

GENÉTICA PEDIÁTRICA

II. EXOMA, INTERPRETACIÓN VARIANTES Y MANEJO VARIANTES DE SIGNIFICADO INCIERTO

Dra. Elena García Payá

Noviembre 2023

Primera sesión

- ~~Genética básica, tipos de mutaciones, tipos de estudios genéticos, limitaciones e indicaciones de cada uno.~~

Segunda sesión

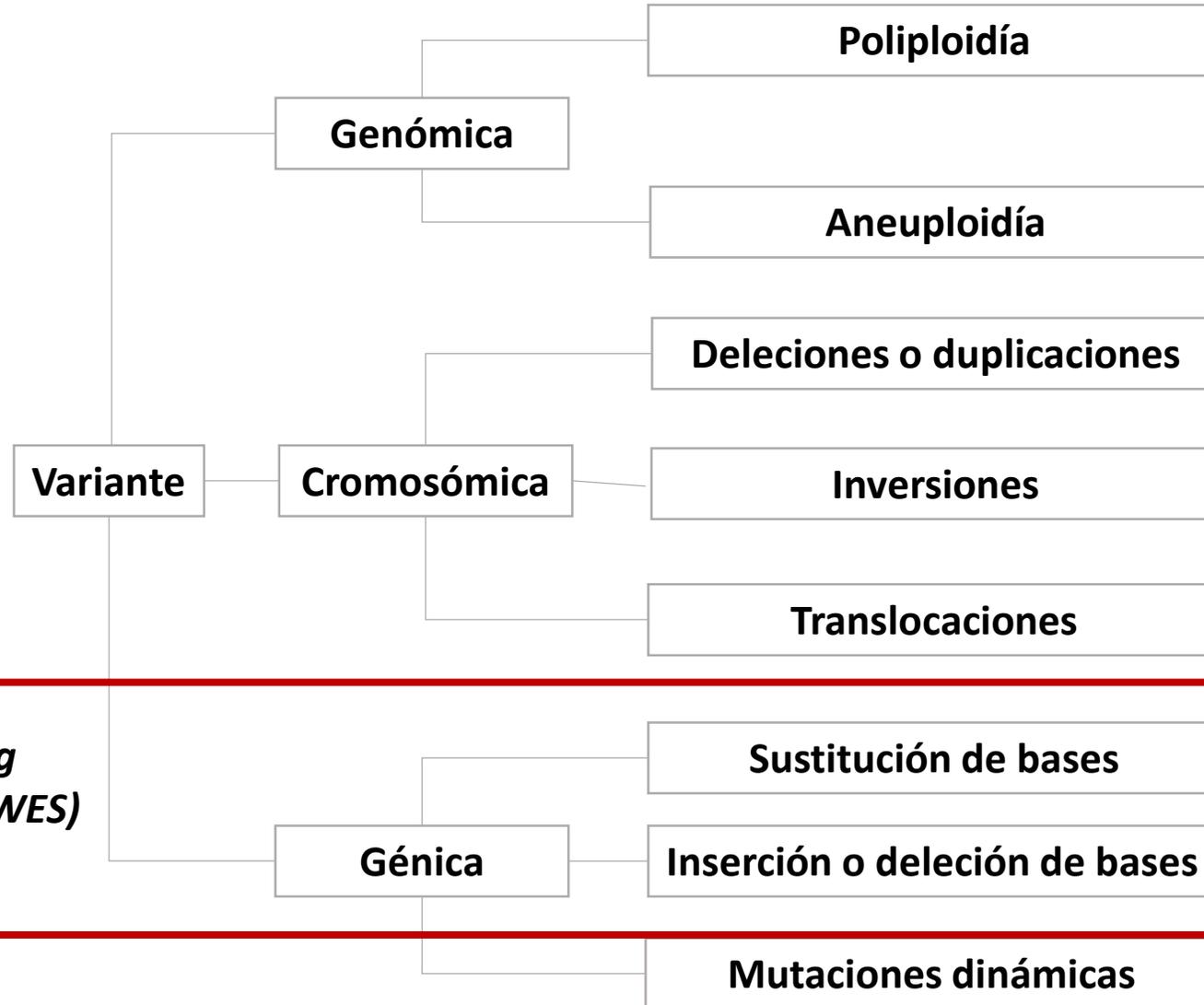
- Exoma. Interpretación de variantes genéticas. Variantes de significado incierto y su manejo.

Tercera sesión

- Asesoramiento pre/post test. Importancia del consentimiento informado. Manejo de hallazgos incidentales.

Mutación
Variante genética

Cambio permanente en el material genético



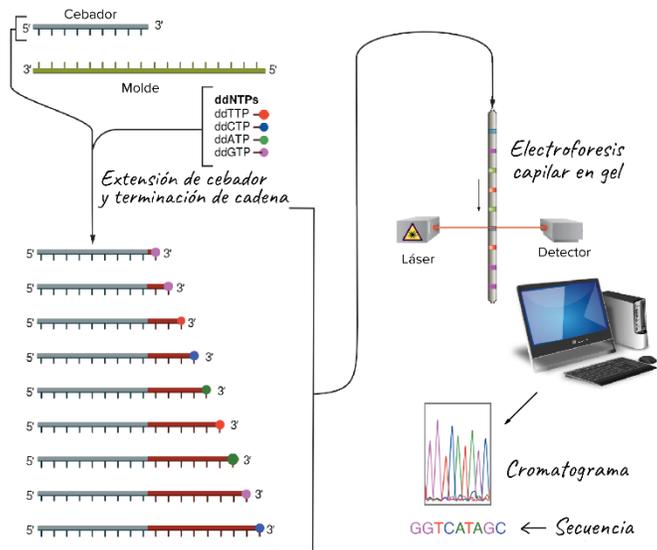
Next Generation Sequencing
Whole exome sequencing (WES)
Sanger



SECUENCIACIÓN

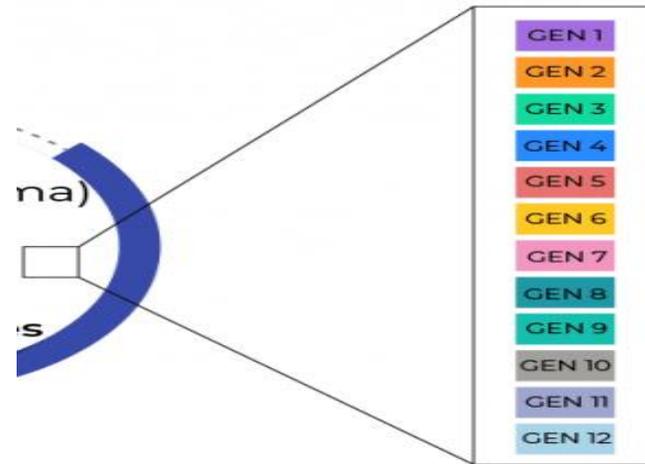
Determinar qué base nitrogenada hay en una posición concreta de nuestro genoma

I. SECUENCIACIÓN SANGER



Gold estándar-Confirmación de la NGS
Estudio de mutaciones puntuales
Genes de pequeño tamaño

II. NGS (next generation sequencing)



Secuenciación de gran número de genes
Personalización de paneles de genes (2-500 genes)
Coste menor/personalización mayor
Ausencia de hallazgos incidentales
Colagenopatías

III. Whole Exome sequencing (WES)



Potente herramienta de diagnóstico genético

Tipos de variantes que afectan a la secuencia

Posición concreta del genoma chr12:102102102

	Sin Variante	Variante sinónima o Silenciosa	Variante <i>missense</i> o cambio de sentido	Variante sin sentido o <i>nonsense</i>
ADN	TTC	TTT	TCC	ATC
ARNm	AAG	AAA	AGG	UAG
Proteína	Lys	Lys	Arg	- Stop

VARIANTE SILENCIOSA

AGG Arg → AGA Arg
(ATM) c.4044T>C (p.Leu1348=)
Benignas

VARIANTE DE CAMBIO DE SENTIDO *Missense*:

AAA Lys Básico → AGA Arg Básico
(ATM):c.3161C>G (p.Pro1054Arg)

VARIANTE SIN SENTIDO *Nonsense*:

CAG Gln → UAG Stop
(ATM):c.67C>T (p.Arg23Ter)
PATOGÉNICAS

UAA
UAG
UGA

Tipos de mutaciones que afectan a la secuencia

Posición concreta del genoma

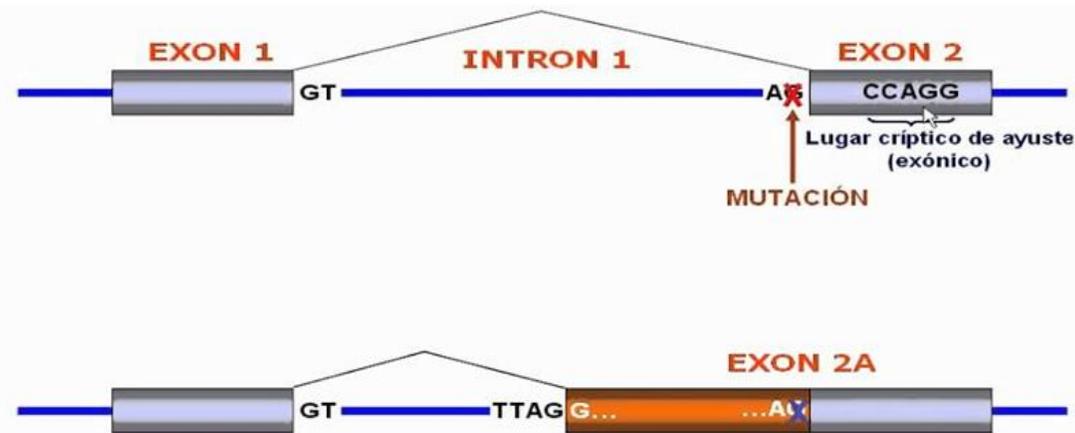
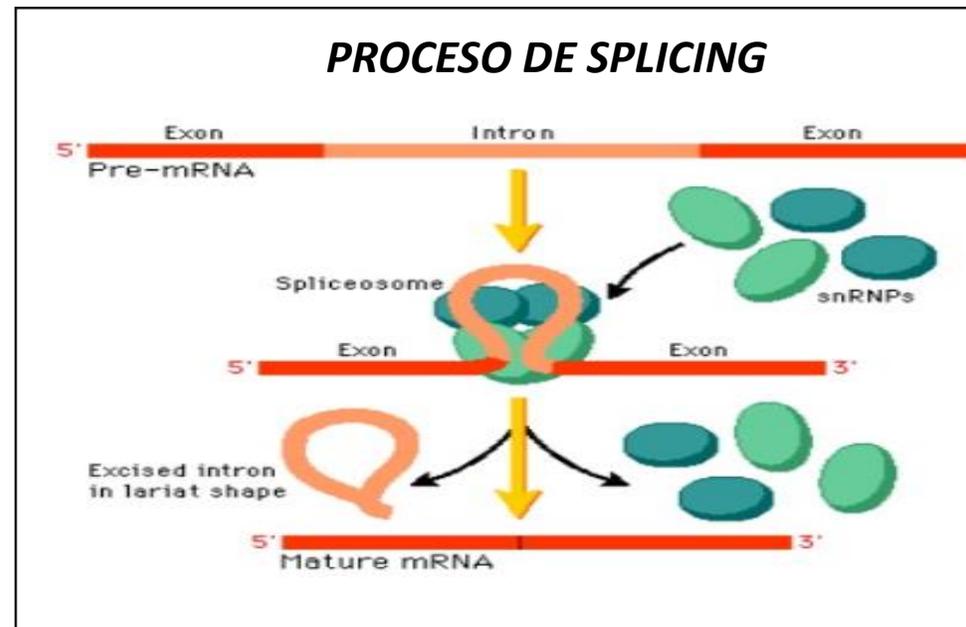
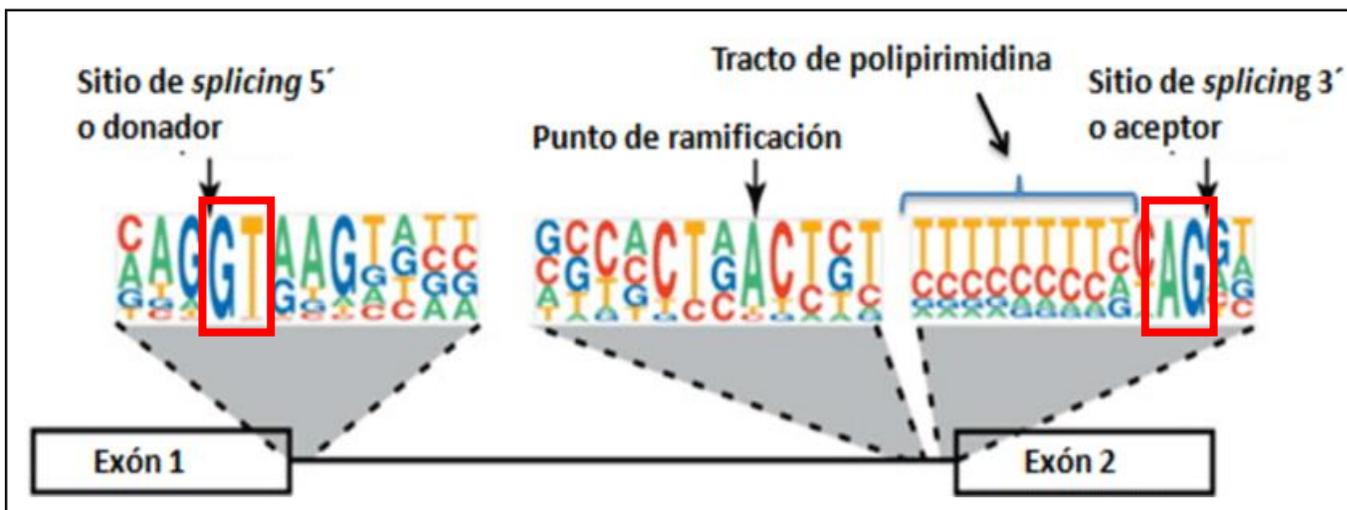
Sin variante

Variante Splicing

ADN

5'GT o 3'AG

(GLA): c.802-2A>T



Tipos de mutaciones que afectan a la secuencia

Posición concreta del genoma

Sin mutación

Variante con cambio en la pauta de lectura o frameshift

ADN

TTC

T_C, TTTC,

Delección, duplicaciones, inserciones... (No múltiplo de 3)

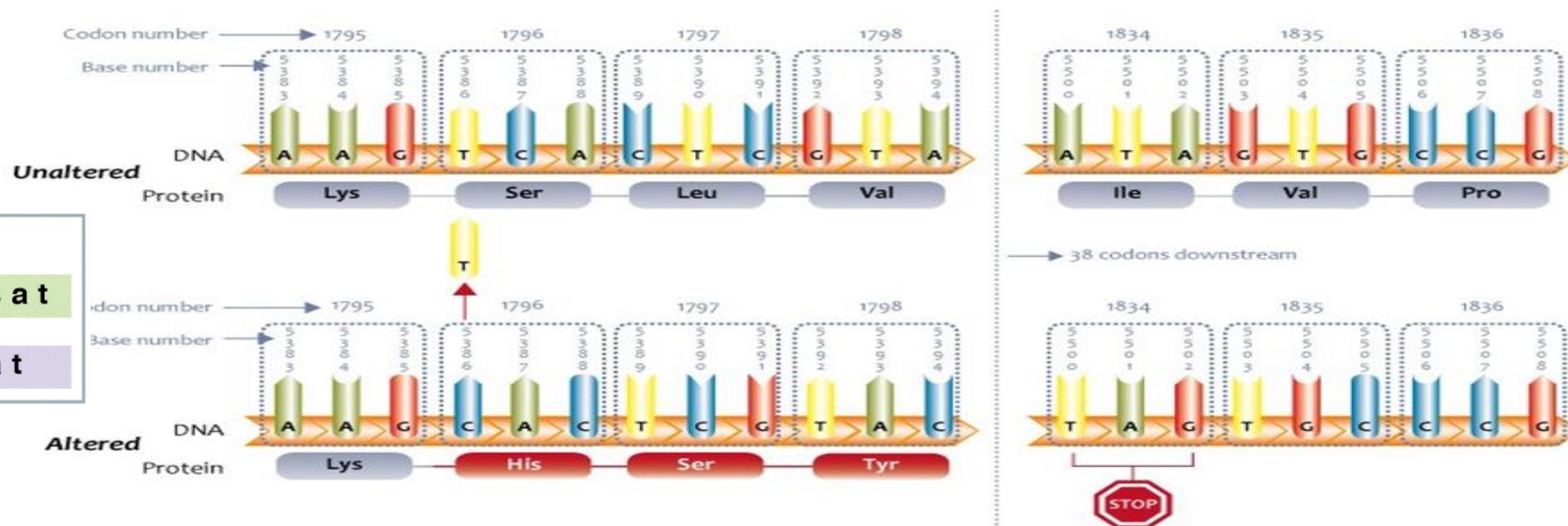
ARNm

AAG

Proteína

Lys

aa incompleto/cambio de aa



Frameshift

original ~~h~~e fat cat sat

mutated hef atc ats at

WHOLE EXOME SEQUENCING (WES) > Filtrado de variantes

Data from secondary analysis

100,000 variantes/paciente

BD poblacionales
<1%

ExAC
ESP
1000 Genomes

gnomeAD
dBSNP



Exoma/genoma en población sana

10,000 variantes/paciente

BD de enfermedades Benignas

ClinVar
OMIM
HGMD
Uniprot

HGVS
ClinGen
Decipher
LOVD

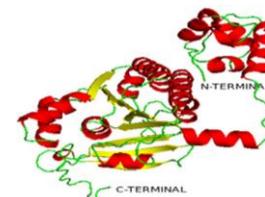


Clasificación "expertos"

2,000 variantes/paciente

Gen OMIM mórbido

Predictores *in silico*



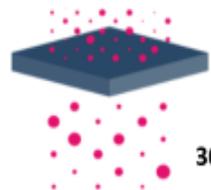
1,000 variantes/paciente

Panel Virtual o Filtrado por HPO

30-50 variantes/paciente

VARIANTES CANDIDATAS
INTERPRETACIÓN DE VARIANTES

HPO (Human Phenotype Ontology)



Panel Virtual o Filtrado por HPO

30-50 variantes/paciente

VARIANTES CANDIDATAS
INTERPRETACIÓN DE VARIANTES

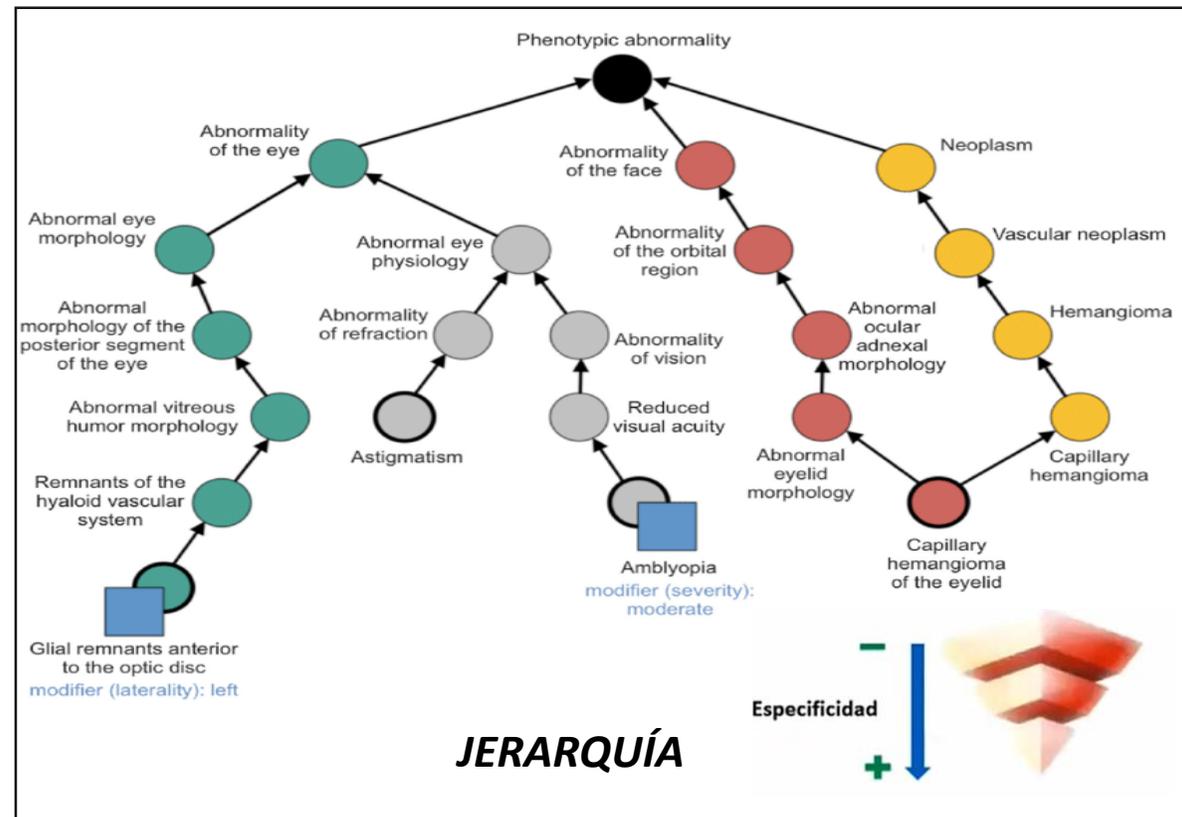
¿Qué genes?

human phenotype ontology

All Search for phenotypes, diseases or genes...

e.g. Arachnodactyly | Marfan syndrome | FBN1

<https://hpo.jax.org/app/>



JERARQUÍA

Especificidad



The Human Phenotype Ontology

HP:0004998 bowed femurs

HP:0004998 大腿骨を曲げた

CÓDIGO UNIVERSAL

HPO (Human Phenotype Ontology)

No. Descendants

Hierarchy



- Neurodevelopmental abnormality
- Abnormality of mental function
 - Intellectual disability**
 - Intellectual disability, profound
 - Intellectual disability, moderate
 - Intellectual disability, severe
 - Intellectual disability, borderline
 - Intellectual disability, progressive
 - Intellectual disability, mild

Intellectual disability HP:0001249

- EN English
- ZH Chinese
- CS Czech
- NL Dutch
- FR French
- JA Japanese
- ES Spanish
- TR Turkish

Intellectual disability, previously referred to as mental retardation, is characterized by subnormal intellectual functioning that occurs during the developmental period. It is defined by an IQ score below 70.

Synonyms: *Intellectual disability - Mental deficiency - Mental retardation - Mental retardation, nonspecific - Mental-retardation - Nonprogressive intellectual disability - Nonprogressive mental retardation - Dull intelligence - Low intelligence - Poor school performance*

Comment: This term should be used for children who are at least five years old. For younger children, consider using the term Global developmental delay (HP:0001263).

Cross References: *MSH:D008607, SNOMEDCT_US:228156007, SNOMEDCT_US:247578003, SNOMEDCT_US:91138005, UMLS:C0025362, UMLS:C0423903, UMLS:C0917816, UMLS:C1843367, UMLS:C3714756, UMLS:C4020876*

- Export Associations
- Translate your language

Disease Associations

Gene Associations

Disease Id	Disease Name	Associated Genes
ORPHA:276413	10q22.3q23.3 microdeletion syndrome	
ORPHA:276422	10q22.3q23.3 microduplication syndrome	
ORPHA:300305	11p15.4 microduplication syndrome	
ORPHA:444002	11q22.2q22.3 microdeletion syndrome	
ORPHA:94063	12q14 microdeletion syndrome	HMGA2 [8091] LEMD3 [23592]
ORPHA:412035	13q12.3 microdeletion syndrome	

Displaying 20 out of 3216 [View all](#)

HPO (Human Phenotype Ontology)

No. Descendants **Hierarchy** ?

- Neurodevelopmental abnormality
- Abnormality of mental function
 - Intellectual disability**
 - Intellectual disability, profound
 - Intellectual disability, moderate
 - Intellectual disability, severe
 - Intellectual disability, borderline
 - Intellectual disability, progressive
 - Intellectual disability, mild

Intellectual disability HP:0001249

- EN English
- ZH Chinese
- CS Czech
- NL Dutch
- FR French
- JA Japanese
- ES Spanish
- TR Turkish

Intellectual disability, previously referred to as mental retardation, is characterized by subnormal intellectual functioning that occurs during the developmental period. It is defined by an IQ score below 70.

Synonyms: *Intellectual disability - Mental deficiency - Mental retardation - Mental retardation, nonspecific - Mental-retardation - Nonprogressive intellectual disability - Nonprogressive mental retardation - Dull intelligence - Low intelligence - Poor school performance*

Comment: This term should be used for children who are at least five years old. For younger children, consider using the term Global developmental delay (HP:0001263).

Cross References: *MSH:D008607, SNOMEDCT_US:228156007, SNOMEDCT_US:247578003, SNOMEDCT_US:91138005, UMLS:C0025362, UMLS:C0423903, UMLS:C0917816, UMLS:C1843367, UMLS:C3714756, UMLS:C4020876*

[Export Associations](#) [Translate your language](#)

Disease Associations **Gene Associations**

Gene Symbol	Associated Diseases
AAAS [8086]	(OMIM:231550) - Achalasia-Addisonianism-Alacrima syndrome (ORPHA:869) - Triple A syndrome
AARS1 [16]	(OMIM:616339) - Epileptic encephalopathy, early infantile, 29 (OMIM:613287) - Charcot-Marie-Tooth disease, axonal, type 2N (OMIM:619661) - Leukoencephalopathy, hereditary diffuse, with spheroids 2 (ORPHA:442835) - Non-specific early-onset epileptic encephalopathy (ORPHA:33364) - Trichothiodystrophy (OMIM:619691) - Trichothiodystrophy 8, nonphotosensitive
AASS [10157]	(ORPHA:2203) - Hyperlysinemia (ORPHA:3124) - Saccharopinuria (OMIM:238700) - Hyperlysinemia, type I
ABCA2 [20]	(OMIM:618808) - Intellectual developmental disorder with poor growth and with or without seizures or ataxia

Displaying 20 out of 204. [View all](#)

HPO (Human Phenotype Ontology)

<https://omim.org/>

OMIM®

An Online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders

Updated October 26, 2023

Advanced Search : OMIM, Clinical Synopses, Gene Map | Search History

Need help? : Example Searches, OMIM Search Help, OMIM Video Tutorials

Phenotype-Gene Relationships

Location	Phenotype	Phenotype MIM number	Inheritance	Phenotype mapping key	Gene/Locus	Gene/Locus MIM number
5p13.2	Comelia de Lange syndrome 1	122470	AD	3	NIPBL	608667

Clinical Synopsis

Phenotypic Series

INHERITANCE

- Autosomal dominant

GROWTH

Height

- Prenatal growth retardation
- Short stature
- Specific growth curves are available

HEAD & NECK

Head

- Microcephaly
- Brachycephaly

Face

- Long philtrum
- Micrognathia

Ears

- Low-set ears
- Sensorineural hearing loss
- Conductive hearing loss to due otitis media

Eyes

- Synophrys
- Myopia
- Long curly eyelashes
- Ptosis

Nose

- Anteverted nostrils
- Depressed nasal bridge

Mouth

- Thin upper lip
- Downturned corners of the mouth
- High arched palate
- Cleft lip/palate

Intrauterine growth retardation HP:0001511
703 Genes

Microcephaly HP:0000252
1302 Genes

Micrognathia HP:0000347
818 Genes

Cleft palate HP:0000175
596 Genes

HPO (Human Phenotype Ontology)

Epileptic encephalopathy HP:0200134
Neurodevelopmental delay HP:0012758 y
Abnormality of brain morphology HP:0012443



3462 genes pueden causar al menos uno de los fenotipos.



Limitaciones HPO:

- Fenotipo incompleto: **IMPORTANTE** indicar toda la información clínica.
- Edad de aparición síntomas (neonatos, lactantes).

Filtrado de variantes

Data from
secondary analysis

100,000 variantes/paciente

BD poblacionales
<1%

ExAC
ESP
1000 Genomes

gnomeAD
dBSNP



Exoma/genoma en
población sana

10,000 variantes/paciente

BD de enfermedades
Benignas

ClinVar
OMIM
HGMD
Uniprot

HGVS
ClinGen
Decipher
LOVD

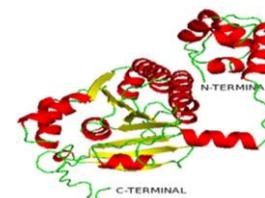


Clasificación
"expertos"

2,000 variantes/paciente

Gen OMIM mórbido

Predictores *in silico*



1,000 variantes/paciente

Panel Virtual o Filtrado por HPO

30-50 variantes/paciente

**VARIANTES CANDIDATAS
INTERPRETACIÓN DE
VARIANTES**

Interpretación de variantes genéticas

Guías ACMG (2015): 28 criterios divididos en dos grupos que se combinan en un *score* para clasificar las variantes en 5 categorías



ACMG STANDARDS AND GUIDELINES | Genetics in Medicine

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

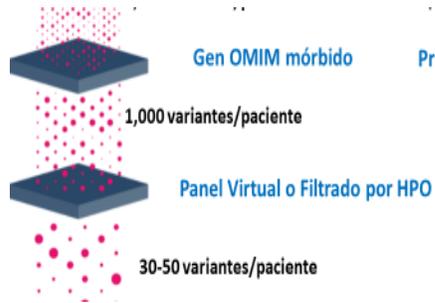


Interpretación de variantes genéticas

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



Criterios de evidencia para clasificar las variantes benignas



Predictores *in silico*



VARIANTES CANDIDATAS
INTERPRETACIÓN DE
VARIANTES

- Benign
- Likely benign
- Uncertain significance
- Likely pathogenic
- Pathogenic

Criterios de evidencia para clasificar las variantes patogénicas

Interpretación de variantes genéticas

Criterios de evidencia para clasificar las variantes patogénicas

Muy alta o *very strong*:

PVS1 (variante nula, nonsense, frameshift, ± 1 or 2 splicing, initiation codon, single or multiexon deletion)

Moderada o *moderate*:

PM1 (variante localizada en un hot spot o dominio funcional establecido sin variantes benignas)

PM2 (variante ausente o extremadamente infrecuente en controles)

PM3 (para enfermedades recesivas, configuración trans con una variante patogénica)

PM4 (la longitud de la proteína cambia como resultado de la delección o inserción in-frame en zonas no repetitivas o por variantes stop-loss)

PM5 (variante que produce un nuevo cambio aminoacídico en el mismo codón donde se han descrito variantes patogénicas)

PM6 (*De novo* asumido)

Alta o *strong*:

PS1 (variante que da lugar al mismo cambio aminoacídico ya descrito como una variante patogénica)

PS2 (De novo, con paternidad y maternidad confirmada)

PS3 (estudios funcionales apoyan el efecto dañino sobre el gen)

PS4 (prevalencia de la variante en los individuos afectados aumenta significativamente en comparación con la prevalencia en los controles)

Variante Patogénica	Variante paciente
c.1244T>C (p.Leu415Pro)	c.1244T>G(p.Leu415Pro)

Variante Patogénica	Variante paciente
c.1244T>C (p.Leu415Pro)	c.1244T>A(p.Leu415Arg)

Probable o *supporting*:

PP1 (Cosegregación en múltiples miembros de la familia afectos)

PP2 (Mayor variantes missense patogénicas/benignas en el gen donde las variantes missense son un mecanismo común de mutación)

PP3 (los algoritmos in silico apoya el efecto deletéreo sobre el gen)

PP4 (El fenotipo o los antecedentes familiares del paciente son muy específicos de una enfermedad con una única etiología genética)

PP5 (Fuentes confiables reportan esa variante como una variante patogénica).

Interpretación de variantes genéticas

Criterios de evidencia para clasificar las variantes patogénicas

Variante patogénica (clase 5)

1.- 1 Muy alta (PVS1) y

≥1 Alta (PS1–PS4)

≥2 Moderada (PM1–PM6)

1 Moderada (PM1–PM6) y 1 Probable (PP1–PP5)

≥2 Probable (PP1–PP5)

2.- ≥ 2 Alta (PS1–PS4)

3.- 1 Alta (PS1–PS4) y

≥3 Moderada (PM1–PM6)

2 Moderada (PM1–PM6) y ≥2 Probable (PP1–PP5)

1 Moderada (PM1–PM6) y ≥4 Probable (PP1–PP5)

Variante probablemente patogénica (clase 4)

1. 1 Muy alta (PVS1) y 1 Moderada (PM1–PM6)

2. 1 Alta (PS1–PS4) y 1–2 Moderada (PM1–PM6)

3. 1 Alta (PS1–PS4) y ≥2 Probable (PP1–PP5)

4. ≥3 Moderada (PM1–PM6)

5. 2 Moderada (PM1–PM6) y ≥2 Probable (PP1–PP5)

6. 1 Moderada (PM1–PM6) y ≥4 Probable (PP1–PP5)

Interpretación de variantes genéticas

Criterios de evidencia para clasificar las variantes patogénicas

Variante patogénica (clase 5)

1.- 1 Muy alta (PVS1) y

≥1 Alta (PS1–PS4)

≥2 Moderada (PM1–PM6)

1 Moderada (PM1–PM6) y 1 Probable (PP1–PP5)

≥2 Probable (PP1–PP5)

2.- ≥ 2 Alta (PS1–PS4)

3.- 1 Alta (PS1–PS4) y

≥3 Moderada (PM1–PM6)

2 Moderada (PM1–PM6) y ≥2 Probable (PP1–PP5)

1 Moderada (PM1–PM6) y ≥4 Probable (PP1–PP5)



Variante probablemente patogénica (clase 4)

1. 1 Muy alta (PVS1) y 1 Moderada (PM1–PM6)

2. 1 Alta (PS1–PS4) y 1–2 Moderada (PM1–PM6)

3. 1 Alta (PS1–PS4) y ≥2 Probable (PP1–PP5)

4. ≥3 Moderada (PM1–PM6)

5. 2 Moderada (PM1–PM6) y ≥2 Probable (PP1–PP5)

6. 1 Moderada (PM1–PM6) y ≥4 Probable (PP1–PP5)

Interpretación de variantes genéticas

Criterios de evidencia para clasificar las variantes patogénicas

Variante patogénica (clase 5)

1.- 1 Muy alta (PVS1) y

≥1 Alta (PS1–PS4)

→ ≥2 Moderada (PM1–PM6)

1 Moderada (PM1–PM6) y 1 Probable (PP1–PP5)

≥2 Probable (PP1–PP5)

2.- ≥ 2 Alta (PS1–PS4)

3.- 1 Alta (PS1–PS4) y

≥3 Moderada (PM1–PM6)

2 Moderada (PM1–PM6) y ≥2 Probable (PP1–PP5)

1 Moderada (PM1–PM6) y ≥4 Probable (PP1–PP5)

Variante probablemente patogénica (clase 4)

1. 1 Muy alta (PVS1) y 1 Moderada (PM1–PM6)

2. 1 Alta (PS1–PS4) y 1–2 Moderada (PM1–PM6)

3. 1 Alta (PS1–PS4) y ≥2 Probable (PP1–PP5)

4. ≥3 Moderada (PM1–PM6)

5. 2 Moderada (PM1–PM6) y ≥2 Probable (PP1–PP5)

6. 1 Moderada (PM1–PM6) y ≥4 Probable (PP1–PP5)

Interpretación de variantes genéticas

Criterios de evidencia para clasificar las variantes benignas

Única:

BA1 (la frecuencia poblacional es >5%, es benigna por definición).

Alta o strong:

BS1 (la frecuencia poblacional es mayor a la esperada para el trastorno).

BS2 (observa en sanos adultos para un trastorno que debuta en edad temprana)

BS3 (estudios funcionales no muestran efecto sobre el gen)

BS4 (falta de cosegración en miembros afectados de la familia o heredada de progenitor sano)

Variante Benigna

1 Stand-Alone (BA1) *OR*
≥2 Fuertes (BS1–BS4)

Probable o supporting:

BP1 (variante missense en un gen donde mayoritariamente las variantes truncantes son causa de enfermedad).

BP2 (trans para un trastorno dominante o en cis con otra variante patogénica sea cual sea la herencia).

BP3 (deleciones o inserciones in frame en zonas repetitivas sin función conocida)

BP4 (los algoritmos in silico sugieren no impacto sobre el gen)

BP5 (Variante encontrada en un caso con una base molecular alternativa para la enfermedad)

BP6 (Fuentes confiables reportan esa variante como una variante benigna)

BP7 (variante sinónima de splicing que los algoritmo predicen con ningún impacto)

Probablemente benigna

1 Strong (BS1–BS4) and 1 Supporting (BP1–BP7) *OR*
≥2 Supporting (BP1–BP7)

Interpretación de variantes genéticas

Interpretación de variantes genéticas

Criterios de evidencia para clasificar las variantes patogénicas

Variante patogénica (clase 5)

- 1.- 1 Muy alta (PVS1) y
 - ≥1 Alta (PS1-PS4)
 - ≥2 Moderada (PM1-PM6)
 - 1 Moderada (PM1-PM6) y 1 Probable (PP1-PP5)
 - ≥2 Probable (PP1-PP5)
- 2.- ≥ 2 Alta (PS1-PS4)
- 3.- 1 Alta (PS1-PS4) y
 - ≥3 Moderada (PM1-PM6)
 - 2 Moderada (PM1-PM6) y ≥2 Probable (PP1-PP5)
 - 1 Moderada (PM1-PM6) y ≥4 Probable (PP1-PP5)

Variante probablemente patogénica (clase 4)

- 1.- 1 Muy alta (PVS1) y 1 Moderada (PM1-PM6)
- 2.- 1 Alta (PS1-PS4) y 1-2 Moderada (PM1-PM6)
- 3.- 1 Alta (PS1-PS4) y ≥2 Probable (PP1-PP5)
- 4.- ≥2 Moderada (PM1-PM6)
- 5.- 2 Moderada (PM1-PM6) y ≥2 Probable (PP1-PP5)
- 6.- 1 Moderada (PM1-PM6) y ≥4 Probable (PP1-PP5)

Interpretación de variantes genéticas

Criterios de evidencia para clasificar las variantes benignas

Única:

BA1 (la frecuencia poblacional es >5%, es benigna por definición).

Alta o strong:

BS1 (la frecuencia poblacional es mayor a la esperada para un trastorno).

BS2 (observa en sanos adultos para un trastorno que debuta en edad temprana)

BS3 (estudios funcionales no muestran efecto sobre el gen)

BS4 (falta de cosegración en miembros afectados de la familia heredada de progenitor sano)

Probable o supporting:

BP1 (variante missense en un gen donde mayoritariamente las variantes truncantes son causa de enfermedad).

BP2 (trans para un trastorno dominante o en cis con otra variante patogénica de cualquier herencia).

BP3 (deleciones o inserciones in frame en zonas repetitivas sin función)

BP4 (los algoritmos *in silico* sugieren no impacto sobre el gen)

BP5 (variante encontrada en un caso con una base molecular para la enfermedad)

BP6 (bases de datos confiables reportan esa variante como una variante benigna)

BP7 (variante sinónima de splicing que los algoritmos predicen con ningún impacto)

Variante Benigna

1 Stand-Alone (BA1) OR
≥2 Fuertes (BS1-BS4)

Probablemente benigna

1 Strong (BS1-BS4) and 1 Supporting (BP1-BP7) OR
≥2 Supporting (BP1-BP7)

VARIANTE DE SIGNIFICADO INCIERTO (VSI) VARIANT OF UNCERTAIN SIGNIFICANCE (VOUS)

PM2
(infrecuente en
controles)

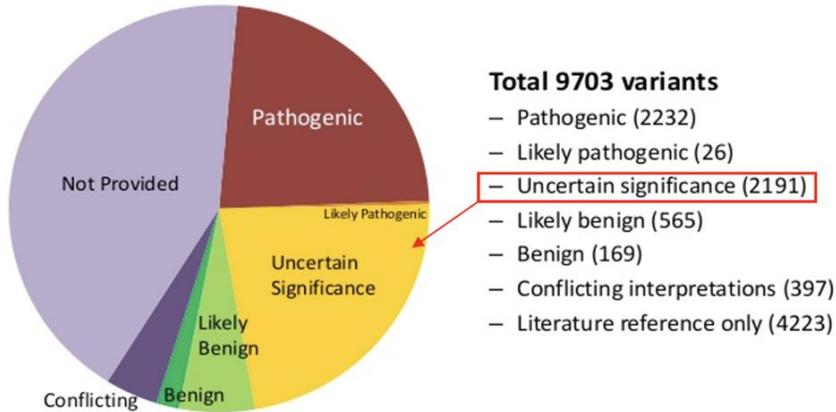
PM2 + PM6
(infrecuente en
controles+ *de novo*)

PM2 + PP3
(infrecuente en
controles+algoritmos
in silico)

PM2 + PM6 + PP3
(infrecuente en controles+ *de novo*+
algoritmos *in silico*)

Manejo de las variantes de significado incierto (VSI)

ClinVar BRCA1/2 Variants



En mi paciente se detecta una VSI ¿Y ahora qué?

“Una VSI es inocente hasta que se demuestre lo contrario”

- Las VSI no deben ser consideradas en la toma de decisiones clínicas ¹. El manejo clínico se basa en los antecedentes personales y familiares pero no en los resultados de las pruebas genéticas.
- 15-25% VSIs.
- **Se debe de intentar deben invertir esfuerzos para intentar reclasificar dichas variantes en benignas o patogénicas ². La mayoría se reclasificarán a benignas.**

1.- Mahon, S. M. Management of patients with a genetic variant of unknown significance. Oncology Nursing Forum 42, (2015).

2.-Hoffman-Andrews L. The known unknown: the challenges of genetic variants of uncertain significance in clinical practice. J Law Biosci. 2018 Jan 22;4(3):648-657.

Manejo de las variantes de significado incierto (VSI)

- **Reevaluación periódica de las variantes de significado incierto** cada 1-2 años. VSI que pasan a clasificarse como benignas o como patogénicas. Proceso automatizado de las variantes informadas en el último año (**genética**). A petición por el **clínico** ante estudios genéticos anteriores a esa fecha.
- **Correlación clínica o fenotípica** de los trastornos asociados al gen donde se ha encontrado la variantes de significado incierto (**clínico peticionario**).
- **Estudios de segregación:** 
 - VSI compatible confirme o no la **herencia de novo** en el paciente. De novo: cumpliría criterio PM6 (reclasificación>**VSI/probablemente patogénica**) o heredada cumpliría el criterio BS4 (reclasificación>**variante probablemente benigna/VSI**).
 - VSI compatible **con cuadro familiar** (menos frecuente en pediatría). Debemos de hacer la VSI en varios miembros de la familia, tanto en afectos como en no afectos. Añadiríamos el criterio PP1. (reclasificación>**VSI/probablemente patogénica**).
 - Evidencia probable: ($\leq 1/8$ en una sola familia, $\leq 1/4$ en >1 familia).
 - Moderada ($\leq 1/16$ en una sola familia, $\leq 1/8$ en >1 familia).
 - Fuerte ($\leq 1/32$ en una sola familia, $\leq 1/16$ en >1 familia).
 - VSI hallada junto con otra variante patogénica que podría causar el **cuadro autosómico recesivo**. Debemos de hacer las variantes a los progenitores que confirme que esa variante está en trans (diferente alelo). Cumpliría el criterio PM3 (reclasificación>**VSI/probablemente patogénica**) o BP2 (reclasificación>**variante probablemente benigna/VSI**).

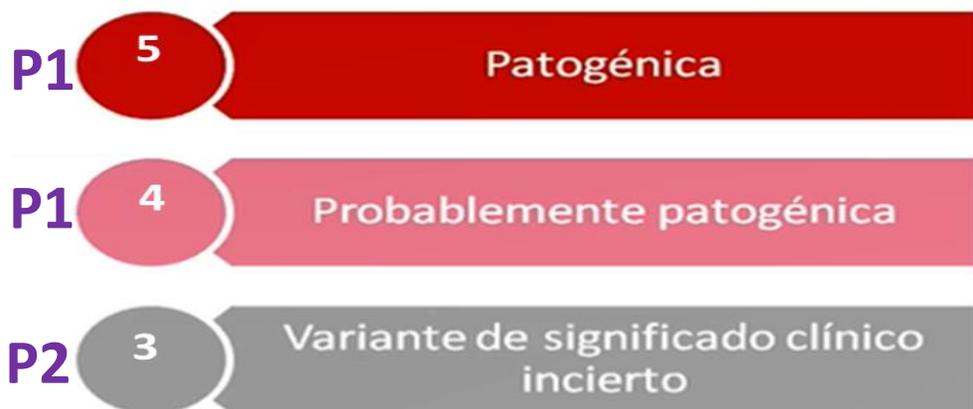
Estructura del informe de Exoma

1.-INDICACIÓN CLÍNICA: información reflejada en la solicitud de exoma.

2.-ESTUDIO GENÉTICO SOLICITADO: Exoma dirigido por HPO y se reflejarán los términos HPO que se han utilizado.

3.-RESULTADO MOLECULAR: (**P**=variantes; **N**=sin variantes/VSI para revisar)

P. Información de la variante y enfermedad



RESULTADO MOLECULAR

En la muestra analizada se ha identificado la presencia de la siguiente variante en un gen cuyos fenotipos asociados podrían ser compatibles, *a priori*, con el cuadro clínico descrito en el paciente:

Gen	Variante	Cigotidad	Clasificación/ACMG	Enfermedad
RHO (NM_000539.3)	c.316G>A p.Gly106Arg	Heterocigosis	Variante patogénica (PP5, PS1, PM1, PM5, PP3, PM2)	Retinosis pigmentaria 4 (AD, #613731)

N. Sin variantes ni VSI compatibles con el fenotipo descrito

“En la muestra analizada no se ha identificado la presencia de ninguna variante patogénica, probablemente patogénica o de significado incierto claramente compatible con el cuadro clínico descrito en el paciente”



N1: VSI en anexo.

Nota: Adicionalmente, se han identificado variantes de significado incierto en genes con una asociación parcial al fenotipo del paciente, con una información biológica menos sugestiva de patogenicidad y/o en genes con patología autosómica recesiva en los que no se ha identificado la presencia de una segunda variante clínicamente relevante. (ver apartado "otras variantes identificadas")

Estructura del informe de Exoma

4.-CONCLUSIÓN:

P1. RESULTADO POSITIVO:

5

Patogénica

4

Probablemente patogénica

RESULTADO POSITIVO:

La presencia en heterocigosis de la variante patogénica c.316G>A, p.Gly106Arg en el gen RHO, es compatible con un diagnóstico genético de Retinosis pigmentaria 4 en el paciente, con patrón de herencia autosómico dominante. El riesgo de recurrencia para la descendencia del paciente es del 50% en cada gestación.

P2. VSI COMPATIBLE:

3

Variante de significado clínico
incierto

RESULTADO NO INFORMATIVO: No se ha identificado la presencia de ninguna variante patogénica o probablemente patogénica compatible con el cuadro clínico descrito en el paciente.

Adicionalmente, se ha identificado la presencia de una variante de significado incierto en el gen XXX. La evidencia disponible actualmente es insuficiente para determinar el papel de esta variante en la enfermedad.

N. RESULTADO NEGATIVO:

RESULTADO NEGATIVO: No se ha identificado la presencia de ninguna variante clínicamente relevante compatible con el cuadro clínico descrito en el paciente. Este resultado no descarta la posibilidad de una enfermedad hereditaria/genética.

Al paciente se le ha realizado un exoma completo, si el paciente presentará un fenotipo diferente al descrito se podría reanalizar los datos genómicos.

Estructura del informe de Exoma

5.-OTRAS VARIANTES IDENTIFICADAS:

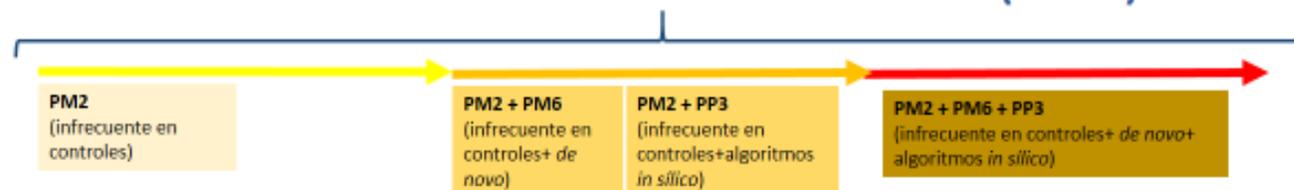
N1. VSI ANEXO: OTRAS VARIANTES IDENTIFICADAS

Variantes de significado incierto en genes con una asociación parcial al fenotipo del paciente, con una información biológica menos sugestiva de patogenicidad y/o en genes con patología autosómica recesiva en los que no se ha identificado la presencia de una segunda variante clínicamente relevante y cuya implicación o no en el fenotipo del paciente deberá ser valorada por el médico peticionario:

Gen	Variante	Cigosis	Clasificación/ACMG	Enfermedad
KMT2D (NM_003482.4)	c.3982C>T p.Arg1328Trp	Heterocigosis	Variante de significado incierto (PM2, BP1)	Síndrome de Kabuki 1 (AD, #147920)

NO SUFICIENTE PATOGENICIDAD

VARIANTE DE SIGNIFICADO INCIERTO (VSI) VARIANT OF UNCERTAIN SIGNIFICANCE (VOUS)



PATOLOGÍA AR



Variante patogénica/probablemente patogénica.
Heterocigosis en gen de herencia AR.
Se deben de buscar una segunda variante causante.

ASOCIACIÓN PARCIAL FENOTIPO

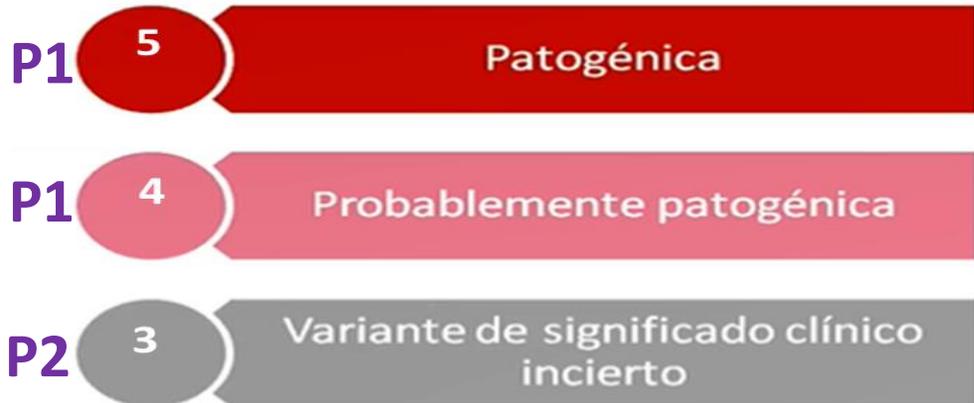


Valorar su posible implicación con el fenotipo

Estructura del informe de Exoma

5.-INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS (P1/2):

P. Información de la variante y enfermedad



RESULTADO MOLECULAR

En la muestra analizada se ha identificado la presencia de la siguiente variante en un gen cuyos fenotipos asociados podrían ser compatibles, *a priori*, con el cuadro clínico descrito en el paciente:

Gen	Variante	Cigosidad	Clasificación/ACMG	Enfermedad
RHO (NM_000539.3)	c.316G>A p.Gly106Arg	Heterocigosis	Variante patogénica (PP5, PS1, PM1, PM5, PP3, PM2)	Retinosis pigmentaria 4 (AD, #613731)

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Variante: c.316G>A; p.Gly106Arg en el gen RHO

Patologías asociadas al gen y modo de herencia: Ceguera nocturna estacionaria congénita (AD, #610445); Retinitis punctata albescens (AD, AR #136880); Retinitis pigmentosa 4 (AD, AR #613731).

Bases de datos: (ii) ClinVar: Variante probablemente patogénica (1 remitente); Variante patogénica (6 remitentes).

Frecuencias alélicas (rs104893773): A=0.001%. En la base de datos gnomAd se ha reportado esta variante en 4 alelos de un total de 250.554 alelos analizados, sin incluir ningún individuo homocigoto.

Clasificación ACMG: PS1 (variante que da lugar al mismo cambio aminoácido ya descrito como una variante patogénica); PM1 (variante localizada en un hot spot o dominio funcional establecido sin variantes benignas); PM2 (variante ausente o extremadamente infrecuente en controles); PM5 (variante que produce un nuevo cambio aminoácido en el mismo codón donde se han descrito variantes patogénicas); PP3 (los algoritmos in silico apoyan el efecto deletéreo sobre el gen); PP5 (fuentes confiables reportan esa variante como una variante patogénica).

Información adicional: La variante nucleotídica es una sustitución G>A, localizada en el exón 1 del gen RHO, que produce el cambio del aminoácido Glicina por una Arginina en la posición 106 de la cadena polipeptídica. Variantes patogénicas en heterocigosis en el gen RHO son causa de Retinitis pigmentosa (RP) 4 de herencia dominante y en menor frecuencia de RP de herencia recesiva. Las mutaciones en el gen RHO suponen entre el 30-40% de las RP de herencia autosómica dominante. Esta variante ha sido ampliamente descrita en la literatura (PMID: 1301135, 8905849, 11094174, 28559085) en casos familiares de RP.

Clasificación: VARIANTE PATOGENICA

*AR (autosómico recesivo)

*AD (autosómico dominante)

HERENCIA, RECURRENCIA, FENOTIPO ASOCIADO, PUBLICACIONES....

Estructura del informe de Exoma

6.-Recomendaciones:

“Se recomienda ofrecer un adecuado **asesoramiento genético** dentro de un contexto familiar.” **SIEMPRE**

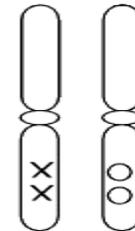
“Se recomienda realizar el estudio parental dirigido a la variante identificada en el gen XXX, para confirmar el **origen de novo** de la misma.” De novo, reforzaría patogenicidad o establecer riesgo de recurrencia para futura descendencia (P1, P2).

“Se recomienda **correlación clínica** entre el cuadro clínico del paciente y las patologías asociadas a los genes en los que se han identificado variantes” (N1 VSI anexo)

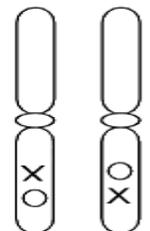
“Se recomienda realizar el estudio dirigido a la variante en homo/heterocigosis detectada en el gen XXX en progenitores y todos aquellos **familiares en riesgo de haberla heredado.**” Familiares con riesgo de tener la enfermedad (Clase 4 o 5,P1)

“En caso de confirmarse su configuración **trans**, este resultado sería compatible con un diagnóstico genético XXX en el paciente, con modo **de herencia autosómico recesivo.**” Dos mutaciones halladas en el mismo gen (heterocigosis compuesta). Estudio a los padres para confirmar **trans**.

X=alelo mutado
O = alelo normal



cis: dos mutaciones en el mismo cromosoma



trans: una mutación en cada uno de los dos cromosomas homólogos

Estructura del informe de Exoma

7.-Anexo/Limitaciones:

- Resumen de la **metodología** (exomas diferentes, coberturas, diferente sensibilidad para según qué genes). *“Este resultado no descarta la posibilidad de una enfermedad hereditaria/genética”*
- “Esta clasificación se realizará en base a **la información disponible en la fecha de análisis.**” Las variantes pueden cambiar de clasificación, nuevos genes causantes...
- Cribado de **CNVs** que se confirmará (array virtual que en el caso de “intuir” alguna CNV se validará). Deleciones o duplicaciones de uno o más exones (detección mediante técnica MLPA).
- **Limitaciones:** Mosaicos de bajo grado (<20%), genes complejos (CFTR, PKD1, CYP21A2...), zonas de baja cobertura.
- **“Hallazgos incidentales”** (siguiente sesión).
- Los **haplotipos** o polimorfismos de riesgo asociados a enfermedades requieren de otros factores para su desarrollo, por lo que quedan fuera del alcance de este análisis.

Conclusiones

- La **revisión fenotípica** debe ser lo más **completa** posible, ya que el fenotipo de los pacientes va a marcar los genes que se interpretan del exoma.
- La interpretación de variantes genéticas en **neonatos/lactantes es compleja** ya parte del fenotipo que se puede asociar a las variantes no está presente.
- El fenotipo en el que nos basamos es que aparece en **OMIM** (de consulta obligatoria, referencia internacional).
- Las **variantes de significado incierto son complejas** de entender para los pacientes por lo que es frecuente que el portador concluya, de forma errónea, que esa variante es casi seguro la causante de su patología.
- Exoma **“dinámico”**. ¡Siempre hay excepciones!

CONCLUSIONES



Correo personal: garcia_marpayb@gva.es

Correo corporativo: genetica_hgua@gva.es

Busca: 445110; **Despacho:** 965 913958

Interconsulta Orion: CEX_ANÁLISIS CLÍNICOS>GENÉTICA-INTERCONSULTA

Comité de Genética: reuniones periódicas