

CERPO

Centro de Referencia Perinatal Oriente
Facultad de Medicina, Universidad de Chile



Seminario N°1

Exoma y genoma prenatal

Técnica y aporte de su uso prenatal

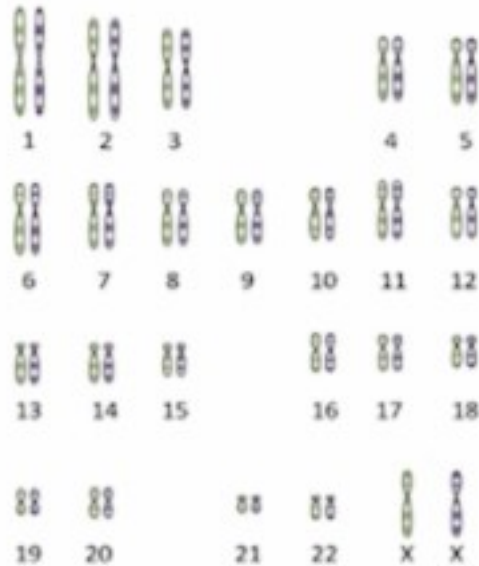
Dr. Cristóbal Jacobsen Collado
Dra. Catherine Díaz Sanhueza

Programa de Especialización Medicina Materno Fetal
Facultad de Medicina, Universidad del Desarrollo
Junio 2023



Introducción

- 3% de los embarazos presentan una alteración estructural.
 - Población general: 1% cromosómicas, 1% microdeleciones /duplicación, 1% monogénicas.
 - Alt estructural: 14% Cromosómicas, 8% microdeleciones /duplicación, 10% monogenicas.
- Estudio genético convencional
 - 14% tasa de detección.
- Microarray
 - Aumento la detección sobre el cariógrama en 4-6% anomalías cromosómicas
- Desde el 2005 secuenciación de nueva generación
 - >10% tasa de detección



Citogenética
 Alt. Microscópicas

Variantes numéricas y estructurales
 Aneuploidias-Translocaciones

CARIOTIPO-FISH



Citogenética molecular
 Alt. Submicroscópicas

Ganancias y pérdidas= CNVs
 Deleciones o duplicaciones

ARRAY



Genética molecular
 Alt. puntuales

Variantes de secuencia = SNVs
 Uno o varios nucleotidos

SECUENCIACION
 SANGER/NGS

HOME | ARTICLES & REVIEWS | CASES | SPECIALS & TOPICS | SUBSCRIPTIONS | CME

Clinical Whole-Exome Sequencing for the Diagnosis of Mendelian Disorders

Yiping Yang, Ph.D., Dongxiu He, M.D., M.Sc., Jeffrey C. Pineda, Ph.D., Matthew R. Saville, Ph.D., Heidi Piro, Ph.D., Patricia A. Hsieh, M.D., Alan Shalita, M.D., John Hadley, Ph.D., Fan Gu, Ph.D., Zhen He, Ph.D., Matthew Neuman, Ph.D., Richard Pevsny, Ph.D., Jill Sosa-Belkawa, M.D., Sagar G. Laha, Ph.D., Ananta Kishor, M.D., Peter Nham, M.D., Jennifer Cook, Ph.D., Min Wang, Ph.D., Yan-Qing Li, D., Shantanu C. Puri, M.D., Jih-S. James S. Luque, M.D., Ph.D., Arthur L. Dekaban, M.D., Robert S. Galan, Ph.D., and Christine M. Eng, M.D.
 N Engl J Med 2015; 374:1003-1011. DOI: 10.1056/NEJMoa1502002

Se extiende su uso en el diagnóstico de enfermedades genéticas

2013

Microarrays and Next-Generation Sequencing Technology: The Use of Advanced Genetic Diagnostic Tools in Obstetrics and Gynecology

WES en diagnóstico prenatal no está recomendado a la espera de más evidencias científicas

2016

ACMG recomienda primero un abordaje con paneles específicos en diagnóstico prenatal

2018

2010

Primera evidencia de su uso diagnóstico

Exome sequencing identifies the cause of a mendelian disorder

Sarah B Ng^{1,2}, Karl J Buckingham^{1,2,3}, Cheryl Lee¹, Abigail M Bigham¹, Holly E Taylor^{1,2}, Karim M Dorst¹, Chad D Huff¹, Paul T Shannon¹, Elylin Wang Loh^{1,4}, Deborah A Nickerson¹, Jay Shanderson¹ & Michael J Bamshad^{1,2,4*}

We demonstrate the first successful application of exome sequencing to discover the gene for a rare mendelian disorder of unknown cause. Miller syndrome (MIM 251270), for rare affected individuals in three independent kindreds, we captured and sequenced coding regions to a mean coverage of six and sufficient depth to call variants at ~97% of each targeted exome. Filtering against public SNP databases and eight tagSNP exomes for genes with two previously unknown variants in each of the four individuals identified a single candidate gene, *EDK3*, which encodes a key enzyme in the pyruvate de novo biosynthesis pathway. Sanger sequencing confirmed the presence of EDK3 variants in three additional families with Miller syndrome. Exome sequencing of a small number of unrelated affected individuals to a genomic, efficient strategy for identifying the genes underlying rare mendelian disorders and will likely transform the genetic analysis of monogenic traits.

Nature Genetics 41, 80-81 (2010)

2014

Exome sequencing improves genetic diagnosis of structural fetal abnormalities revealed by ultrasound

Karen J. Cossé¹, Sarah C. Hillman¹, Vijaya Parthiban¹, Dominic J. Mulligan¹, Esmara R. Maher¹, Mark D. Kilby^{1,2*} and Matthew K. Hurles¹

¹Wellcome Trust Sanger Institute, Wellcome Trust Genome Campus, Hinxton, Cambridgeshire CB10 1SA, UK, ²School of Clinical and Experimental Medicine (Birmingham Centre for Women's and Children's Health), College of Medical and Dental Sciences, University of Birmingham, Edgbaston, Birmingham B15 2TT, UK, ³West Midlands Regional Genetics Laboratory, Birmingham Women's NHS Trust, Edgbaston, Birmingham B15 2TG, UK and ⁴Yusuf Karaman Fertility Research Foundation, Birmingham B15 2TG, UK

Se evalúa su eficacia en diagnóstico prenatal (contexto de investigación)

2020

ACMG STATEMENT | Genetics in Medicine

The use of fetal exome sequencing in prenatal diagnosis: a points to consider document of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG)

Kristin G. Monaghan, PhD¹, Natalia T. Leach, PhD², Dawn Pekarek, MD³, Priya Prasad, MD⁴ and Nancy C. Rose, MD⁵, on behalf of the ACMG Professional Practice and Guidelines Committee

DIAGNÓSTICO PRENATAL (Rendimiento diagnóstico 10-20%)* Preferiblemente EXOMA TRIO

Secuenciación prenatal de nueva generación (NGS)



- Conjunto de tecnologías que permiten la secuenciación rápida de nucleótido a nucleótido de grandes fragmentos de ADN de manera eficiente en un solo experimento.
- Compara el genoma con uno de referencia detectando diferencias, cambios de posición de un nucleótido o si faltan o sobran piezas

The diagram illustrates Whole Genome Sequencing (WGS). It shows a cell with DNA being sequenced. Below, a pie chart breaks down the genome into various components:

Component	Percentage
Exons	1%
Introns	26%
Intergenic regions	63%
Repetitive elements	5%
Other	3%

Whole genome sequencing (WGS)

- Difícil de interpretar
- Un reto
- Pueden haber regiones que no conocemos
- Mucha información

The diagram illustrates Whole Exome Sequencing (WES). It shows a chromosome and a detailed view of a gene with exons and introns. Text indicates that only the coding part of the genome is sequenced.

Secuenciación exclusiva de la parte codificante del genoma (1-2%)

Se capturan específicamente los **exones** (85% de mutaciones relacionadas con enfermedades genéticas)

Whole exome sequencing (WES)

- Solo la parte codificante Del genoma. Los exomas

The diagram illustrates Targeted Sequencing (Panel Sequencing). It shows four specific genes labeled Gen A, Gen B, Gen C, and Gen D.

Secuenciación exclusiva de genes específicos

Paneles dirigidos (target sequencing)

- Genes concretos
- Nos quedamos cortos

Tipos de Exomas

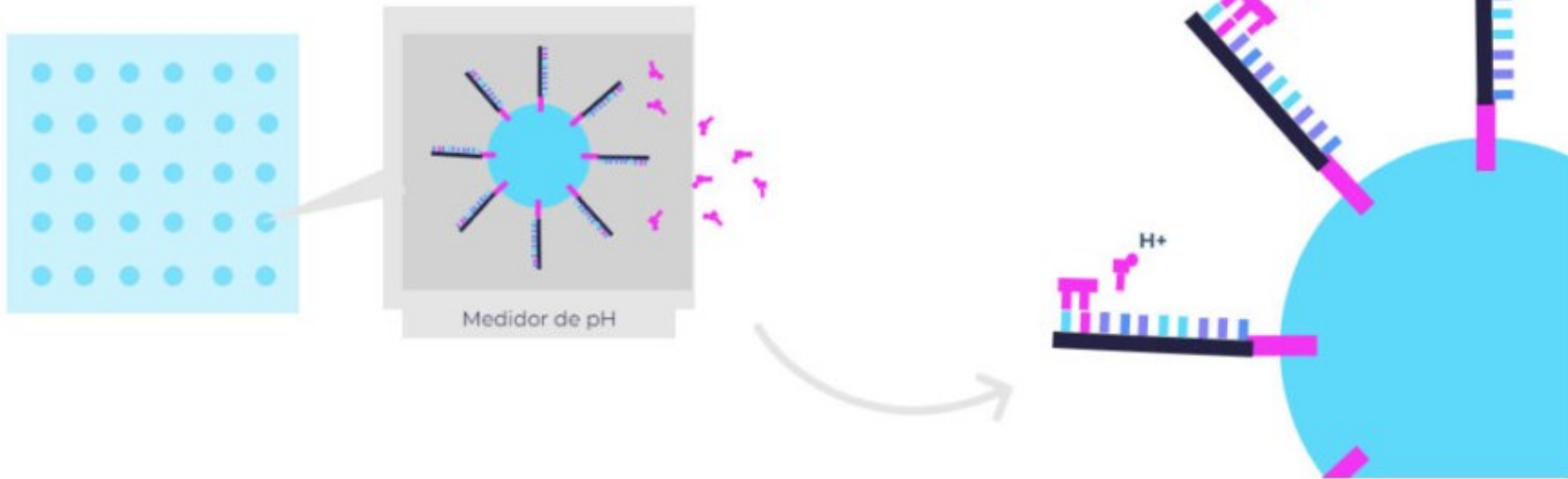


- **Exoma clínico dirigido.**
 - Consiste en analizar los exones de **ciertos genes seleccionados** para intentar aportar información en pacientes con un historial médico complejo o para explicar unos determinados síntomas que encajan con una enfermedad genética concreta. (Osteogénesis Imperfecta)
 - Este tipo de análisis tiene sentido cuando a pesar de **tener un cuadro de síntomas del paciente**, no se ha podido diagnosticar su enfermedad, pero se sospecha que puede haber varios genes involucrados.
- **Exoma clínico completo**
 - En este caso, la prueba consiste en el análisis de todos los **exones de todos los genes conocidos asociados a enfermedades aprox. 5000**
- **Exoma completo**
 - Consiste en la secuenciación de todos los exones de los más de **20.000 genes** conocidos. Es más frecuente su uso en investigación, pero en ocasiones también se realiza en clínica.

Secuenciación

- **Secuenciación por Ion Conductor (*Ion Torrent Sequencing*):**
- Se trata de una estrategia que se basa en la detección de las **modificaciones en el pH que se producen en la síntesis de ADN.**
- Para ello, se van incorporando nucleótidos a una cadena de ADN, provocando que se libere un protón (H^+) en la reacción y, por tanto, que se vea modificado el pH.
- Para poder diferenciar cuál de los cuatro tipos de nucleótidos se ha introducido en cada posición de la secuencia, se repiten varios ciclos, cada uno de ellos, con la adición de un único tipo de nucleótido.

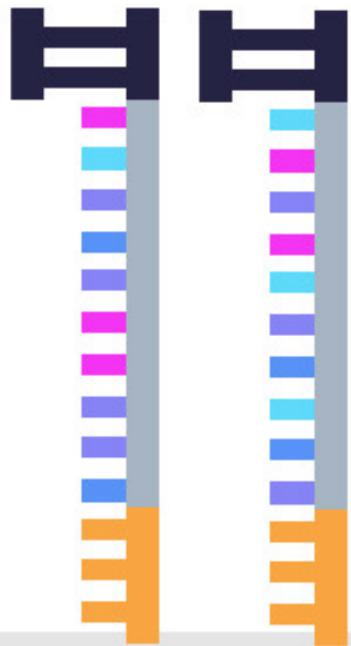
Secuenciación Ion Torrent





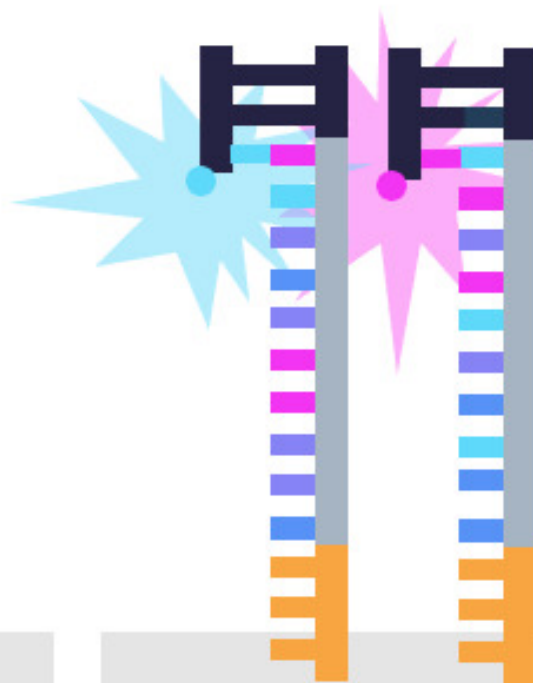
- **Secuenciación por terminación cíclica reversible:**
- Esta metodología se basa en la utilización de **nucleótidos marcados con fluoróforos** en una reacción de síntesis de ADN.
- Cada vez que uno de estos nucleótidos se incorpora a la cadena, el sistema toma una captura y registra de qué tipo de nucleótido se trata.
- Una vez tomada la captura, se eliminan los fluoróforos de los nucleótidos que se han incorporado y se continúa la síntesis de la cadena con nuevos nucleótidos marcados.

Secuenciación por terminación cíclica reversible:



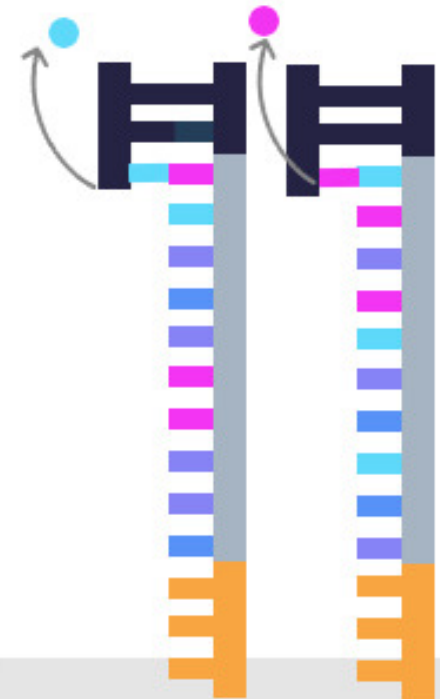
Adición de nucleótidos

Los nucleótidos marcados con fluoróforos se unen a las bases complementarias.



Imagen

Se captura la imagen de cada placa. Cada molécula emite el color correspondiente a la base incorporada en este ciclo.

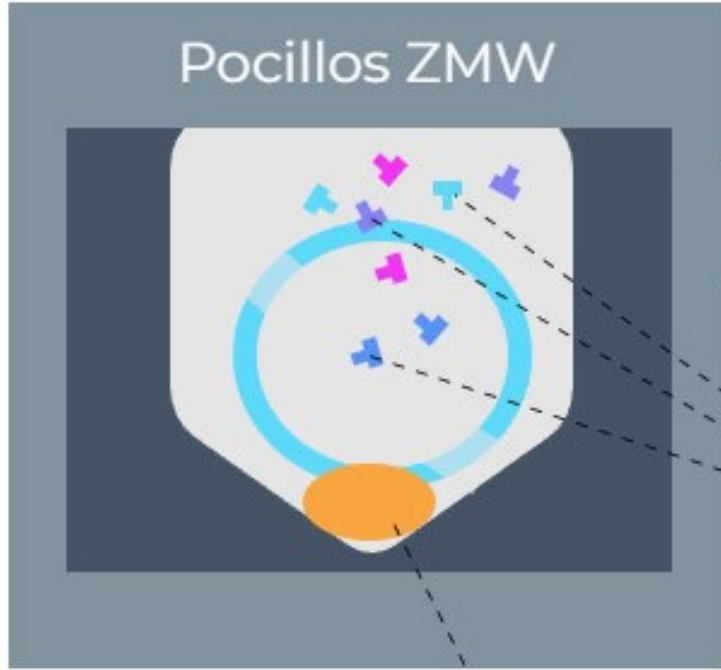


Escisión

Los fluoróforos se eliminan y comienza un nuevo ciclo con la adición de nuevos nucleótidos



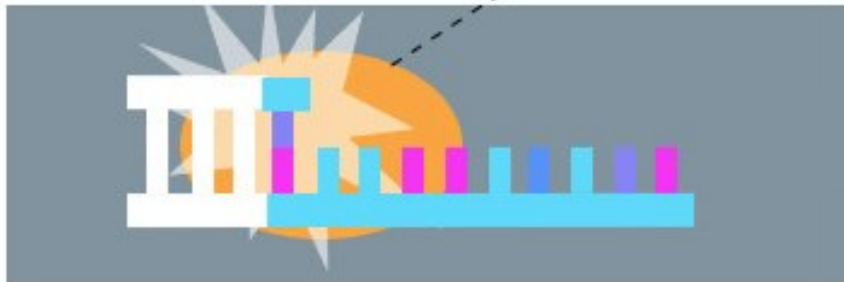
- **Secuenciación de una sola molécula de ADN (*SMRT Sequencing*)**
- Se basa en la utilización de **nucleótidos marcados** que se incorporan a una nueva cadena de ADN en un proceso de síntesis. Sin embargo, en la secuenciación SMRT se utiliza un soporte especial, unos pequeños pocillos denominados “**pocillos ZMW**”.
- En la secuenciación SMRT, las ADN polimerasas se anclan a la base de los pocillos ZMW. El ADN a secuenciar se divide en varios fragmentos y se unen sus extremos, lo que resulta en moléculas de una sola cadena de ADN “circular”. Luego, se añade uno de estos fragmentos a cada pocillo. En cada pocillo, se van incorporando nucleótidos marcados y el sistema va detectando la fluorescencia y obteniendo la secuencia de cada fragmento.



nucleótidos
marcados

ADN
polimerasa

Unión de un nucleótido



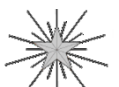
The Human Phenotype Ontology (HPO)



- Características:
 - fenotípicas humanas anormales
 - incluidos signos, síntomas, resultados de pruebas de laboratorio, hallazgos de imágenes y otras anomalías fenotípicas.
- La genética clínica ahora aproveche el HPO para codificar y calcular las características del paciente en el contexto de la clasificación de variantes genómicas.
- Es preciso y completo lo que es importante para la precisión diagnóstica.

- El rendimiento diagnóstico era significativamente mayor en casos clínicamente preseleccionados (42% vs. 15%) y difirieron entre subgrupos fenotípicos que van desde el 53% para anomalías esqueléticas aisladas hasta el 2% para translucencia nugal aislada.

- La anomalía fenotípica braquidactilia (HP:0001156) es raro en el síndrome de Hydrolethalus (3/56 según un estudio publicado al que se hace referencia en nuestros datos), pero afecta a casi el 100% de pacientes diagnosticados con la mayoría de las otras 484 enfermedades anotadas en este término.
- Este tipo de información puede ser utilizada por algoritmos para hallazgos de peso en el contexto del diagnóstico diferencial clínico.



#chr	start	end	ref	obs	genotype	orderids	plabels	zygosities	qual	quality	VAF	DP	VC_info	VC_count	gene	HGVSC	HGVSP	
variant_type	coding_and_splicing				dbSNP	EXDIST	phyloP	Sift	PP2_HVAR	PP2_HDIV	MutTaster	ExAC	ExAC_hom	Kaviar	1000G	PopFreqMax		
Gnomad	Exomes	Gnomad	Genomes	Gnomad	Genomes_hom		Gnomad	Exomes_hom	ada_score	rf_score	hpomatchcount	AVCA_evidence	AVCA_pre-classification					
CentoPrio	clin_rank																	
chr1	866511	866526	C	CCCCCT	het	63022149	index patient	het	608.6	Het, 34, 44.1, 608.6	44.1	34	hpcl(Het)	1	SAMD11			
NM_152486.2:c.305+54_305+57dupTCCC							intron_variant	SAMD11:NM_152486.2:intron_variant:MODIFIER:exon4/13:c.305+54_305+57dupTCCC:						rs375757231		-42		
					0.6036	18481	6,00E-06	0.148962	0.7	0.60755	0.543601	4316	39709	0				
chr1	871334	871334	G	T	het	63022149	index patient	het	364.64	Het, 22, 68.2, 364.64	68.2	22	freb(Het),hpcl(Het)	2	SAMD11			
NM_152486.2:c.430+58G>T							intron_variant	SAMD11:NM_152486.2:intron_variant:MODIFIER:exon5/13:c.430+58G>T:						rs4072383		-58		
					0.121103	0.497804	0.71	0.564874	5557	0	0	0	0					
chr1	876499	876499	A	G	hom	63022149	index patient	hom	1595.05	Hom, 57, 100, 1595.05	100	57	freb(Hom),hpcl(Hom)	2	SAMD11			
NM_152486.2:c.707-25A>G							intron_variant	SAMD11:NM_152486.2:intron_variant:MODIFIER:exon7/13:c.707-25A>G:						rs4372192		-3084		
					3.9e-05	0.913139	0.96	0.933529	0.928448	13518	80818	0	0					
chr1	876499	876499	A	G	hom	63022149	index patient	hom	1595.05	Hom, 57, 100, 1595.05	100	57	freb(Hom),hpcl(Hom)	2	NOC2L			
NM_015658.3:c.*3575T>C							downstream_gene_variant	NOC2L:NM_015658.3:downstream_gene_variant:MODIFIER:c.*3575T>C:						rs4372192		-3084		
					3.9e-05	0.913139	0.96	0.933529	0.928448	13518	80818	0	0					
chr1	877715	877715	C	G	hom	63022149	index patient	hom	771.06	Hom, 28, 100, 771.06	100	28	freb(Hom),hpcl(Hom)	2	SAMD11			
NM_152486.2:c.986-75C>G							intron_variant	SAMD11:NM_152486.2:intron_variant:MODIFIER:exon9/13:c.986-75C>G:						rs6605066		-1868		
					3.8e-05	0.887979	0.94	0.894201	12542	0	0	0	0					
chr1	877715	877715	C	G	hom	63022149	index patient	hom	771.06	Hom, 28, 100, 771.06	100	28	freb(Hom),hpcl(Hom)	2	NOC2L			
NM_015658.3:c.*2359G>C							downstream_gene_variant	NOC2L:NM_015658.3:downstream_gene_variant:MODIFIER:c.*2359G>C:						rs6605066		-1868		
					3.8e-05	0.887979	0.94	0.894201	12542	0	0	0	0					
chr1	880238	880238	A	G	hom	63022149	index patient	hom	1152.06	Hom, 37, 100, 1152.06	100	37	freb(Hom),hpcl(Hom)	2	NOC2L			
NM_015658.3:c.2144-58T>C							intron_variant	NOC2L:NM_015658.3:intron_variant:MODIFIER:exon18/18:c.2144-58T>C:						rs3748592		-277		
					0.174722	0.920927	0.95	0.935272	13733	0	0	0	0					
chr1	880238	880238	A	G	hom	63022149	index patient	hom	1152.06	Hom, 37, 100, 1152.06	100	37	freb(Hom),hpcl(Hom)	2	SAMD11			
NM_152486.2:c.*705A>G							downstream_gene_variant	SAMD11:NM_152486.2:downstream_gene_variant:MODIFIER:c.*705A>G:						rs3748592		-277		
					0.174722	0.920927	0.95	0.935272	13733	0	0	0	0					
chr1	881627	881627	G	A	hom	63022149	index patient	hom	2723.06	Hom, 96, 100, 2723.06	100	96	freb(Hom),hpcl(Hom)	2	NOC2L			
NM_015658.3:c.1843C>T							synonymous_variant	NOC2L:NM_015658.3:synonymous_variant:LOW:exon16/19:c.1843C>T:p.Leu615Leu						rs2272757		40		
					0.5653	20356	0.562867	0.441893	0.66	0.569638	0.48978	4518	42682	0				
chr1	881627	881627	G	A	hom	63022149	index patient	hom	2723.06	Hom, 96, 100, 2723.06	100	96	freb(Hom),hpcl(Hom)	2	SAMD11			
NM_152486.2:c.*2094G>A							downstream_gene_variant	SAMD11:NM_152486.2:downstream_gene_variant:MODIFIER:c.*2094G>A:						rs2272757		40		
					0.5653	20356	0.562867	0.441893	0.66	0.569638	0.48978	4518	42682	0				
chr1	883625	883625	A	G	hom	63022149	index patient	hom	2418.06	Hom, 84, 100, 2418.06	100	84	freb(Hom),hpcl(Hom)	2	NOC2L			
NM_015658.3:c.1558-13T>C							splice_region_variant&intron_variant	NOC2L:NM_015658.3:splice_region_variant&intron_variant:LOW:exon13/18:c.1558-13T>C:						rs4970378		0		
					-13	0.9999	24373	6,00E-06	1	1	0.999972	0.999873	15688	90802		0		
chr1	883625	883625	A	G	hom	63022149	index patient	hom	2418.06	Hom, 84, 100, 2418.06	100	84	freb(Hom),hpcl(Hom)	2	SAMD11			
NM_152486.2:c.*4092A>G							downstream_gene_variant	SAMD11:NM_152486.2:downstream_gene_variant:MODIFIER:c.*4092A>G:						rs4970378		-13		
					0.9999	24373	6,00E-06	1	1	0.999972	0.999873	15688	90802	0				
chr1	884091	884091	C	G	het	63022149	index patient	het	54.9	Het, 23, 26.1, 54.9	26.1	23	freb(Het)	1	NOC2L			
NM_015658.3:c.1444-108G>C							intron_variant	NOC2L:NM_015658.3:intron_variant:MODIFIER:exon12/18:c.1444-108G>C:						rs7522415		-4130		
					3.8e-05	0.41	0	0	0	Not_classified	0	0	0					
chr1	884091	884091	C	G	het	63022149	index patient	het	54.9	Het, 23, 26.1, 54.9	26.1	23	freb(Het)	1	SAMD11			
NM_152486.2:c.*4558C>G							downstream_gene_variant	SAMD11:NM_152486.2:downstream_gene_variant:MODIFIER:c.*4558C>G:						rs7522415		-4130		
					3.8e-05	0.41	0	0	0	Not_classified	0	0	0					
chr1	887560	887560	A	C	hom	63022149	index patient	hom	1381.06	Hom, 44, 100, 1381.06	100	44	freb(Hom),hpcl(Hom)	2	NOC2L			
NM_015658.3:c.1192-41T>G							intron_variant	NOC2L:NM_015658.3:intron_variant:MODIFIER:exon10/18:c.1192-41T>G:						rs3748595		-41		
					0.9241	50844	0.915912	0.89976	0.95	0.927722	0.908351	12984	106605	0				
chr1	887801	887801	A	G	hom	63022149	index patient	hom	3117.06	Hom, 104, 100, 3117.06	100	104	freb(Hom),hpcl(Hom)	2	NOC2L			
NM_015658.3:c.1182T>C							synonymous_variant	NOC2L:NM_015658.3:synonymous_variant:LOW:exon10/19:c.1182T>C:p.Thr394Thr						rs3828047		10		
					0.9355	52748	4.5e-05	0.922324	0.96	0.937795	0.935099	13717	110112	0				
chr1	888639	888639	T	C	hom	63022149	index patient	hom	2940.06	Hom, 93, 100, 2940.06	100	93	freb(Hom),hpcl(Hom)	2	NOC2L			
NM_015658.3:c.918A>G							synonymous_variant	NOC2L:NM_015658.3:synonymous_variant:LOW:exon9/19:c.918A>G:p.Glu306Glu						rs3748596		30		
					0.9356	52759	0.905552	0.922724	0.96	0.937849	0.934982	13731	110143	0				
chr1	888659	888659	T	C	hom	63022149	index patient	hom	2378.06	Hom, 75, 100, 2378.06	100	75	freb(Hom),hpcl(Hom)	2	NOC2L			
NM_015658.3:c.898A>G							missense_variant	NOC2L:NM_015658.3:missense_variant:MODERATE:exon9/19:c.898A>G:p.Ile300Val						rs3748597		10	0.037	
					T	B	0.9355	52529	0.913944	0.922724	0.96	0.937789	0.934963	13733	109829		0	
chr1	889158	889158	G	C	hom	63022149	index patient	hom	3099.06	Hom, 45, 100, 3099.06	100	45	hpcl(Hom)	1	NOC2L			
NM_015658.3:c.8884C>G							splice_region_variant&intron_variant	NOC2L:NM_015658.3:splice_region_variant&intron_variant:LOW:exon8/18:c.8884C>G:						rs13303056		-4		

TIPOS DE VARIANTES



- Variante patogénica:
 - se le llama a las mutaciones cuya definición se dio anteriormente en el manuscrito.
- Variante probablemente patogénica:
 - cuando el cambio nucleotídico presenta una probabilidad de más del 90% de ser patogénica.
- Variante incierta (VUS):
 - variante de significado incierto. Es decir no se puede definir si es patogénica o no.
- Variante probablemente no patogénica:
 - cuando el cambio nucleotídico presenta una probabilidad de más del 90% de no ser patogénica.
- Variante no patogénica:
 - aquella variante para la cual se ha demostrado que no tiene un efecto funcional.



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				<i>De novo</i> (without paternity & maternity confirmed) <i>PM6</i>	<i>De novo</i> (paternity & maternity confirmed) <i>PS2</i>	
Allelic Data		Observed in <i>trans</i> with a dominant variant <i>BP2</i> Observed in <i>cis</i> with a pathogenic variant <i>BP2</i>		For recessive disorders, detected in <i>trans</i> 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>			



© American College of Medical Genetics and Genomics

ACMG STATEMENT | Genetics
inMedicine

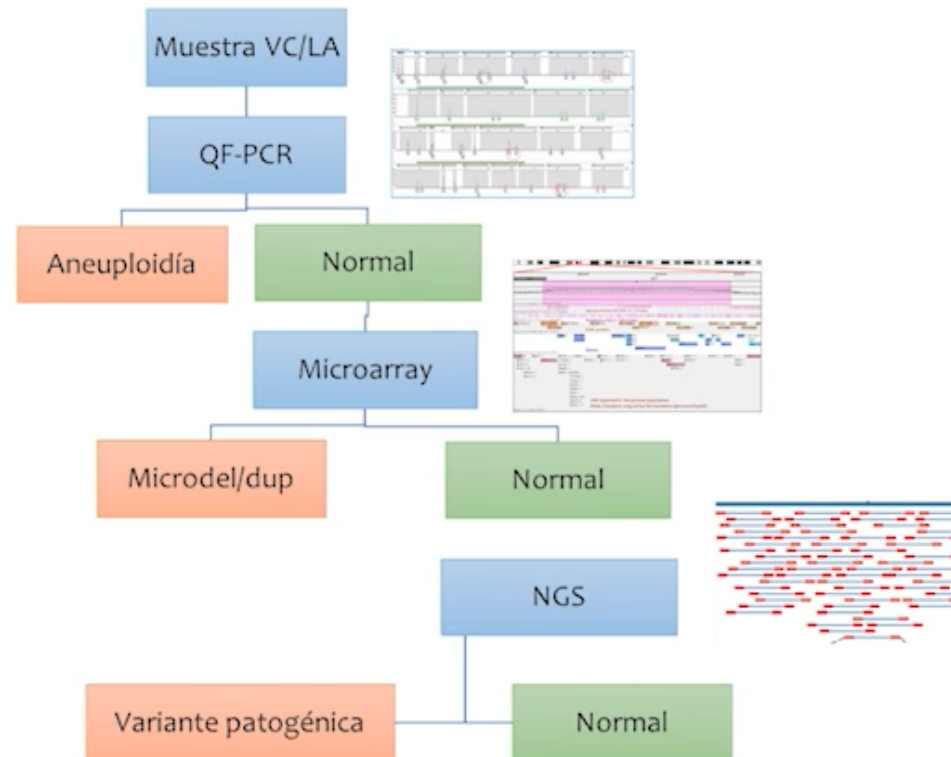


The use of fetal exome sequencing in prenatal diagnosis: a points to consider document of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG)

Kristin G. Monaghan, PhD¹, Natalia T. Leach, PhD², Dawn Pekarek, MD³, Priya Prasad, MD⁴ and Nancy C. Rose, MD⁵; on behalf of the ACMG Professional Practice and Guidelines Committee

- Considerar WES en gestaciones con hallazgo ecográfico y arrayCGH normal.
- **ESTRATEGIA EXOMA TRIO** (mayor rendimiento diagnóstico con menor tiempo de respuesta).
- El CI debe incluir la opción de conocer hallazgos secundarios o incidentales.
- No se recomienda reportar VUS en genes no relacionados con el fenotipo fetal.
- No se recomienda reportar estados de portador de enfermedades recesivas.

Estudios genéticos en fetos malformados



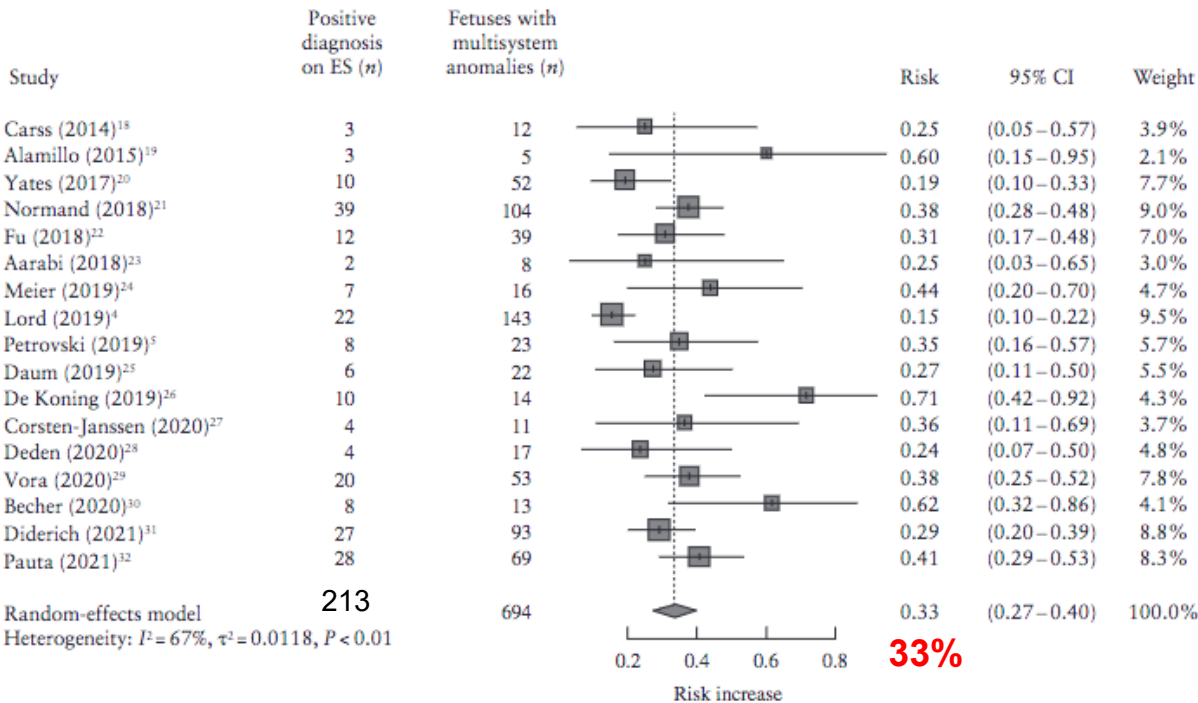


Diagnostic yield of exome sequencing in fetuses with multisystem malformations: systematic review and meta-analysis

M. PAUTA¹, R. J. MARTINEZ-PORTILLA² and A. BORRELL^{1,3}

¹BCNatal, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Catalonia, Spain; ²Clinical Research Division, Evidence-Based Medicine Department, National Institute of Perinatology, Mexico City, Mexico; ³Barcelona Centre for Maternal-Fetal and Neonatal Medicine (BCNatal), Hospital Clínic Barcelona, Universitat de Barcelona, Barcelona, Catalonia, Spain

KEYWORDS: diagnostic yield; exome sequencing; fetal structural anomaly; multisystem anomalies; prenatal diagnosis



Objetivo:

- determinar el rendimiento del exoma sobre ARRAY o Cariotipo (-)
- 2 o mas anomalías mayores en diferentes sistemas
- variantes probablemente patogénicas
- patogénicas

Síndromes frecuentes:

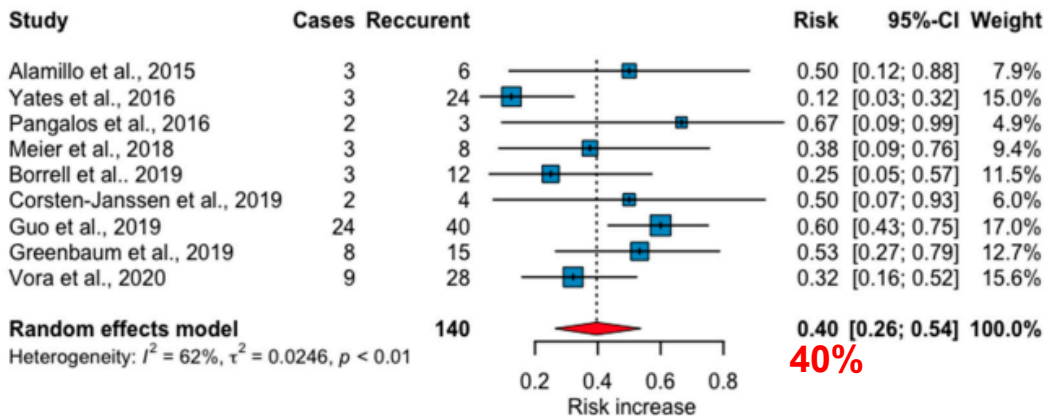
- **11 Kabukis:** cardiac + renal defects
- **7 CHARGE:** cardiac + facial defects
- **5 SLO:** skeletal + cardiac/genitourinary
- **22 RASopathies:** hydrops + other defects
- **11 Collagen:** skeletal + hydrops

El EXOMA aplicado a fetos con anomalías estructurales multisistémicas fue capaz de identificar un gen potencialmente causante cuando el ARRAY o Cariotipo no lo habían conseguido en un tercio adicional de los casos.

Review

Prenatal Exome Sequencing in Recurrent Fetal Structural Anomalies: Systematic Review and Meta-Analysis

Montse Pauta ¹, Raigam Jafet Martinez-Portilla ^{1,2} and Antoni Borrell ^{1,3,4,*}



- probabilidad de recurrencia de una anomalía estructural en embarazos únicos 2% lo que aumenta en un 4% al riesgo en general de anomalías congénitas.
- riesgo aumenta dramáticamente cuando es Autosómica recesiva o ligada al X

Objetivo

- Rendimiento Dg de exoma en fetos con anomalías estructurales recurrentes y con resultado negativo en microarray o cariotipo
- Anomalía recurrente, similar, sin Dg familiar de una mutación

- 80% herencia AR
- 30% variantes homocigotas
- 11% herencia ligada-X
- 10% herencia AD: un mosaico germinal
- Síndrome más frecuente: Meckel en 5 fetos con 4 genes distintos

Exoma ha demostrado mejorar el rendimiento diagnóstico de anomalías estructurales fetales recurrentes, para poder descubrir nuevos genes potencialmente relevantes en el desarrollo humano, y poder identificar nuevas variantes patógenas.



Diagnostic yield of next-generation sequencing in fetuses with isolated increased nuchal translucency: systematic review and meta-analysis

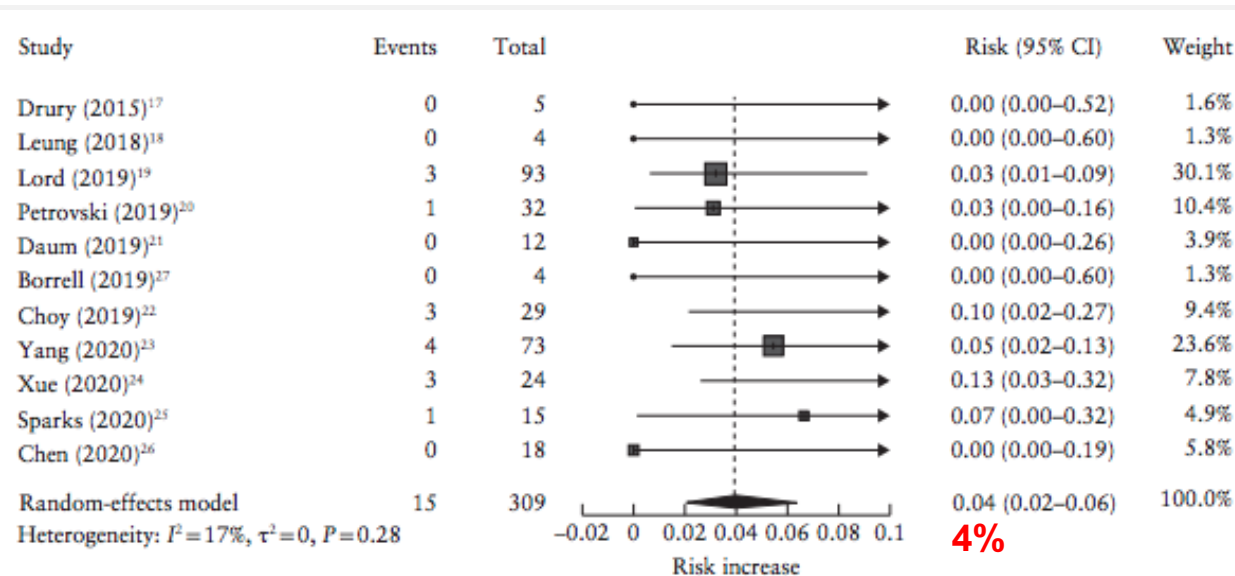
M. PAUTA¹, R. J. MARTINEZ-PORTILLA¹ and A. BORRELL^{1,2}

¹Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain; ²Barcelona Centre for Maternal-Fetal and Neonatal Medicine (BCNatal), Hospital Clínic Barcelona, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain

Objetivo

-Para determinar el rendimiento diagnóstico del exoma sobre el ARRAY en fetos con aumento translucencia nuchal y sin anomalías concomitantes.

TN>3.5mm/ARRAY neg



- Noonan s. (n=4)
- Sotos s.
- Meckel s.
- CHARGE s.
- Opitz GBBB s.
- RERE-disorder
- Polyvalvular s.
- KBG s.
- AV Defect 2
- Luscan-Lumish s.
- Multiple cong. defects s.
- Autonomic disfunction

Table 2 Characteristics of 15 fetuses with isolated increased nuchal translucency (NT) in which a causative pathogenic (Pat) or likely pathogenic (L Pat) variant was identified on prenatal exome or genome sequencing

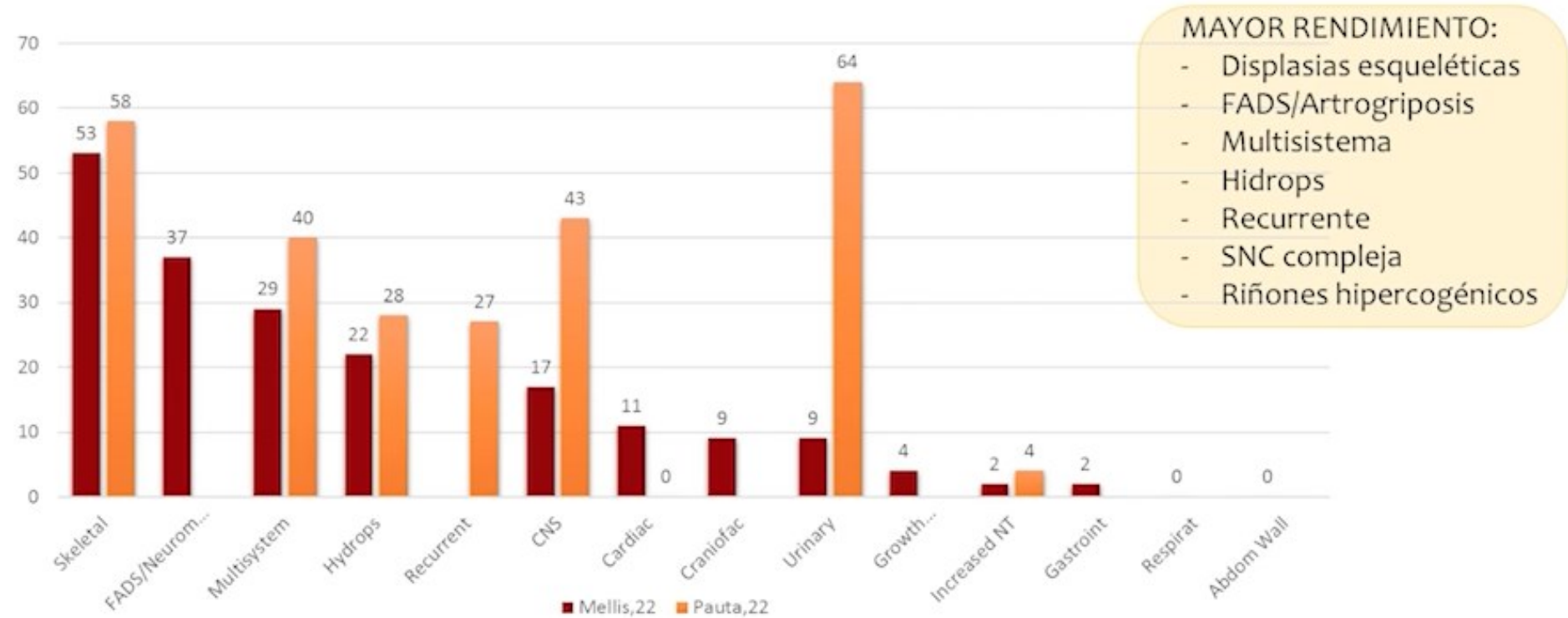
Case	Ref	NT (mm)	Gene	Variant	Type	Clin class	Inheritance	Zygoty	Related syndrome or disorder
1	19	4.5	<i>PTPN11</i>	NM_002834.5:c.922A>G	Missense	Pat	Inherited (AD)	Hetero	Noonan syndrome
2	19	4.7	<i>MID1</i>	NM_033290.4:c.1102C>T	Nonsense	Pat	<i>De novo</i> (X-linked)	Hemi	Opitz GBBB syndrome, type I
3	19	8.0	<i>TAB2</i>	NM_015093.5:c.1407_1408delTC	Frameshift	Pat	<i>De novo</i> (AD)	Hetero	Polyvalvular heart disease syndrome
4	20	3.5	<i>RERE</i>	NM_001042681.2:c.248dupA	Frameshift	Pat	<i>De novo</i> (AD)	Hetero	<i>RERE</i> -related disorder
5	22	4.8	<i>ANKRD11</i>	NM_001256182:c.2404dupC	Frameshift	L Pat	<i>De novo</i> (AD)	Hetero	KBG syndrome
6	22	5	<i>GATA4</i>	NM_002052:c.C1325T	Missense	L Pat	Inherited (mat) (AD)	Hetero	Atrial septal defect 2
7	22	3.5	<i>NSD1</i>	NM_022455:c.3797-2A>G	Splicing	Pat	N/S (AD)	Hetero	Sotos syndrome
8	23	4.0	<i>SETD2</i>	NM_014159:c.4376C>T	Missense	Pat	<i>De novo</i> (AD)	Hetero	Luscan–Lumish syndrome
9	23	4.0	<i>TMEM231</i>	ENST00000568377:c.525+1G>A; c.661C>T	Splicing/missense	L Pat/Pat	Inherited (AR)	Compound hetero	Meckel syndrome
10	23	5.1	<i>PTPN11</i>	NM_002834.4:c.124A>G	Missense	Pat	<i>De novo</i> (AD)	Hetero	Noonan syndrome
11	23	6.3	<i>RAF1</i>	NM_002880:c.770C>T	Missense	Pat	<i>De novo</i> (AD)	Hetero	Noonan syndrome
12	24	3.5	<i>PIGN</i>	NM_176787.5:c.963G>A; c.1859+1G>A	Synonymous/splicing	L Pat/L Pat	Inherited (AR)	Compound hetero	Multiple congenital anomalies, hypotonia–seizures syndrome 1
13	24	7.9	<i>SOS1</i>	NM_005633.4:c.1297G>A	Missense	Pat	<i>De novo</i> (AD)	Hetero	Noonan syndrome 4
14	24	8.8	<i>ECE1</i>	NM_001113349.2:c.1930G>A	Missense	L Pat	<i>De novo</i> (AD)	Hetero	Hirschsprung disease, cardiac defects, autonomic dysfunction
15	25	4.5	<i>CHD7</i>	NM_017780.3:c.3422_3423delTG	Frameshift	Pat	<i>De novo</i> (AD)	Hetero	CHARGE syndrome

Una alternativa El enfoque sería usar un corte de NT más alto de 5 (40%) o 7 mm (20%), en lugar del percentil 99, para realizar ES en casos de aumento de NT.

El ADN libre de células dirigido y extendido las pruebas fallarían en fetos con aumento de NT. Menos de un tercio (4/15) de las enfermedades monogénicas identificadas fueron el síndrome de Noonan.

Curiosamente, los dos casos de síndrome de Noonan desarrollaron derrame pleural o un defecto cardíaco en el segundo trimestre

Por este motivo, se está convirtiendo práctica común para realizar un panel de RASopatía en 16-17 semanas en casos de aumento persistente de NT o cuando cualquier otro signo de hidrops aparece en el segundo trimestre,



En nuestro centro consideramos que el exoma clínico comporta el mejor balance entre el exoma completo y los paneles multigénicos. Lo ofrecemos en 4 tipos de anomalías fetales:

1. Anomalías multisistema (RD: 39%)
2. Anomalías recurrentes (RD: 24%)
3. Anomalías complejas SNC (RD: 44%)
4. Displasias esqueléticas (RD: 54%)

Ofrecemos paneles virtuales multigénicos en:

1. Hidrops/PN persistente (*in house*)(RD: 41%/11%)
2. Riñones hiperceogénicos (RD: 58%)
3. Craneosinostosis (RD: 38%)
4. Esclerosis tuberosa (RD: 33%)
5. Osteogenesis Imperfecta (*in house*)(RD: 14%)

CERPO

Centro de Referencia Perinatal Oriente
Facultad de Medicina, Universidad de Chile



Seminario N°1

Exoma y genoma prenatal

Técnica y aporte de su uso prenatal

Dr. Cristóbal Jacobsen Collado
Dra. Catherine Díaz Sanhueza

Programa de Especialización Medicina Materno Fetal
Facultad de Medicina, Universidad del Desarrollo
Junio 2023