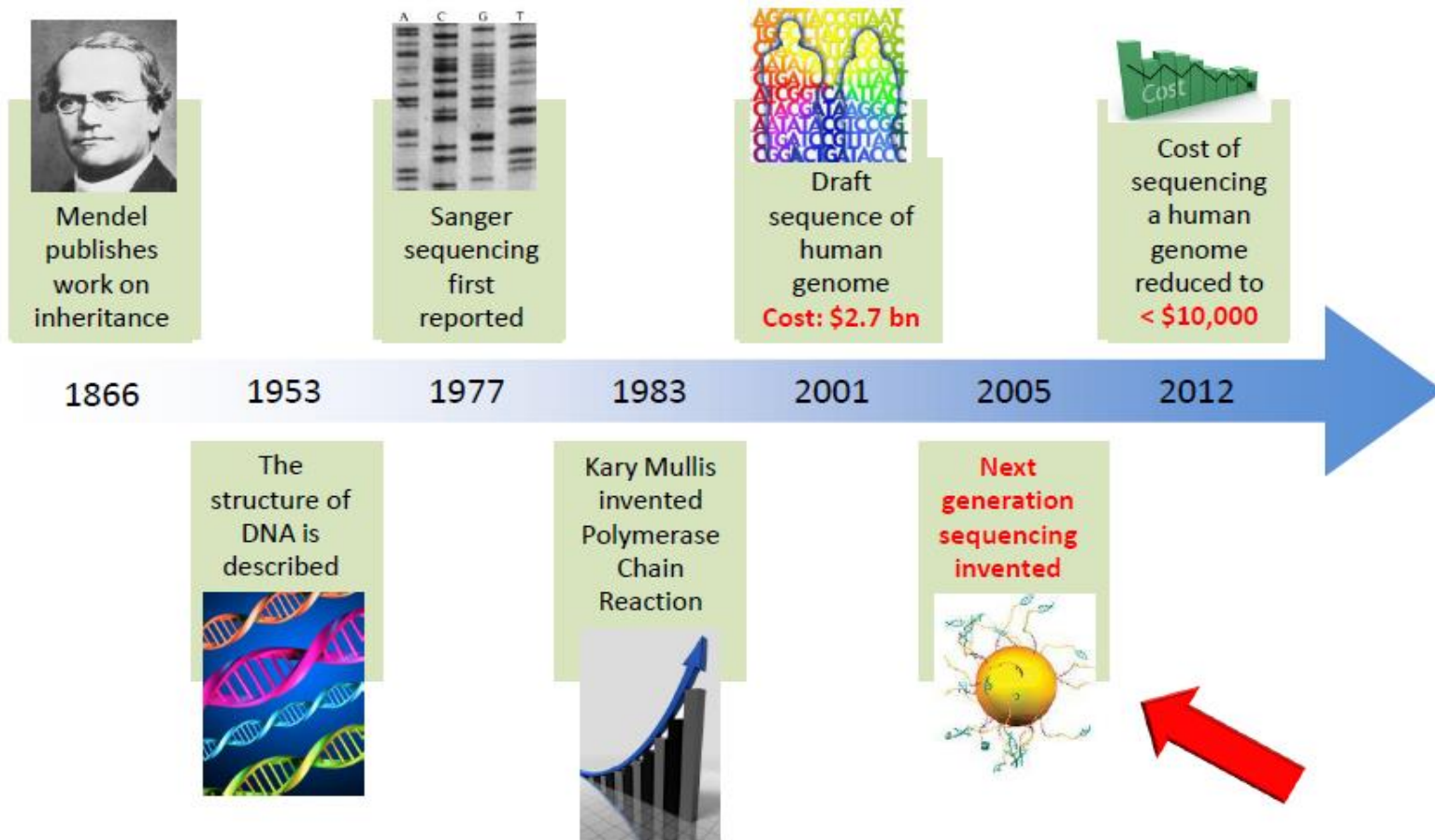
PREPL





SECUENCIACIÓN DEL ADN

Landmarks in Genetics



NGS: tres aproximaciones diferentes

¿Cuándo se deben utilizar? ¿Cuál es su utilidad en el diagnóstico?

SECUENCIACIÓN DE PANELES DE GENES ESPECÍFICOS (PS)

- Análisis de docenas a cientos de genes
- Hasta 96 muestras (códigos de barras)
- Cobertura ALTA-> sensibilidad y especificidad muy altas
- Bajo coste
- No hallazgos inesperados (*“unsolicited findings”*)
- Aplicación directa la diagnóstico
- No bioinformático
- Necesitan actualización regular
- Agrupar muestras para optimizar costes

SECUENCIACIÓN DE EXOMA COMPLETO (WES)

- Análisis de las secuencias codificantes de todos los genes
- No requiere actualización. Se pueden reanalizar los datos
- No restringido a genes conocidos
- “kits” comerciales disponibles
- Mismo experimento para cualquier enfermedad
- Cobertura/sensibilidad/especificidad menor que PS
- Costes mas elevados
- Puede haber hallazgos inesperados
- Requiere bioinformático

SECUENCIACIÓN DE GENOMA COMPLETO (WGS)

- Incluye las zonas no codificantes y regiones intergénicas
- No hace falta enriquecimiento
- Servicios comerciales atractivos
- Infraestructura: ordenadores, almacenaje de datos
- Cobertura/sensibilidad/especificidad aun menor
- Análisis e interpretación de datos larga y complicada
- Hallazgos inesperados
- Costes aun mas elevados

TRUSIGHT ONE: EXOMA CLÍNICO

Cumulative target region size	12 Mb
Number of target genes	4,813
Number of target exons	~62,000
Probe size	80-mer
Number of probes	125,395
Target minimum coverage	20x



SECUENCIACIÓN DE PANELES DE GENES

Los paneles de genes nos permiten obtener:

- Altas coberturas
- No hay hallazgos inesperados
- No son indispensables conocimientos bioinformáticos avanzados
- Tienen una aplicación directa al diagnóstico
- Son una herramienta muy útil para aquellas patologías que presentan una alta heterogeneidad clínica y genética, con muchos genes implicados y/o genes de gran tamaño.



PANEL DE GENES MIOPATÍAS DE DISEÑO PROPIO

AARS	CHRND	DYNC1H1	KLHL9	NEB	SPEG
ACTA1	CHRNE	DYSF	LAMA2	PABPN1	STIM1
ACVR1	CHRNA1	EMD	LAMB2	PLEC	SYNE1
AGRN	CNTN1	FHL1	LAMP2	PLEKHG5	SYNE2
ALG13	COL12A1	FKRP	LARGE	POMGNT1	SYT2
ALG14	COL6A1	FKTN	LDB3	POMT1	TCAP
ALG2	COL6A2	FLNC	LMNA	POMT2	TIA1
ANO5	COL6A3	GAA	LMOD3	POMT2	TMEM43
B3GALNT2	COLQ	GARS	LRP4	PREPL	TMEM5
B3GNT1	CRYAB	GFPT1	MEGF10	PTPLA	TNNT1
BAG3	DAG1	GMPPB	MSTN	PTRF	TNPO3
BIN1	DES	GNE	MTM1	RAPSN	TPM2
CAPN3	DMD	GTDC2	MTMR14	RYR1	TPM3
CAV3	DNAJB6	HSPB8	MUSK	SCN4A	TRIM32
CCDC78	DNM2	IGHMBP2	MYBPC3	SEPN1	TRPV4
CFL2	DOK7	ISPD	MYF6	SGCA	TTN
CHAT	DPAGT1	ITGA7	MYH2	SGCB	VCP
CHKB	DPM1	KBTBD13	MYH7	SGCD	
CHRNA1	DPM2	KLHL40	MYO18B	SGCG	
CHRNA1	DPM3	KLHL41	MYOT	SGK196	

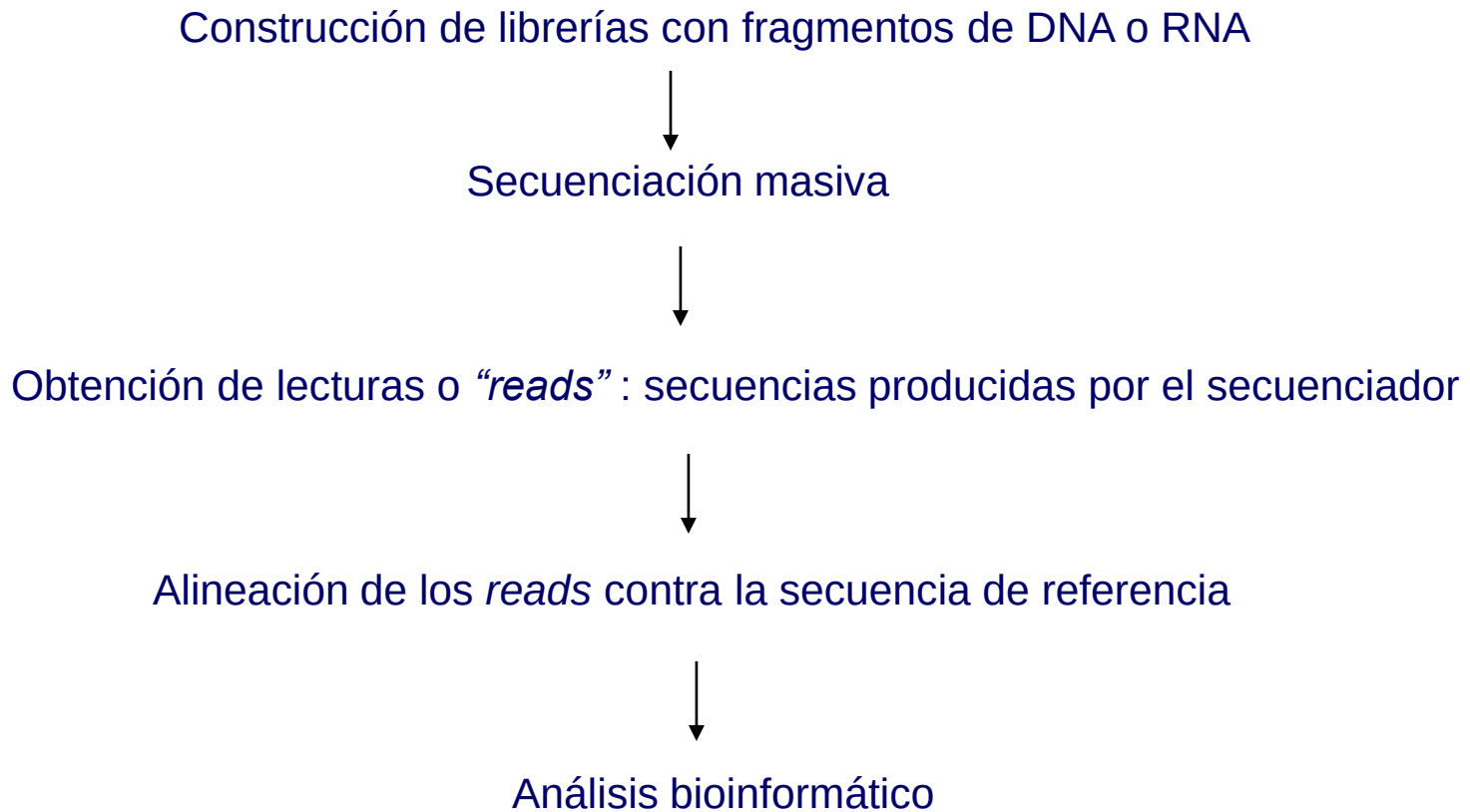
SECUENCIACION MASIVA O DE NUEVA GENERACION: NGS

Tecnología con capacidad de secuenciar millones de fragmentos de DNA o RNA de forma paralela.

La detección de variantes genéticas, a partir de los datos de NGS, consiste en identificar diferencias en la secuencia del DNA de un individuo (paciente) comparada con una secuencia de referencia (individuo sano).

ETAPAS:

- 1) Secuenciación y ensamblamiento: *“FastQ”*
- 2) Alineamiento respecto a la secuencia de referencia: *“Bam”*
- 3) Detección de las variantes: *“Variant Calling File, VCF”*
- 4) Análisis de los datos



COBERTURA: número de veces que cada base del genoma está presente en los *reads*.
Uno de los factores determinantes para evaluar la fiabilidad de la presencia del nucleótido en esa posición del genoma del paciente

PANEL DE GENES DE DISEÑO PROPIO

Contiene 115 genes que representan 646,7 Kb

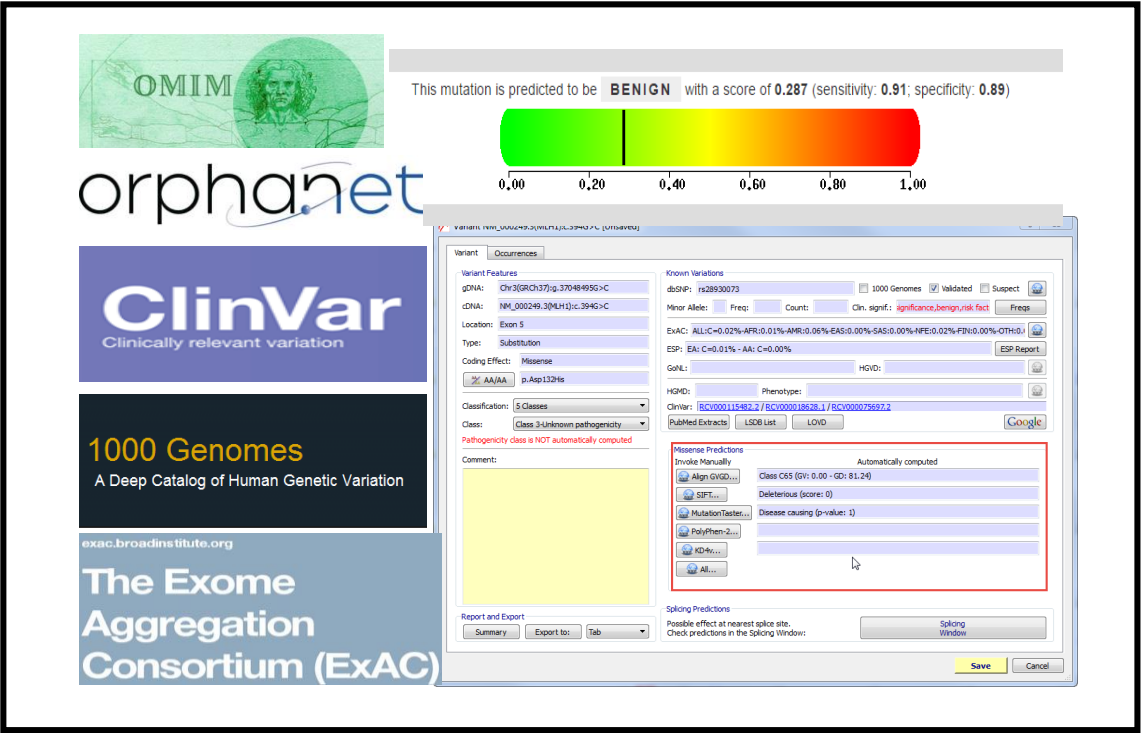
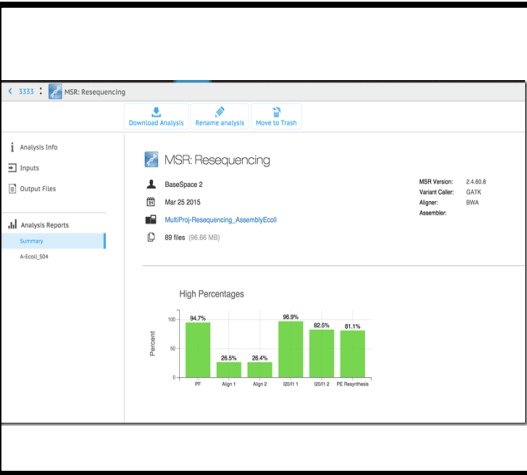
Cobertura Media = 249X

Uniformidad de Cobertura = 95,3%

Región a cobertura mínima 20X = 97,8%

Región a cobertura mínima 50X = 94%

SECUENCIACIÓN DEL ADN



A screenshot of a genome browser showing a genomic track. The track displays various genomic features, including genes, exons, and introns. The track is labeled "Genome" and "Genes". The track shows a list of genes and their corresponding genomic coordinates. The track also shows a list of exons and introns, with their respective coordinates and lengths. The track is a detailed view of a specific genomic region, showing the relationship between the DNA sequence and the genes it encodes.

PRIORIZACIÓN DE VARIANTES

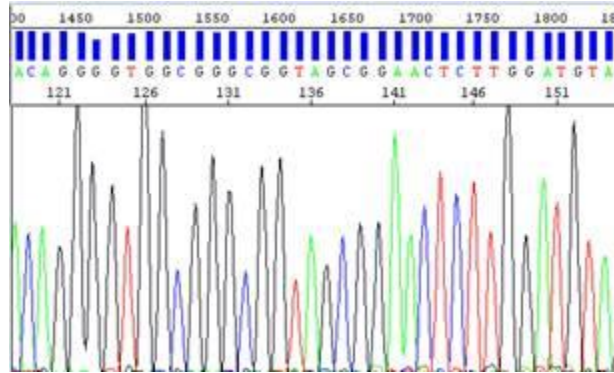
Calidad	Cobertura, Phred-Score, IGV...
Concordancia Fenotípica	Genes relacionados con los rasgos clínicos y anatomopatológicos descritos
Función	Tipo de variante : missense, nonsense, frameshift... Localización genómica: exón, zonas intrónicas flanqueantes Predictores de patogenicidad: ALAMUT
Población	Bases de datos específicas Base de datos local Bases de datos internacionales :dbSNP, EXAC, ClinVar

ANÁLISIS DE LA PATOGENICIDAD

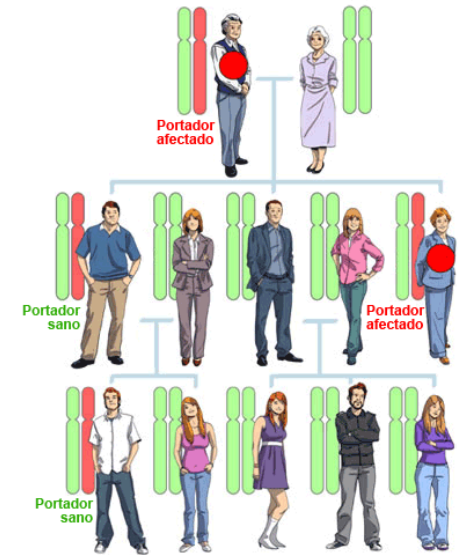
Re-evaluación Clínica



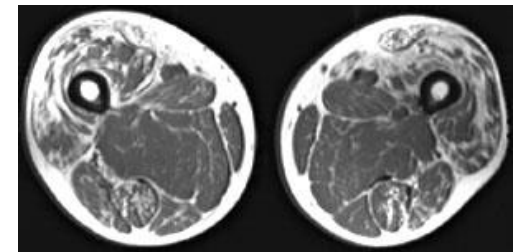
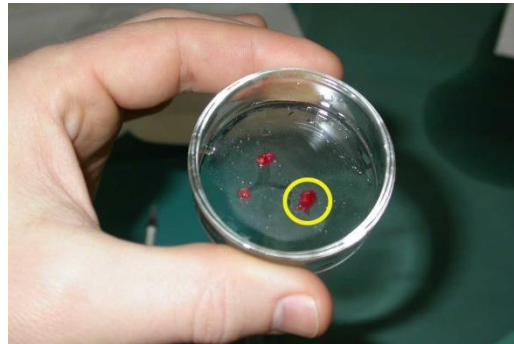
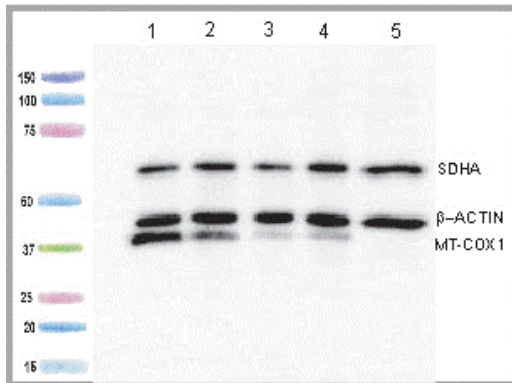
Confirmación Sanger



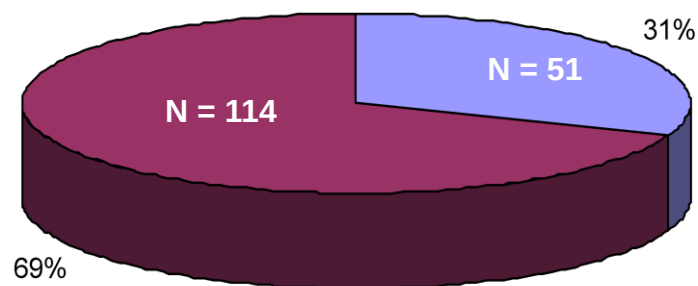
Segregación en la familia



Pruebas adicionales



RESULTADOS



■ Familias diagnosticadas 114

■ Familias no diagnosticadas 51

Familias en curso 12

<i>RYR1</i> : 17 familias	3 familias: <i>MYH7</i>	2 familias: <i>VCP</i>	1 familia: <i>SEPN</i>	<i>GBE1</i>
<i>TTN</i> : 17 familias	<i>RAPSN</i>	<i>DAG1</i>	<i>TNPO3</i>	<i>SCN4A</i>
<i>COL6A1</i> : 7 familias	<i>LAMA2</i>	<i>MYOT</i>	<i>CHRNA1</i>	<i>NEB</i>
<i>COL6A3</i> : 6 familias	<i>ACTA1</i>	<i>COLQ</i>	<i>CHNRD</i>	<i>GMPPB</i>
<i>ANO5</i> : 5 familias	<i>CAPN3</i>	<i>SYNE2</i>	<i>CHNRE</i>	<i>GNE</i>
<i>COL6A2</i> : 4 familias	<i>DES</i>	<i>GFPT1</i>	<i>CHNRG</i>	<i>TPM2</i>
	<i>DNM2</i>		<i>MYH2</i>	<i>LMNA</i>
			<i>PLEKHG5</i>	<i>TIA1</i>
			<i>PLEC</i>	<i>LDB3</i>
			<i>FKRP</i>	<i>FLNC</i>
			<i>MTM1</i>	<i>PNPLA2</i>
			<i>DOK7</i>	

La identificación de las causas genéticas de estas enfermedades es esencial tanto para el paciente, como su familia y su neurólogo/neuropediatra.

- Llegar a un diagnóstico preciso
- Establecer un pronóstico
- Establecer el modo de herencia de la enfermedad
- Riesgo de recurrencia, estudios familiares y/o prenatales
- Apropiado manejo de la enfermedad
- Establecer una terapia efectiva cuando sea posible
- Inclusión en ensayos clínicos

Es más que una lista de genes....



- Promueve colaboraciones interdisciplinarias
- Amplía las correlaciones genotipo-fenotipo
- Mejora el conocimiento de la etiología de las enfermedades

Servicio Neurología. Hosp Sant Pau

Dr Jordi Diaz Manera

Dr Eduard Gallardo

Servicio Neuropediatría. Hosp Sant Joan Deu

Dr Andres Nascimento

Dr Carlos Orteiz

Dr Daniel Natera

Servicio Neuropediatría. Hosp Valle Hebrón

Dra Francina Munell

Servicio Anatomía Patológica. Hosp Bellvitge

Dra Montse Olivé

Servicio Medicina Interna/Genética. Hosp Clínic

Dr José Milisenda

Dr Josep M^a Grau

Dra Aurora Sánchez

Servicio Neurología. Hosp Donostia

Dr Juanjo Poza

Dr Adolfo López de Munain

Servicio Neurología. Hosp V. Camino, Pamplona

Dra Ivonne Jericó

Dra Laura Torné

Servicio Genética. Hosp Cruces, Bilbao

Dra Isabel Tejada

Servicio Genética. Hosp Son Espasses , Palma Mallorca

Dr Jordi Rosell

Servicio Genética. Hosp Clinico San Carlos, Madrid

Dra Raluca Onaecea

Servicio de Neurología. Hosp Alcorcón, Madrid

Dra Asuncion García Pérez

Servicio de Neuropediatría. Hosp. Ramón y Cajal, Madrid

Dr Gustavo Lorenzo

Servicio de Neurología. Hosp La Fe, Valencia

Dr Miguel Tomás Vila

Dra Inmaculada Pitarch

Servicio Genética. Hospital Marques de Valdecilla, Santander

Dr Jose Luis Fernandez Luna

Dr Ion Infante

Servicio de Genética. Hosp. V. Arrixaca, Murcia

Dra Mary Ballesta

Servicio de Neuropediatría. Hosp. V. del Rocío, Sevilla

Dr Marcos Madruga

Servicio de Neurología. Hosp Univ, Santiago de Chile

Dr Jorge Bevilacqua

Servicio de Neuropediatría. Hosp Univ Cagliari, Cerdeña

Dra Analía Frongia