

CARRIER SCREENING

PRO

Xavier Estivill

Hospital Universitari Quirón Dexeus
Centre de Regulació Genòmica
Barcelona



DIVENDRES, 31 d'octubre 2014

Saben els pacients el que mirem sobre el seu futur fill?



Quina **informació** reben les parelles que es reproduïxen sobre la salut del seu futur fill?

Quan monitoritzem un embaràs i diem que tot és normal, quina es la **percepció** real dels pares?

Quan fem **screening bioquímic** per risc de malaltia en el futur fill quina percepció hi ha del que es mira?

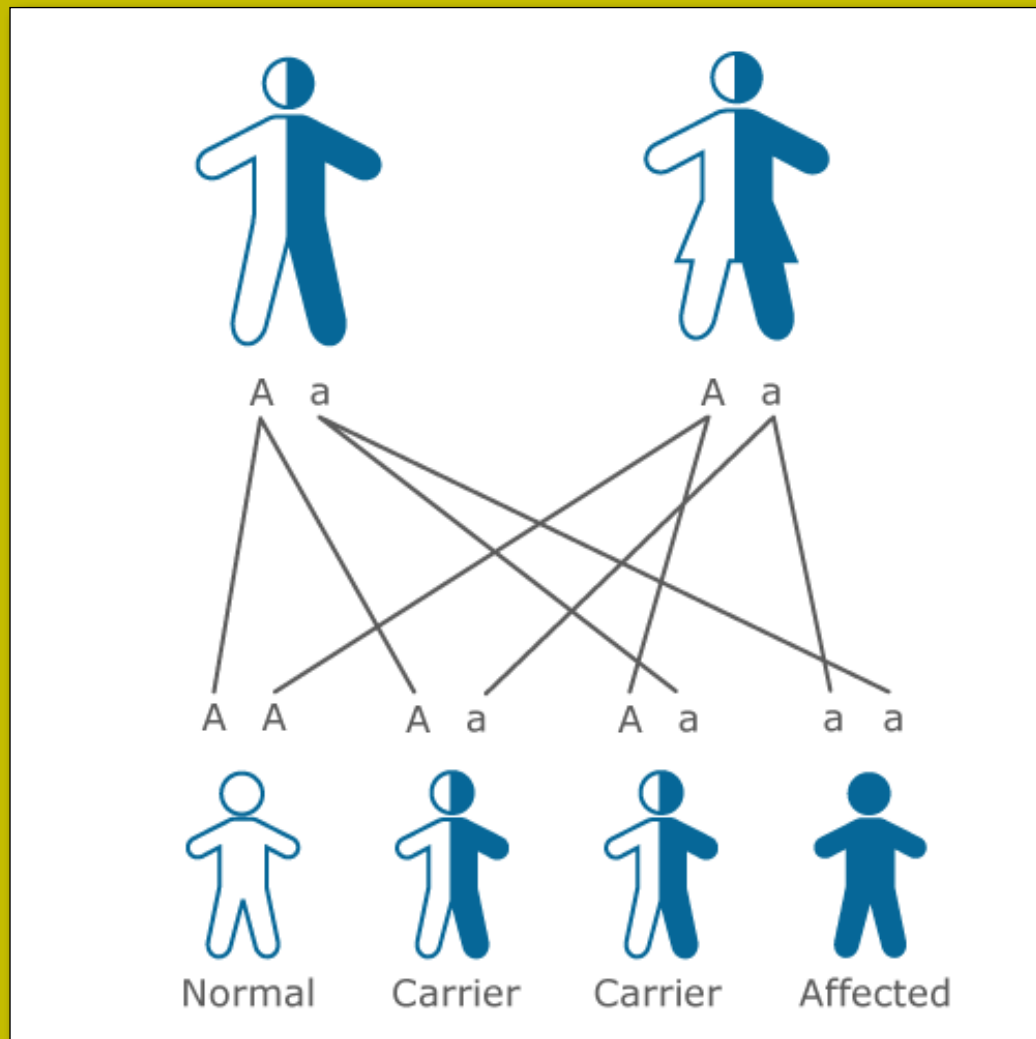
Quan fem **diagnòstic prenatal** (invasiu i no invasiu) per risc de malaltia en el futur fill, quina percepció real hi ha del que s'ha avaluat amb les proves fetes?

Quines **motivacions** hi ha per a la detecció de portadors?

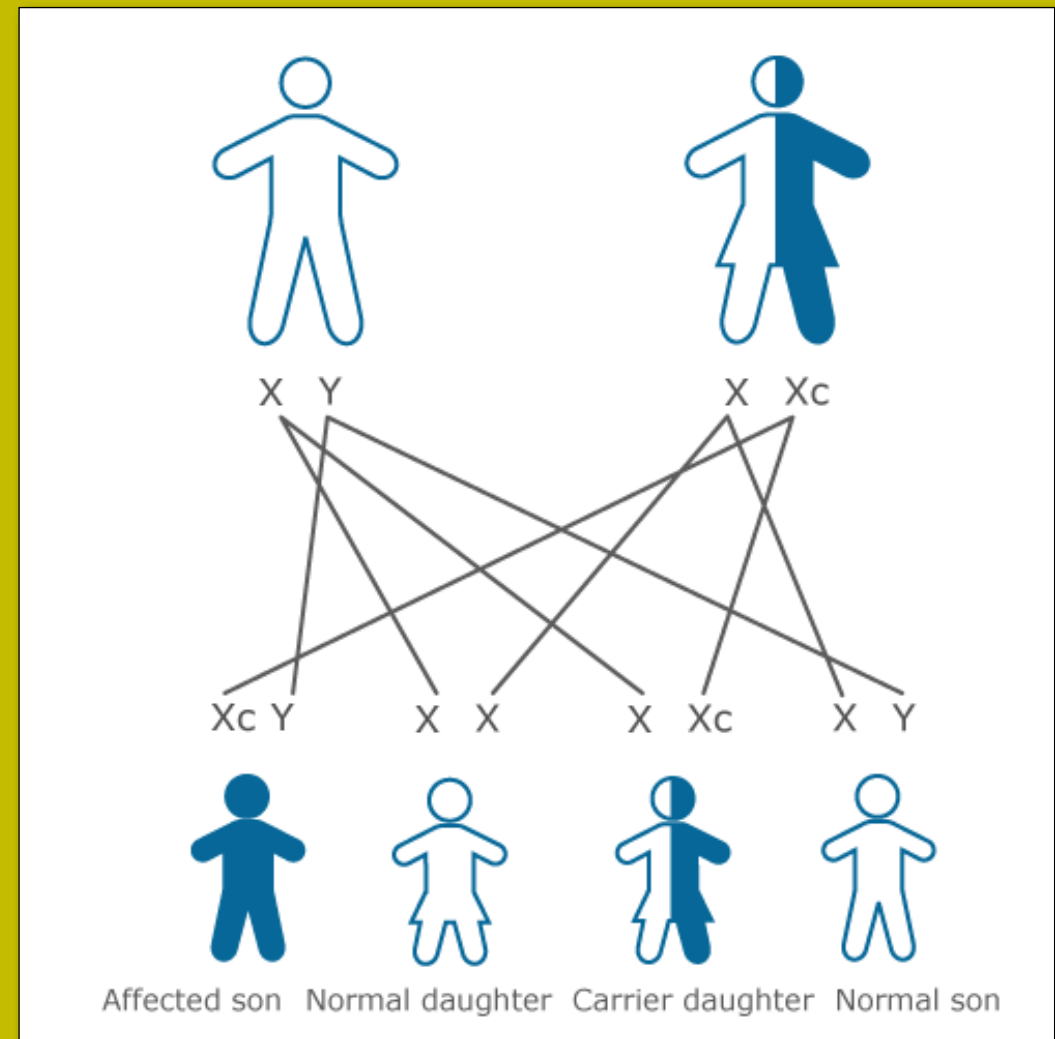
- **Planificació** d'un embaràs
 - *(inclou programes donants)*
- **Història familiar** d'alguna alteració genètica
 - *(altres membres afectes)*
- Risc més elevat d'una malaltia específica per motius **ètnics o geogràfics**
 - *(Mediterrani, Asia, Africa, Jueus Ashkenazi)*
- Desig de més **informació** sobre riscos reproductius
 - *(pacient responsable sobre el futur dels fills)*

Quin és l'objectiu de la detecció de portadors?

Malalties d'herència autosòmica recessiva



Malalties d'herència lligada al cromosoma X



Malalties greus que poden tenir conseqüències pel futur fill

Quin **NO** seria l'objectiu de la detecció de portadors?



Malalties hereditàries d'**inici a l'edat adulta**

Corea de Huntington



Malalties complexes d'inici tardà i **penetrància baixa**

Hemocromatosi



Trets comuns fenotípics sense conseqüència clínica

Daltonisme

6.000 milions de nucleòtids i >6 milions de variants

Tots som **portadors de mutacions/variants** a centenars de gens al nostre genoma (2-8 patogèniques)

Les mutacions/variants implicades en malalties d'herència recessiva (autosòmica o lligada al cromosoma X) **no es manifesten en els portadors**

Podem identificar a cada individu el total de la seva variabilitat genètica (mutacions/variants), definint aquelles que **poden causar malaltia** si s'hereten per part d'ambdós pares i afecten el mateix gen

De quines **malalties** s'ha de fer detecció de portadors?

- Quines malalties ha d'incloure?
 - Mínim? Màxim? (*Ex: Programes cribratge neonatal*)
 - Segons indicació, àrea geogràfica, ètnia?
- Quina tecnologia s'ha d'utilitzar?
 - Nombre de gens, mutacions, nombre de mostres
- Tecnologies genòmiques: **Proves expandides**
 - Microarrays
 - Seqüenciació massiva
- Només les mutacions conegudes? -> **Risc residual**
 - Taxa detecció, ètnies, selecció?

Quants gens causarien malalties recessives?

Més de 4.000 gens implicats en herència recessiva

La majoria són malalties amb una prevalença baixa

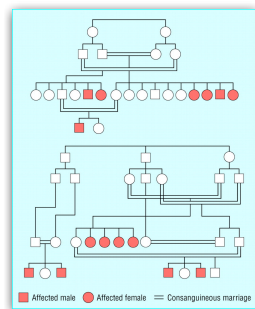
Importància del grup ètnic o geogràfic

Malalties més freqüents en certes poblacions



La importància de la consanguinitat

La consanguinitat necessita una avaluació diferent

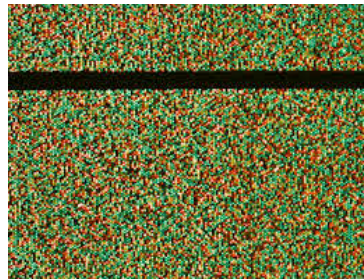


Un panell que detecta les malalties més prevalents

Detecció de les mutacions en un panell dels principals

200 gens implicats en malalties d'herència recessiva

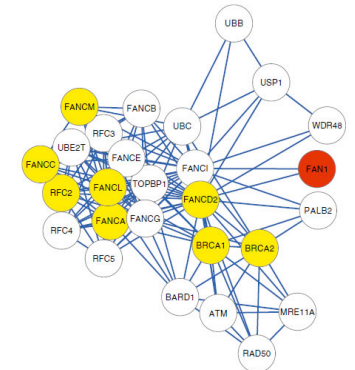
Quines eines tenim per fer detecció de portadors?



El genoma sencer
Car i complicat d'analitzar

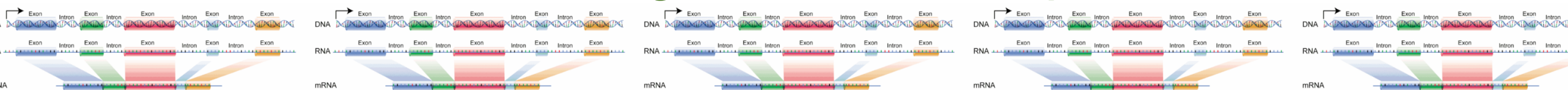


L'exoma (només els gens)
Molta informació d'interpretació difícil



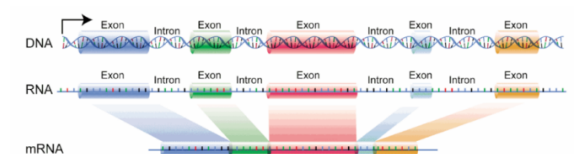
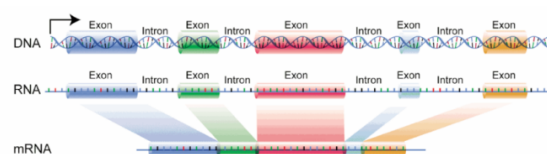
Els gens que sabem causen malalties

Moltes variants de significat i conseqüències incerts



Els gens que causen malalties greus en el futur fill

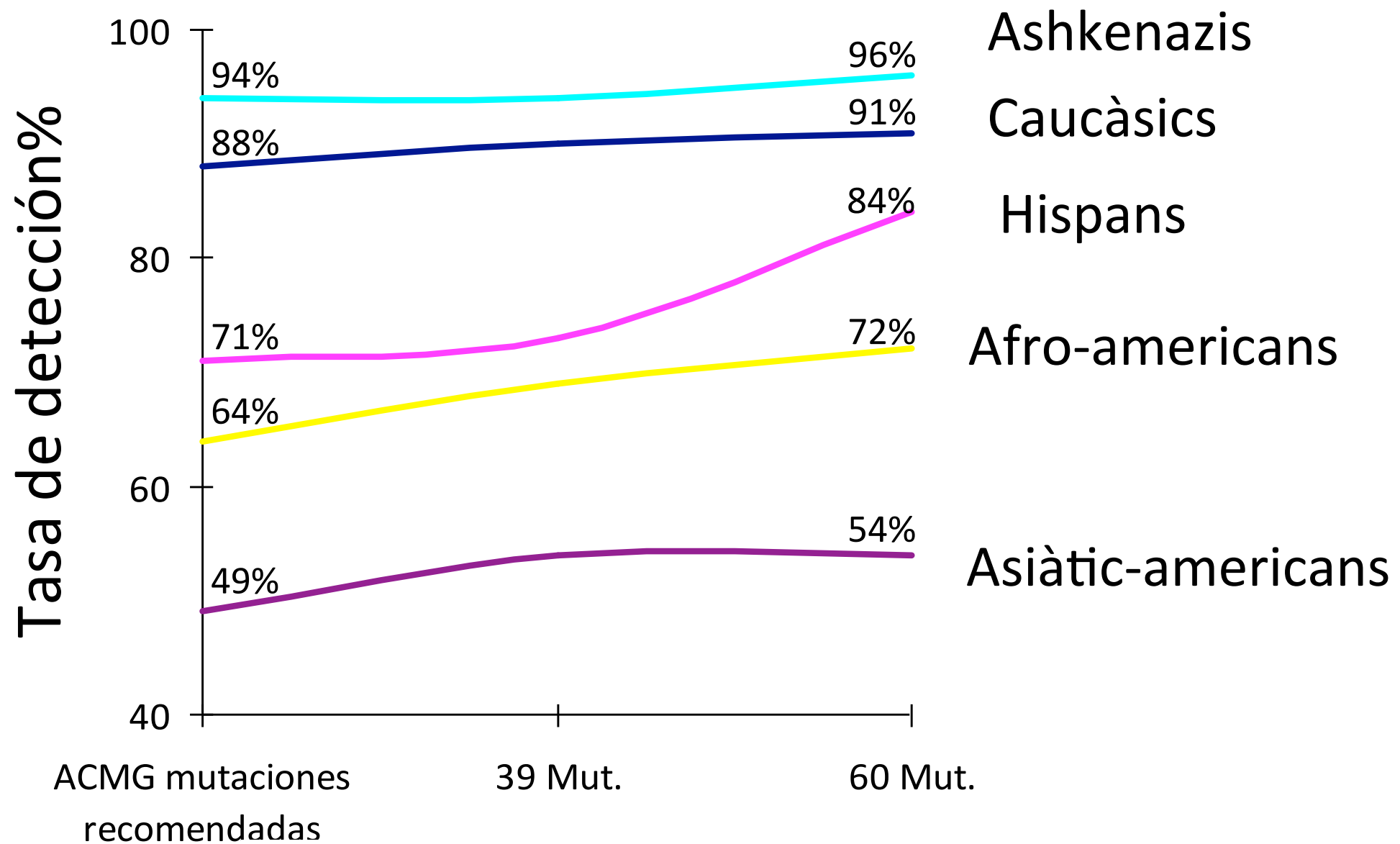
Només els gens implicats en malalties recessives greus i d'inici a la infància



- Exoma sencer: 2-8 mutacions recessives
- Detecció de portadors de varis gens i mutacions:
 - 25% individus son portadors d'almenys una mutació patogènica causant de malaltia recessiva
 - Lazarin *et al* 2013
 - 108 malalties **recessives**; 417 mutacions **conegudes**
 - 24% individus portadors (almenys una patogènica)**
 - (>5% portadors de vàries mutacions)

Disease (n=23,453 individuals screened)	Frequency (1 in)
Alpha-1-Antitrypsin deficiency	13.1
Cystic Fibrosis	27.8
DFNB1 (non-syndromal deafness <i>GJB2</i>)	42.6
Spinal muscular atrophy	57.1
Familial Mediterranean fever	64.2
Smith-Lemli-Opitz syndrome	68.2
Sickle cell disease/beta-thalassemia	69.6
Gaucher disease	76.7
Factor XI deficiency	92.0
Achromatopsia	97.5

Risc conegut i risc residual



Panel Mutacions *CFTR*

Com disminuir el **risc residual**

- Augmentar el nombre de mutacions
- Analitzar la totalitat de la regió del gen

CFTR (>2000 mutacions) panells només 60 mutacions

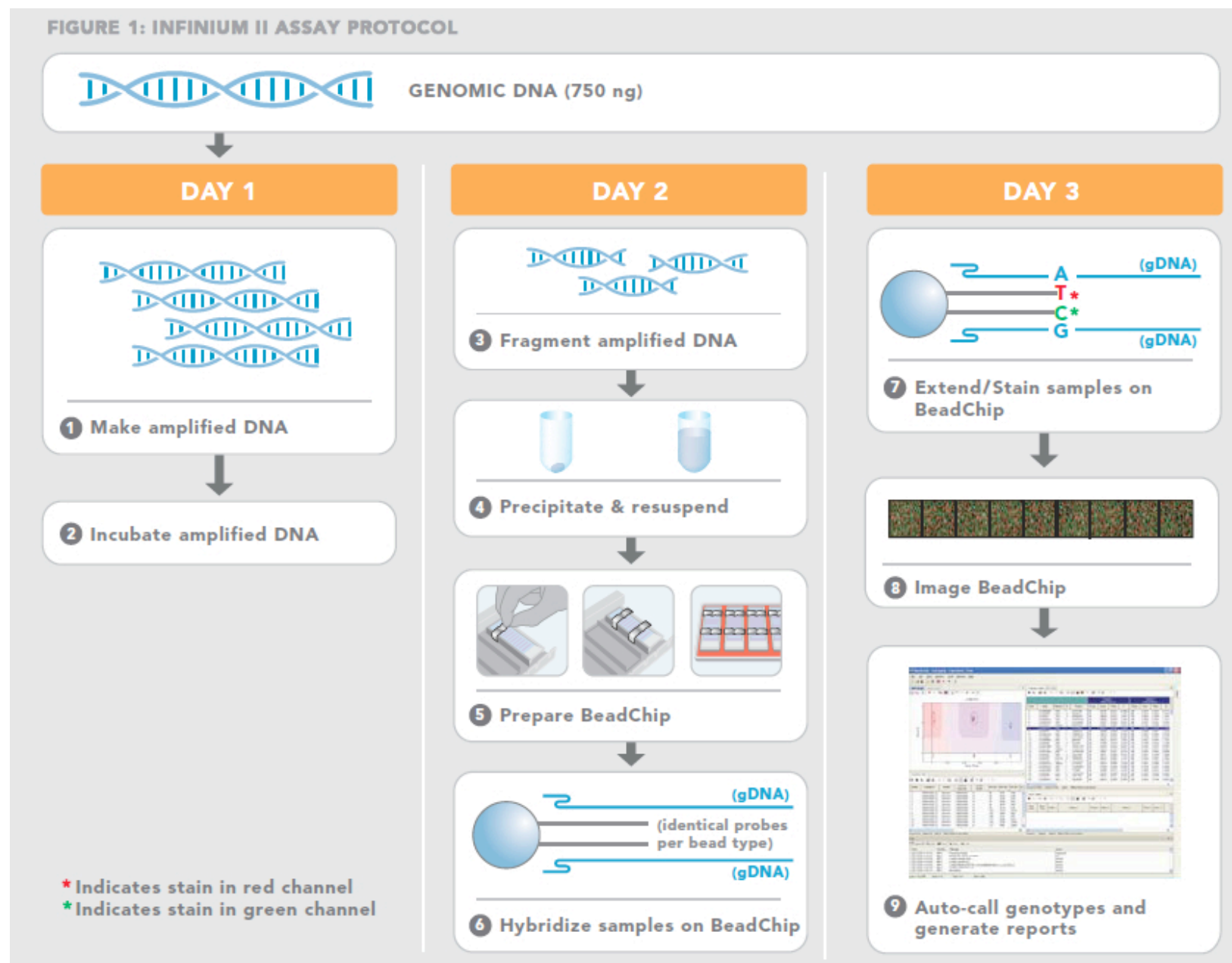
Panells específics per detectar qualsevol mutació

- Anàlisi de *CFTR* per a fibrosi quística i CAVD
- Anàlisi de *PAH* per a fenilcetonúria
- Anàlisi de *PKD1* i *PKD2* a la poliquistosi renal

Detectem el $\approx 100\%$ de les mutacions

Tipus de proves

- Microarrays de genotipat (*SNP arrays*)
 - Nombre de sondes limitat -> Mutacions conegudes



Tipus de proves

- Seqüenciació massiva
 - Amplicons, captura ...



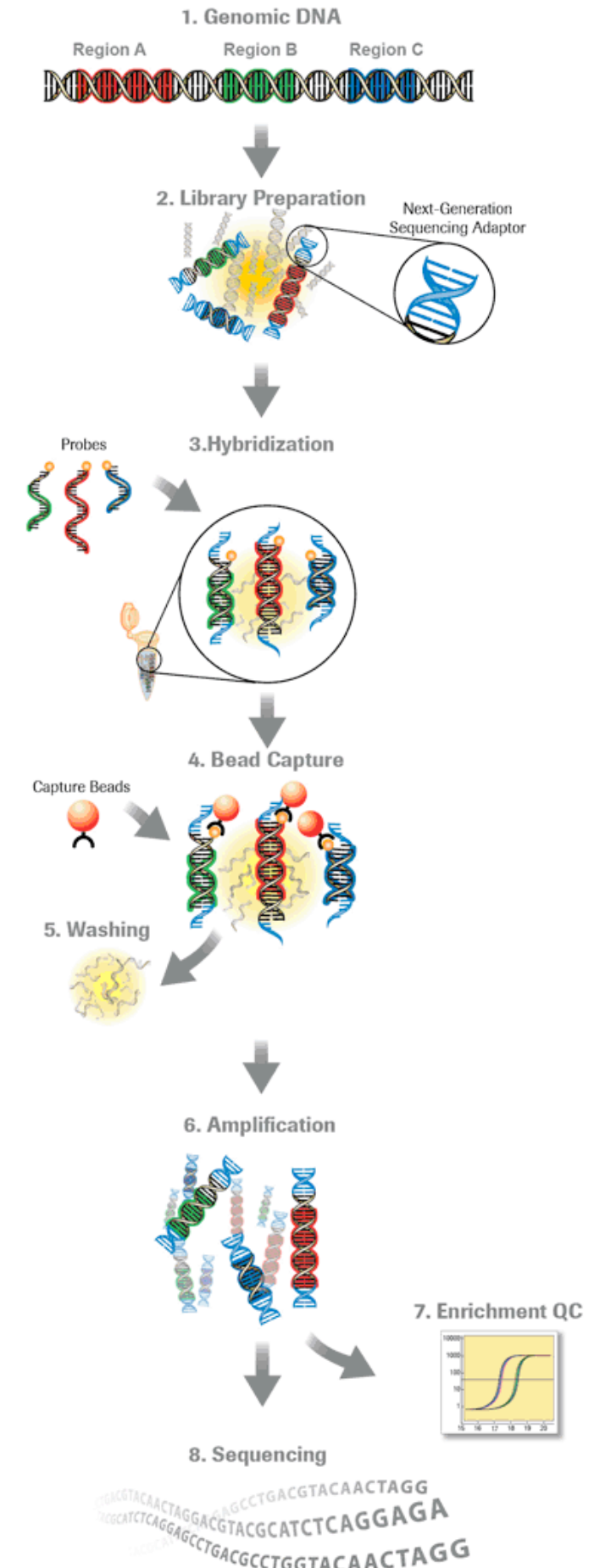
Selecció de fragments d'ADN (100-400 bp)





Captura – Hibridació - PCR – Fragments d'interès



Fragments amb adaptadors – Seqüenciació massiva



Comparació anàlisi de mutacions vs. seqüenciació

	Arrays	S. Massiva
Diseny – Selecció	SNVs, indels coneguts	Regions
N. Regions/Mutacions*	< 1.500	1.000 – 5.000*
Temps experiments	1 semana	1-3 setmanes
Bioinformàtica	✓	✓ ✓ ✓
Tipus d'estudi	Mutacions conegudes	Mutacions conegudes Cribat complet regió
Risc residual		
Variants significat incert	NO (a priori)	SI**
Noves mutacions greus (truncants)	NO	SI
Nou coneixement	No integrable	Integrable

**Proves existents; **Controls geogràfics imprescindibles*

qCarrier Test qGenomics – Dexeus

- **Experiència**
 - Desenvolupament i aplicació en >300 mostres
- **Desenvolupament per a reproducció**
 - Programes de donants (oòcits i esperma)
 - Preconcepcional (parelles)
 - Desig d'informació sobre riscos reproductius



- Malalties seleccionades:

Prevalents àrea geogràfica

Fibrosi quística, talasèmias, atròfia muscular espinal, etc.

Cribratge neonatal

Malalties metabòliques

Selecció mutacions en diverses malalties genètiques

71 gens regió codificant completa i flanquejants

130 gens exons seleccionats

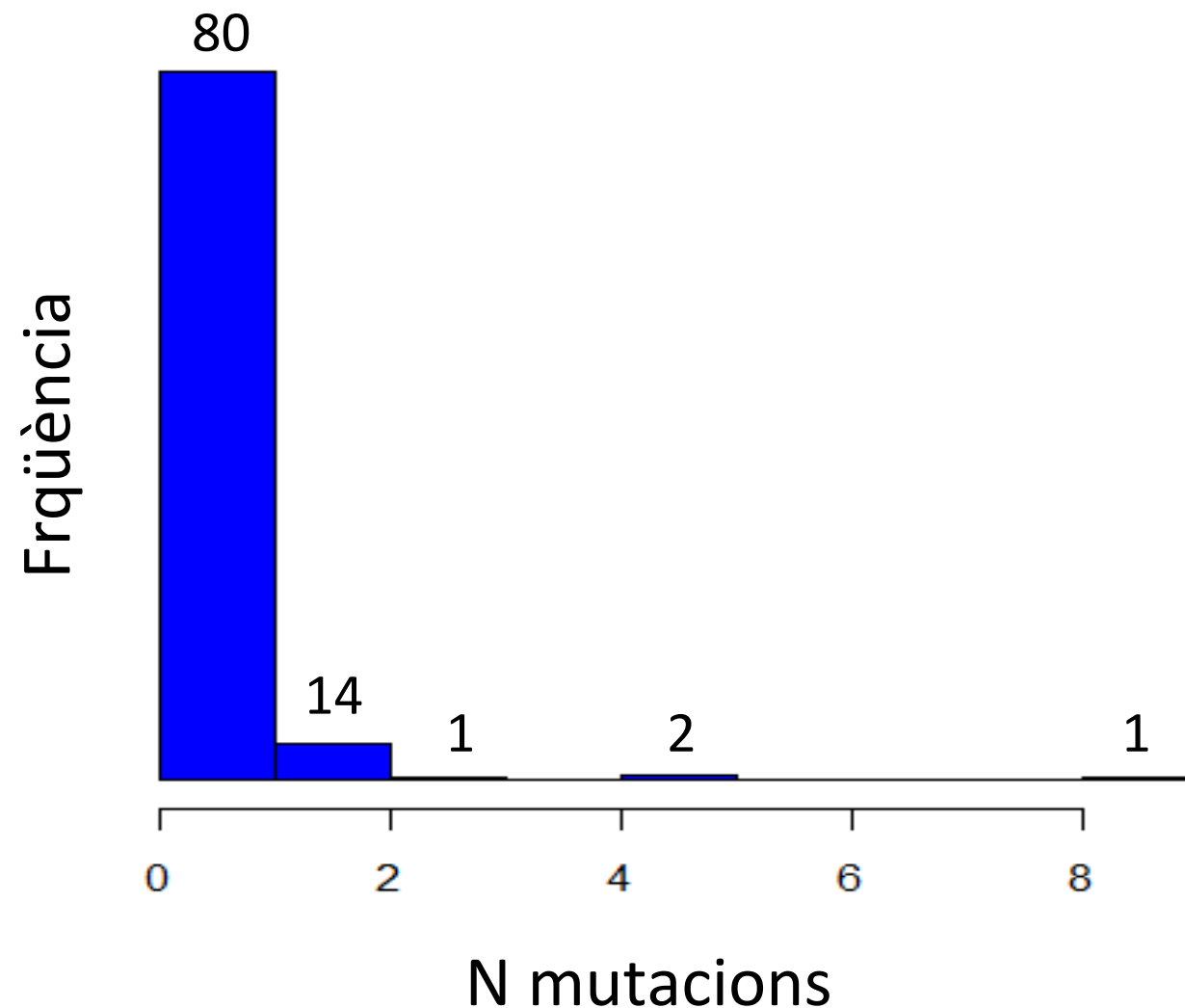
Total 200 malalties hereditàries

>3.000 mutacions patogèniques segons NCBI-ClinVar

qCarrier Test qGenomics – Dexeus

● Resultats en n = 317

- Gen *HFE* no inclòs (*mutacions penetrància reduïda, fenotip lleu, adults*)



- 130 mutacions patogèniques – 98 individus amb almenys una mutació (30%) / 18 amb 2 o més

● Gens més mutats

Gen	N	Malaltia
<i>CFTR</i>	29	Fibrosi Quística
<i>PAH</i>	12	Fenilcetonúria
<i>GJB2</i>	8	Sordesa
<i>SMN1</i>	5	Atròfia Muscular Espinal
<i>SLC3A1</i>	4	Cistinúria
<i>AGXT</i>	3	Hiperoxalúria
<i>CYP27A1</i>	3	Xantomatosi Cerebro-tendinosa
<i>DHCR7</i>	3	Síndrome Smith-Lemli-Opitz
<i>F5</i>	3	Factor V

Table 2. Top 15 most common carrier frequencies

Disease n= 317 individuals screened	Gene	qCarrier frequency (1 in)	Literature frequency (1 in)
Cystic Fibrosis*	<i>CFTR</i>	35	36
Phenylketonuria	<i>PAH</i>	40	49
Non-syndromic hearing loss and deafness, DFNB1	<i>GJB2</i>	40	33
Spinal muscular atrophy	<i>SMN1</i>	63	47
Pompe disease	<i>GAA</i>	63	100
Pendred syndrome	<i>SLC26A4</i>	79	58
Beta-thalassemia	<i>HBB</i>	79	51
Cystinuria	<i>SLC3A1</i>	79	43
Gaucher disease	<i>GBA</i>	79	159
Alpha-thalassemia	<i>HBA2</i>	105	48
Smith-Lemli-Opitz Syndrome	<i>DHCR7</i>	105	88
Cerebrotendinous xanthomatosis	<i>CYP27A1</i>	105	113
Methylmalonic aciduria and homocystinuria, cblC type	<i>MMACHC</i>	105	159
Tyrosinemia, type I	<i>FAH</i>	105	166
Primary hyperoxaluria, type I	<i>AGXT</i>	105	189

* Genetic variants associated to nonclassic forms of CF were not included

qCarrier Test qGenomics – Dexeus

- **VOUS** (*Variants Of Unknown Significance*)
 - 278 variants *missense* en 184 mostres (58%)
 - Gens que acumulen *VOUS*

Gen	N	Malaltia
<i>TG</i>	26	Hipotiroidisme
<i>MEFV</i>	14	Febre Mediterrània
<i>CFTR</i>	13	Fibrosi Quística
<i>DUOX2</i>	13	Hipotiroidisme
<i>GLIS3</i>	11	Hipotiroidisme
<i>TPO</i>	11	Hipotiroidisme
<i>SLC3A1</i>	10	Cistinúria
<i>DMD</i>	9	Distròfia Muscular Duchenne
<i>SLC26A4</i>	7	Síndrome de Pendred

Conclusions *qCarrier* Test

- *qCarrier* basat en seqüenciació massiva és una prova que té un **alt índex de detecció** de mutacions amb **riscs residuals més baixos**
- *qCarrier* pot ser aplicat a compatibilitzar **donants i receptors de gàmetes** i en el contexte de **preconcepció de parelles** que volen saber el seu risc genètic
- El coneixement actual sobre les **conseqüències clíniques de les variants** genètiques humanes suposa una limitació a la interpretació de les dades
- La identificació de **variants no descrites prèviament** i de significat incert suposa un repte important en la comunicació dels resultats
- La **necessitat d'assessorament genètic abans i després de la prova genètica**, basat en el coneixement actual sobre les mutacions i les seves conseqüències

Com s'ha de procedir en la detecció de portadors?

Visita prèvia a l'estudi genètic assessorativa
d'informació a la parella

Assessor genètic



Consentiment informat d'estudi genètic de portadors

Consentiment i obtenció de mostra de sang o saliva



Estudi genètic i anàlisi bioinformàtic

Laboratori de referència en genètica i genòmica

Visita de lliurament de **resultats i assessorament**
genètic i generació d'informe d'assessorament

Assessor genètic





8^è Congrés Català d'Obstetrícia i Ginecologia

Anna Abulí
Montse Boada
Bonaventura Coroleu
Elisabet Clua
Monica Parriego
Anna Veiga
Miguel Del Campo
Pere N. Barri
Xavier Estivill

Salut de la Dona Dexeus

Benjamin Rodríguez-Santiago
Manel García-Aragonés
Lluís Armengol

qgenomics

Luis Pérez-Jurado

Universitat Pompeu Fabra

Xavier Estivill

Centre Regulació Genòmica

Unitat de Medicina Genòmica i Personalitzada, Salut de la Dona Dexeus

