

.UBA EXACTAS 

Jornadas de Genómica Clínica

Implementación de Diagnóstico Genómico Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez

Dra. María Gabriela Ropelato

Jefe Sección Laboratorio de Endocrinología

Investigador Principal

Centro de Investigaciones Endocrinológicas “Dr. César Bergadá” (CEDIE)

CONICET – FEI – División de Endocrinología, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez



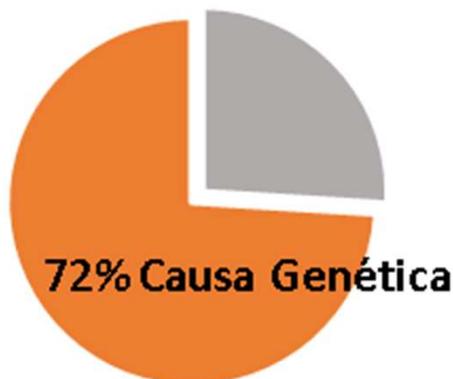
C E D I E

ENFERMEDADES POCO FRECUENTES (EPOF)

Hay más de 6000 EPOF conocidas



Afectan entre el 3 al 5.9 % de la población en el transcurso de sus vidas



70% comienza en la infancia

ARGENTINA



En Argentina **1 Millón y Medio** de personas podrían tener una EPOF a lo largo de su vida.

Impacto de las EPOF en Salud pública

- Defectos congénitos → 2° causa de mortalidad pediátrica (50 % causa desconocida)

Gráfico 8. TASAS DE MORTALIDAD INFANTIL, NEONATAL Y POSNEONATAL (por cada 1.000 nacidos vivos). República Argentina, 1990-2011

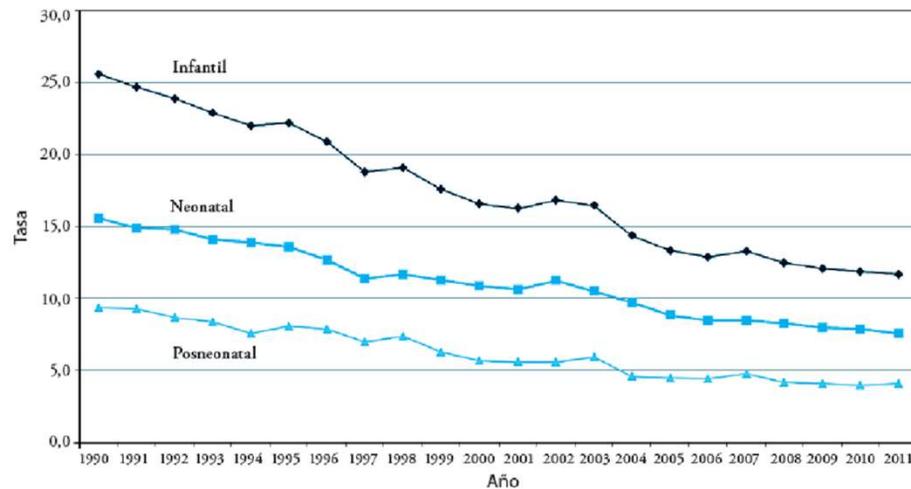


Tabla 19. PRINCIPALES CAUSAS DE MUERTES EN EL PRIMER AÑO DE VIDA por grupos de causas. República Argentina, 2011

	Cifras	%
Total defunciones	8.878	100
Ciertas afecciones originadas en el período perinatal	4.329	48,76
Malformaciones congénitas, deformidades y anomalías cromosómicas	2.220	25,01
Enfermedades del sistema respiratorio	764	8,61
Enfermedades infecciosas y parasitarias	377	4,25
Causas externas	262	2,95

Impacto de la enfermedad genética en los ingresos hospitalarios en un Servicio de Pediatría

ARTÍCULOS DE INVESTIGACIÓN

Enfermedad genética en hospitalizados pediátricos - A. Moya et al

Enfermedad de Causa Genética:

- **52.7 % de Prevalencia en Hospitalizaciones**
- **12 veces más Hospitalizaciones Programadas**
- **2.7 veces más Rehospitalizaciones**

Tabla 1. Características de admisiones según categorías de enfermedad, Servicio Pediatría Hospital Clínico Pontificia Universidad Católica, Chile 2011

	Con enfermedad genética	Sin enfermedad genética	Total	Valor p	OR	IC
Total hospitalizaciones, n (%)	938 (52,7)	843 (47,3)	1.781 (100)			
Casos, n (%)	705 (48,3)	754 (51,7)	1.459 (100)			
Sexo masculino, n (%)	371 (53,5)	421 (55,5)	792 (54,5)	0,10		
Promedio edad meses 1ª hospitalización (DE)	53,4 (± 55,1)	56,1 (± 52,7)	54,8 (± 53,9)	0,38		
Promedio días hospitalización (DE)	5,58 (± 12,3)	4,03 (± 6,4)	4,9 (± 10)	0,002	-	0,6-2,4
Hospitalizaciones programadas	665 (82%)	146 (18%)	811	0,0001	11,6	9,3-14,6
Total rehospitalizaciones	233	89	322	0,0001	2,7	2,1-3,6
Total casos rehospitalizados	128	58	186	0,0001	2,6	1,9-3,6

IM...



Options ▾

OMIM Entry Statistics

Number of Entries in OMIM (Updated October 19th, 2022) :

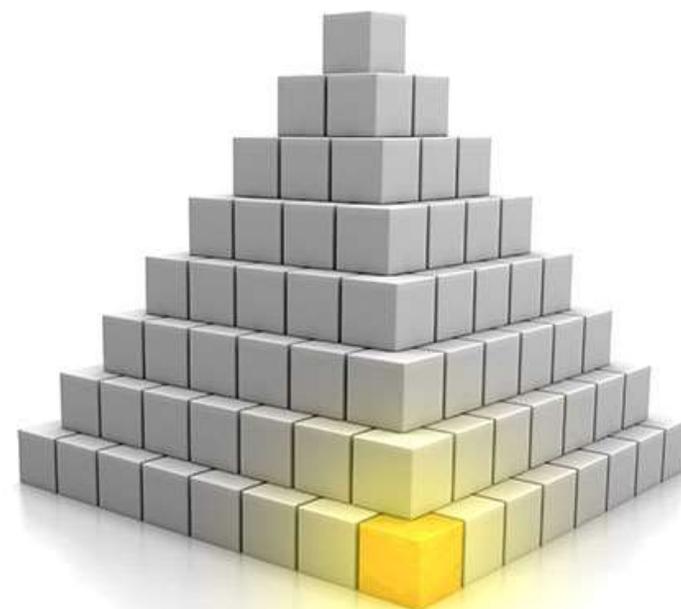
MIM Number Prefix	Autosomal	X Linked	Y Linked	Mitochondrial	Totals
Gene description *	16,015	757	51	37	16,860
Gene and phenotype, combined +	27	0	0	0	27
Phenotype description, molecular basis known #	6,083	370	5	34	6,492
Phenotype description or locus, molecular basis unknown %	1,395	112	4	0	1,511
Other, mainly phenotypes with suspected mendelian basis	1,645	102	3	0	1,750
Totals	25,165	1,341	63	71	26,640



Exactitud Diagnóstica Genómica (Accurate Genomic Diagnosis)

Capacidad de discernir la causa molecular precisa (genotipo) que explica las características clínicas de una condición (fenotipo).

Es la piedra fundamental para una práctica médica segura.



International Rare Diseases Research Consortium (IRDiRC) for 2017 - 2027



IRDiRC
INTERNATIONAL
RARE DISEASES RESEARCH
CONSORTIUM

Vision

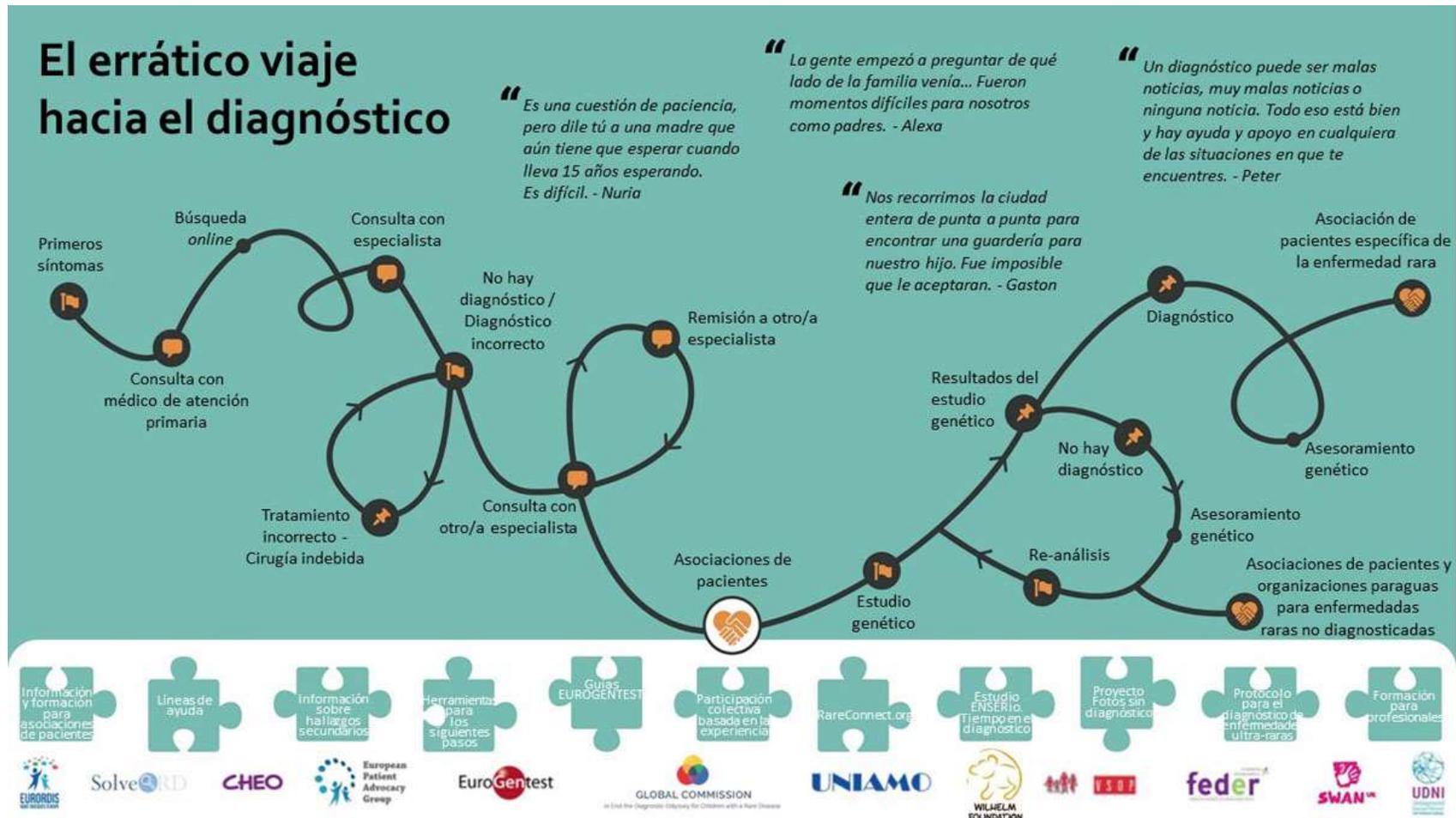
Enable all people living with a rare disease to receive an accurate diagnosis, care, and available therapy within one year of coming to medical attention

Goal 1
DIAGNOSIS

Goal 2
THERAPIES

Goal 3
IMPACT

The graphic features a world map in the background with a red border. The text is overlaid on the map, with the vision statement centered and the three goals positioned below it. The IRDiRC logo is located in the top right corner of the graphic.

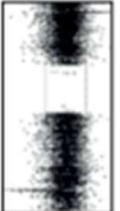


From Genetic Tests to Genomic Tests

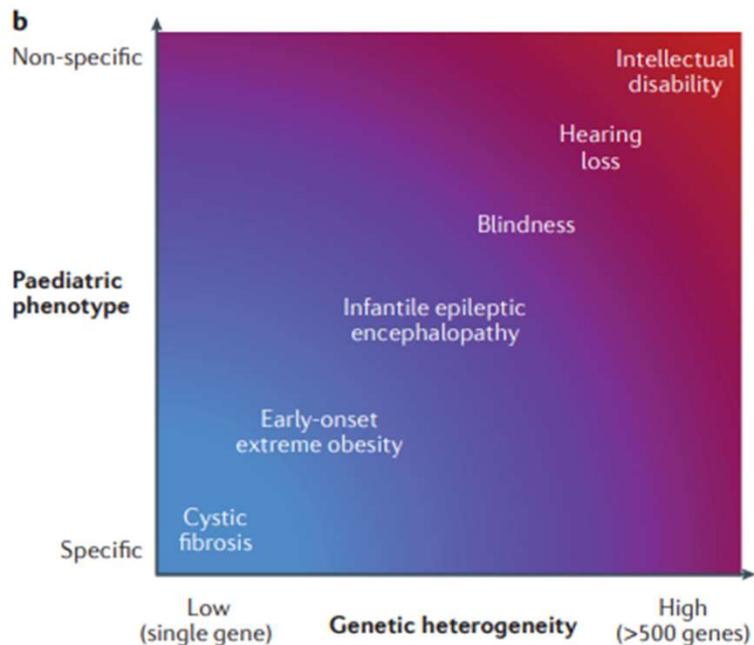
Traditional genetic testing

Single gen molecular test

Diagnostic tests based on next-generation sequencing

	Light microscope	G-banded karyotype	Microarray	Sanger sequence	Whole-exome sequence	Whole-genome sequence
a						
Appearance				CGGATGATTA TGGCCGATAAG	CGGATGATTACCGTT G.....GCTC TAGCTAGCTATA....	CGGATGATTACCGTT GATATAGCTCTCGCTC GCTCTAGCTAGCTATA GGCTATGGGTGGGGGC
Resolution	Entire chromosome	5–10 Mb	50–100 kb	1 bp	1 bp	1 bp
Number of loci probed	N/A	~500	~0.05–2 million	1	~50 million	3 billion
Variants detected	Aneuploidy, polyploidy	Variants >5 Mb	Copy number variants	SNVs, small insertions/deletions	Coding regions	Majority of variants
Variants per person	0 or 1	0 or 1	10–100s	~3/gen	~80 thousands	4–5 million
Diagnostic yield	Low	—————→				High
Incidental findings	Low	—————→				High

Estrategia de diagnóstico molecular: Aplicación NGS



Optimal diagnostic testing strategy

- Single gene (1–2 variants per person)
- Gene panel (100s of variants per person)
- WES and/or WGS (20,000 coding variants or 4–5 million variants per person)

https://www.malacards.org/card/early_infantile_epileptic_encephalopathy?search=infantile%20epileptic%20encephalopathy

Nat Rev Genet. 2018 May;19(5):325

Jump to section Sources **Genes for Early Infantile Epileptic Encephalopathy**

Genes related to Early Infantile Epileptic Encephalopathy (34 elite genes): (show top 50) (show all 170)

★ - Elite gene ⓘ ⓘ - Cancer Census gene in COSMIC ⓘ

#	Symbol	Description	Category	Score	Evidence	PubMed IDs
1	SLC25A22 ★	Solute Carrier Family 25 Member 22	Protein Coding	801.01	Pathogenic ⁵ Causative germline mutation ⁵⁸ Likely pathogenic ⁵ DISEASES inferred ¹⁴ GeneCards inferred via (show sections)	15592994 19780765 25033742 (more)
2	GNAO1 ★	G Protein Subunit Alpha O1	Protein Coding	781.52	Pathogenic ⁵ Causative germline mutation ⁵⁸ Likely pathogenic ⁵ DISEASES inferred ¹⁴	25966631 26060904 27068059 (more)
3	CDKL5 ★	Cyclin Dependent Kinase Like 5	Protein Coding	757.6	Pathogenic ⁵ Causative germline mutation ⁵⁸ DISEASES inferred ¹⁴	22196487 22787626
4	SCN2A ★	Sodium Voltage-Gated Channel Alpha Subunit 2	Protein Coding	757.49	Pathogenic ⁵ Causative germline mutation (gain of function) ⁵⁸ DISEASES inferred ¹⁴	23550958 23935176
5	CACNA2D2 ★	Calcium Voltage-Gated Channel Auxiliary Subunit Alpha2delta 2	Protein Coding	449.06	Pathogenic ⁵	24358150 16199547



Hospital de Niños “Dr Ricardo Gutiérrez”

- **Docencia:** Pionero y entre los mayores formadores de especialistas en América
- **Investigación:** 24 investigadores y becarios del consejo de investigaciones CABA
- **30% de las publicaciones en Pubmed de las instituciones públicas de salud CABA**
- **CONICET:** >70 investigadores, becarios y técnicos. 2 Unidades ejecutoras (CEDIE, IMIPP)



<https://www.buenosaires.gob.ar/hospitalgutierrez>

Misión

Ofrecer la **mayor complejidad asistencial** en la atención de niños y adolescentes constituyéndose en **centro referencial** de una verdadera red pediátrica, coordinando su actividad y prestaciones con los otros hospitales y centros de atención en un marco integrado y participativo.

El hospital estará, como siempre, **centrado en el paciente** y en las necesidades de la comunidad, con un **perfil asistencial, de docencia e investigación.**

Diagnóstico Genético de Enfermedades Hereditarias Pediátricas HNRG

Endocrinología: Dr. Cullen, Dr. Bergadá, Dr. Coco, Dra. del Rey

Laboratorio de Citogenética

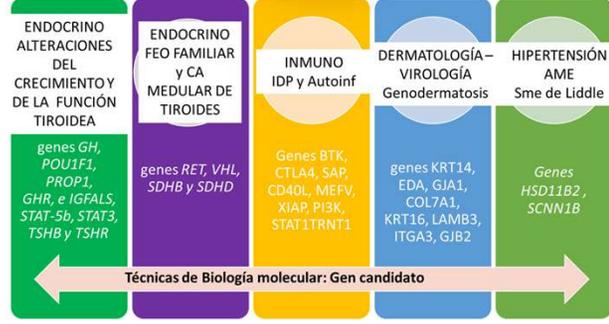


Secretaría de Salud Pública Municipalidad de Buenos Aires

Sección Genética Médica HNRG



CREACIÓN CEDIE - 1973



Cromatina sexual
Cariotipo convencional

Sección Genética Médica HNRG. Dr. Penchaszadeh, Dra. Barreiro, Dra. Tello.

FS-BIO PBIT FONARSEC

Proyecto n° 0012 / 2013



Ministerio de Ciencia, Tecnología, e Innovación Productiva
Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica
Fondo Argentino Sectorial

"2013 - AÑO DEL BICENTENARIO
DE LA ASAMBLEA GENERAL
CONSTITUYENTE DE 1813"

ANEXO I

Bases de la Convocatoria Fondo Sectorial de Biotecnología

Proyectos Biotecnológicos de Investigación Traslacional FS PBIT 2013

Proyectos Biotecnológicos de Investigación Traslacional

FS PBIT 2013

La Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica, a través del Fondo Argentino Sectorial (FONARSEC), convoca a consorcios público-privados, constituidos para la presentación de proyectos destinados a generar plataformas biotecnológicas que posibiliten avances destinados a mejorar la atención de la salud de la población en Hospitales públicos a partir de la investigación traslacional. Esta última aúna en una misma ciencia, la investigación básica, su aplicación clínica y la innovación tecnológica, es decir, la aplicación de los conocimientos básicos que se adquieren en el laboratorio de investigación a la práctica clínica, con el objetivo de mejorar la asistencia médica.

1.- Objetivo

La convocatoria tiene como objetivo financiar parcialmente proyectos biotecnológicos de investigación traslacional que hagan posible mejoras en la atención de la salud, en base a nuevas tecnologías e innovaciones desarrolladas en el ámbito científico.

OBJETIVO:

Financiar proyectos biotecnológicos de investigación traslacional que hagan posible mejoras en la atención de la salud en Hospitales públicos

Estado de Situación:

2013

Diagnóstico de Enfermedades Hereditarias en HNRG



From Genetic Tests to Genomic Tests

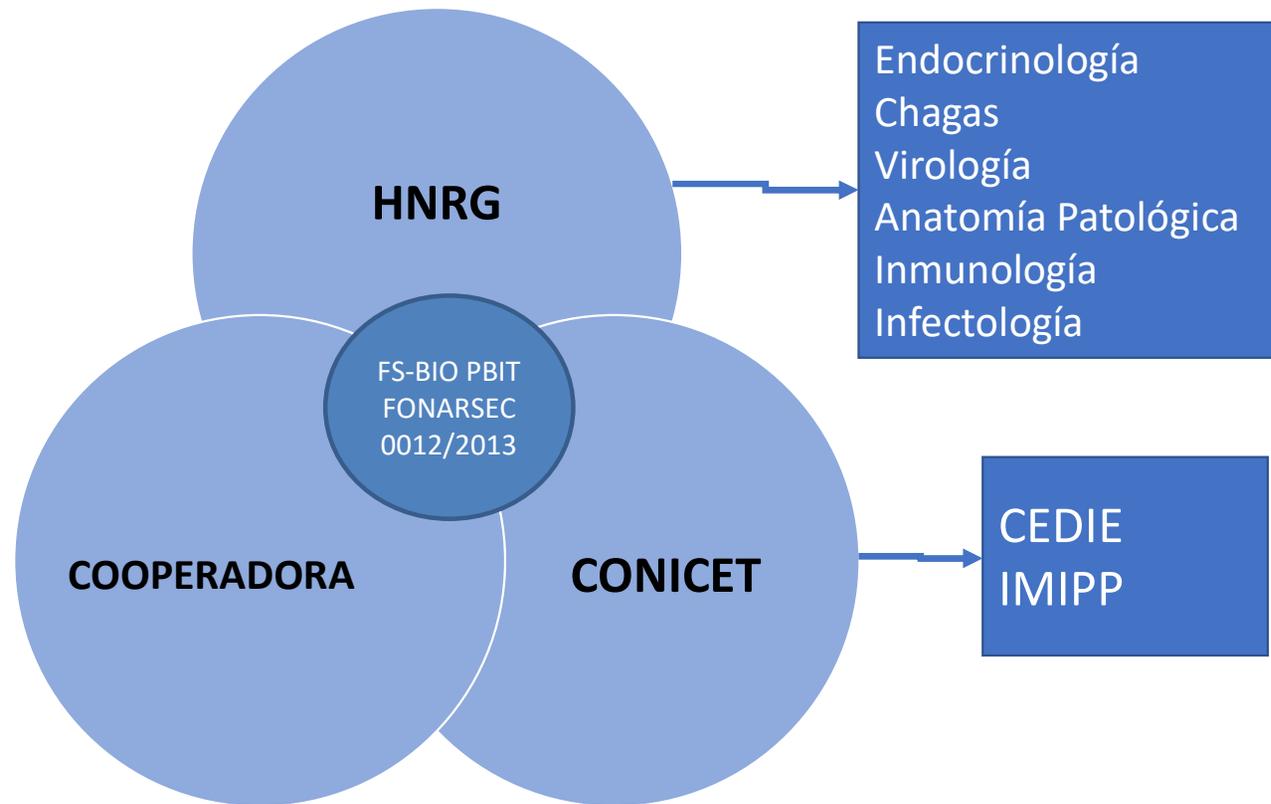
Traditional genetic testing



Diagnostic tests based on next-generation sequencing

a	Light microscope	G-banded karyotype	Microarray	Sanger sequence	Whole-exome sequence	Whole-genome sequence
Appearance				CGGATGATTTA TGGCCGATAAG	CGGATGATTACCCGTT G.....GCTC TAGCTAGCTATA....	CGGATGATTACCCGTT GATATAGCTCTCGCTC GCTCTAGCTAGCTATA GGCTATGGGTGGGGGC
Resolution	Entire chromosome	5–10 Mb	50–100 kb	1 bp	1 bp	1 bp
Number of loci probed	N/A	~500	~0.05–2 million	1	~50 million	3 billion
Variants detected	Aneuploidy, polyploidy	Variants >5 Mb	Copy number variants	SNVs, small insertions/deletions	Coding regions	Majority of variants
Variants per person	0 or 1	0 or 1	10–100s	~ 3/gen	~20,000	4–5 million
Diagnostic yield	Low	High				High
Incidental findings	Low	High				High

INVESTIGACION TRASLACIONAL INTEGRAL PARA LA SALUD PEDIATRICA



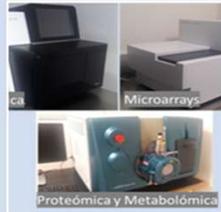
FS-BIO PBIT FONARSEC Proyecto n° 0012 / 2013

Investigación Traslacional: Genómica Pediátrica

Etapas de Investigación, Desarrollo y Producción

2013

Subsidio
FONARSEC
(MINCYT /
ANPCyT)



2016
Creación



2022
Apertura y
Sustentabilidad



2014-2015
Construcción –
Equipamiento–
Capacitación

Unidad de Investigación Traslacional



2017-2021

Subsidio
FONARSEC
(MINCYT /
ANPCyT)

Investigación,
Desarrollo

Creación Unidad de
Medicina Traslacional
HNRG

Subsidio Fonarsec 2013 y
Edificio donado por
Cooperadora Hospital de
Niños Gutiérrez

Impacto del Proyecto

Pacientes

Beneficiar al
enfermo

Educación

Difundir la
tecnología en el
ámbito local.
Formar más
profesionales

Innovación

Permitir el
desarrollo de
técnicas
innovadoras
locales

Acceso

Nomenclar y
validar estas
nuevas
tecnologías

Infraestructura:

- **Genómica**
- **Proteómica**
Metabólica
- **Bioinformática**

Equipamiento

- **Secuenciador NGS (NextSeq500/Illumina)**
- **Secuenciador Sanger (ABI3500/Applied Biosystems)**
- **Microarray (SureScan/Agilent)**
- **PCR real time (Light Cycler/Roche)**
- **Cromatógrafo de ultra-alta precisión (UPLC Nexera X2/Shimadzu)**
- **Espectrómetro de masa en tándem (MS/MS) (Qtrap 6500/ABSciex)**



HOSPITAL DE NIÑOS
RICARDO GUTIÉRREZ

2017

FS-BIO 2017
Subsidio FONARSEC (MINCyT / ANPCyT)
Biotecnología Aplicada a la Salud:
Medicina de Precisión

Genómica clínica de enfermedades pediátricas

Objetivo

Desarrollar e implementar un servicio de **Genómica Clínica** para el estudio y diagnóstico de enfermedades pediátricas.

- Protocolos estandarizados para las etapas clínicas, de laboratorio y de análisis de datos.
- Estructura física y digital para un Biobanco.
- Formar RRHH en Genómica Clínica.
- Prueba de concepto para la resolución de 300 casos.



Dr. Rodolfo Rey
Director de Proyecto

flux^{IT}

BITGENIA

Labmedicina
ANÁLISIS CLÍNICOS

Equipo Interdisciplinario de Genómica Clínica (ID-GC)

Nancarrow et al. *Human Resources for Health* 2013, 11:19
<http://www.human-resources-health.com/content/11/1/19>

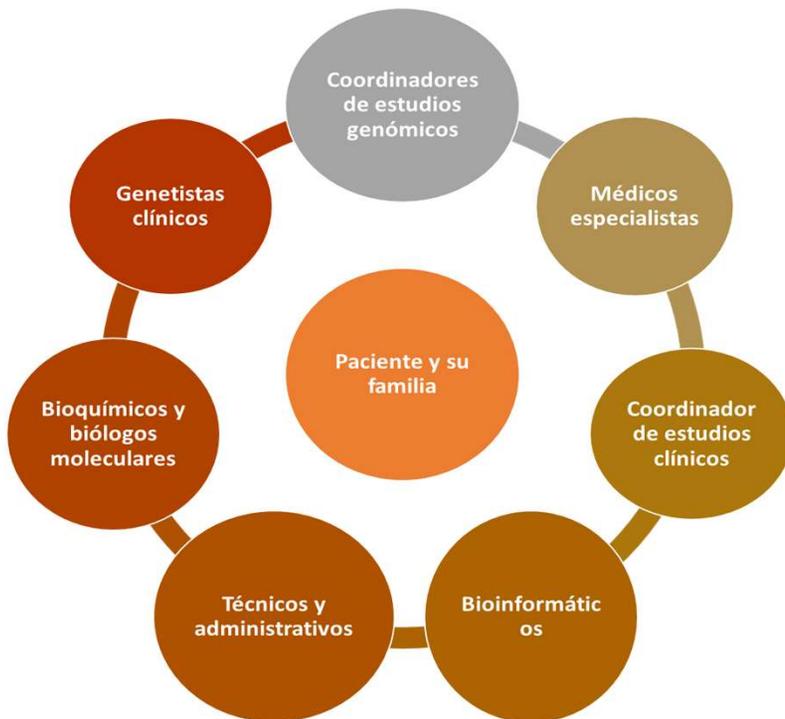


RESEARCH

Open Access

Ten principles of good interdisciplinary team work

Susan A Nancarrow^{1*}, Andrew Booth², Steven Ariss², Tony Smith³, Pam Enderby² and Alison Roots⁴



1. Liderazgo y Gestión
2. Comunicación
3. Reconocimiento al personal, formación y desarrollo
4. Recursos y procedimientos apropiados
5. Mix de saberes y herramientas
6. Clima de trabajo
7. Características individuales
8. Claridad de Visión
9. Resultados de calidad
10. Respeto y entendimiento de los roles

Proceso de Diagnóstico Genómico -HNRG



Ficha clínica - Área genética

Unidad de Investigación traslacional Hospital Gutiérrez

Nombre completo: []

Apellido(s): []

Fecha: []

Sexo: []

Edad: []

Profesión: []

Fecha de nacimiento: []

Lugar de nacimiento: []

Objeto de la consulta: []

Historia de la enfermedad: []

Exámenes de laboratorio: []

Exámenes de imagen: []

Exámenes de diagnóstico genético: []

INFORME AL MÉDICO

Informe de diagnóstico genético

Fecha: []

Nombre del paciente: []

Apellido: []

Edad: []

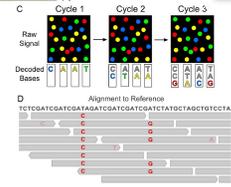
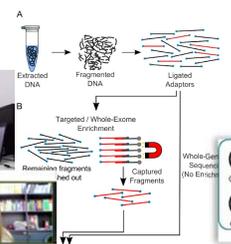
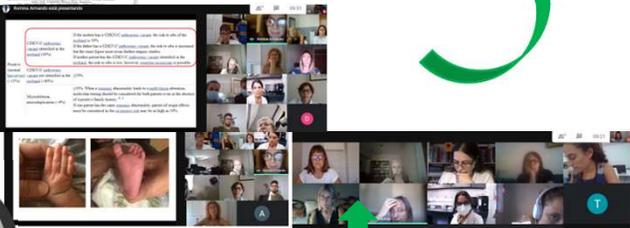
Sexo: []

Objeto de la consulta: []

Exámenes de laboratorio: []

Exámenes de imagen: []

Exámenes de diagnóstico genético: []



Bioinformática

Pacientes incluidos (trío)

Criterios de Inclusión

Diagnóstico previamente certificado (por métodos clínicos, bioquímicos y de imágenes de uso estándar) de enfermedades de causa genética en los siguientes sistemas

Errores congénitos del metabolismo

Enfermedades hematológicas

Trastornos del crecimiento y desarrollo

Trastornos del neurodesarrollo

Anomalías congénitas múltiples

Trastornos Inmunológicos

Cardiopatías

Nefropatías

Criterios de exclusión:

Ficha clínica con datos incompletos

Pacientes que no presten su consentimiento o asentimiento (según corresponda) o cuyos padres o tutores no presten su consentimiento o asentimiento (según corresponda).

Para evaluar Impacto Clínico



- Tasa de diagnósticos de certeza de patología pediátrica hereditaria = Casos +/Total de casos
- Tasa de diagnóstico de certeza por tipo de estudio
- Edad de aparición de los síntomas y Edad al diagnóstico (odisea)
- Tasa de Casos con Intervención de Equipo ID-GC
- Tasa de casos positivos (diferentes al diagnóstico presuntivo)/total de casos y / total de positivos
- Tasa de casos positivos con cambio terapéutico
- Tasa de casos positivos con intervención en familiares
- Tiempo de respuesta TAT (ingreso al protocolo - procesamiento - informe)
- Tasa de Hallazgos secundarios
- % de familias que quieren conocer hallazgos secundarios
- % informes devueltos a médicos derivantes por año
- % informes devueltos por genetistas clínicos

Data Collection

- Record Status Dashboard
- Add / Edit Records

id 5 (43037336) [Select other record](#)

Data Collection Instruments:

- Ficha Clínica**
- Tabla ADN
- Datos Familiares
- Cariotipo
- ArrayCGH
- MLPA
- Gen Candidato - Sanger
- Gen Candidato - Sanger Familiares
- NGS - Datos de Corrida
- NGS Analisis - Datos del Gen
- NGS Análisis - Datos de las Variantes
- Secuenciación Sanger - NGS
- Sanger Familiares - NGS
- Análisis Bioinformatico
- Informes E Indicadores

Applications

Genómica Clínica de Enfermedades Pediátricas (GCEP)

Actions: [Download PDF of instrument\(s\)](#)

[VIDEO: Basic data entry](#)

Ficha Clínica

Editing existing id 5 (43037336)

id	5
Versión de Ficha Clínica:	<input type="text" value="1"/>
DNI <small>* must provide value</small>	<input type="text" value="43037336"/>
Fecha	<input type="text" value="06-06-2019"/> <input type="button" value="Today"/> D-M-Y <small>Fecha de ficha clínica</small>

Datos del Solicitante

Servicio Solicitante	<input type="text" value="Endocrinología"/> <input type="button" value="Ingrese otro si no lo encuentra en la lista"/>
Medico Solicitante	<input type="text" value="Grinson Romina"/> <input type="button" value="Ingrese otro si no lo encuentra en la lista"/>
Medico Solicitante 2	<input type="text" value="Keselman Ana"/>

Datos del Paciente

Nombre Completo	<input type="text" value="CV"/> <small>Apellido y nombres</small>
------------------------	--

Origen/Etnia del padre		Otros Estudios Genéticos (secuenciación exoma, MLPA, otros: Resultado, lugar de	carinatum y asimetría de torax. Hiperlaxitud articular y metacarpofalángica. Cúbito valgo. Riesgo con 3da. art. por las...
Identificador ORPHA de po	Diagnóstico diferencial	Antecedentes clínicos de	Genes candidatos / modelo de herencia
Código CIE 10 de posible er	Signos/ síntomas	Pedigree:	Bibliografía relevante para la sospecha de candidatos (indicar citas)
Identificador OMIM de pos	Edad de aparición de l	Archivo del Pedigree	Hizo consulta en Genética?
Diagnósticos presuntivos	Edad de primera cons	Descripción del Pedigree	Ingrese la fecha de la consulta
Diagnóstico diferencial	Términos HPO que de	Consanguinidad?	Fecha entre Admisión y Derivación a Ge
	Estudios Realizados	Estudio:	Número de historia clínica:
	Enfermedades descartadas	Cariotipo (resolución, re donde se realizó)	Scan de la historia clínica
		Array-CGH (resolución, i	Evaluación de Genética
		Otros Estudios Genético exoma, MLPA, otros: Re	Dismorfias:
		Genes candidatos / mod	
Consentimiento y documentación			
Marque los documentos que se tienen actualmente		<input checked="" type="checkbox"/> Consentimiento <input type="checkbox"/> Asentimiento <input checked="" type="checkbox"/> DNI <input checked="" type="checkbox"/> Formulario 6	
Fechas de firma del Consentimiento		21-03-2018 D-M-Y	
Scan Formulario 6		Upload document	
La familia desea conocer hallazgos secundarios?		Si	
Decisión			
Estado		Aceptado	
Comentarios		<input type="text"/>	
Proyecto:		Genómica Clínica de Enfermedades Pediá	
Proyecto(OTRO)		<input type="text"/>	
Categorías de Fenotipo Primario		Endocrinopatías	
Fenotipo Primario (TND)		<input type="text"/>	
Estudios Genéticos Solicitados:		<input type="checkbox"/> Cariotipo <input type="checkbox"/> ArrayCGH <input type="checkbox"/> MLPA <input type="checkbox"/> Gen Candidato - Sanger <input checked="" type="checkbox"/> NGS - Sanger <input type="checkbox"/> Derivado	
Form Status			



Logged in as: gropelete | Logout

My Projects

Project Home

REDCap Messenger

Project status: Production

Genómica

Actions: ✖

Informes

Editing ex

id

¿Se llegó a u

Comentarios

Técnicas que

Impacto clíni

Detalles de A

Diagnostico c

El gen involu

HH Aislado: C

LHP

HH Migració

Análisis Bioinformático

Informes E Indicadores

Applications

Calendar

Data Exports, Reports, and Stats

Data Comparison Tool

File Repository

Resolve Issues

Reports

1) Sanger listos para largar

2) prueba cromosoma

3) Casos Resueltos

4) Rendimiento Diagnóstico 100 días

5) Cariotipo

6) Sanger Familiares

7) NGS

8) Ficha Verde

9) Ficha Verde 2

Help & Information

Help & FAQ

Video Tutorials

Suggest a New Feature

Contact REDCap administrator

Diagnóstico de certeza
 Otro

Detalles de Asesoramiento de Familiares:

Diagnostico de Certeza:

El gen involucrado está dentro de la lista de genes candidato:
 HH Aislado: GNRH1, GNRHR, KISS1R, KISS1R, TAC3, TAC3R, FSHB, LHP

HH Migración neurona GnRH (KS):
 KAL1, FGFR1, FGF8, FGF17, PROPK2, PROPK2R, CHD6, NSMF (NELF), HS6ST1, WDR11, SEMA3A, SEMA7A, SEMA3e, PLXNA1, SOX10, IL17RD, FEZF1

EXTRAS: AXL, SPRY4, FLRT3, DUSP6, OL14RD, IL17RD, CCDC141, IGSF10, DMXL2, POLR3A, POLR3B

El diagnostico inicial fue útil? Fue el correcto

Informe Preliminar

Estado Informe Preliminar de Cabral, Valentin

Diferencia entre Edad al Informe Preliminar y aparición de los síntomas View equation

Informe Final

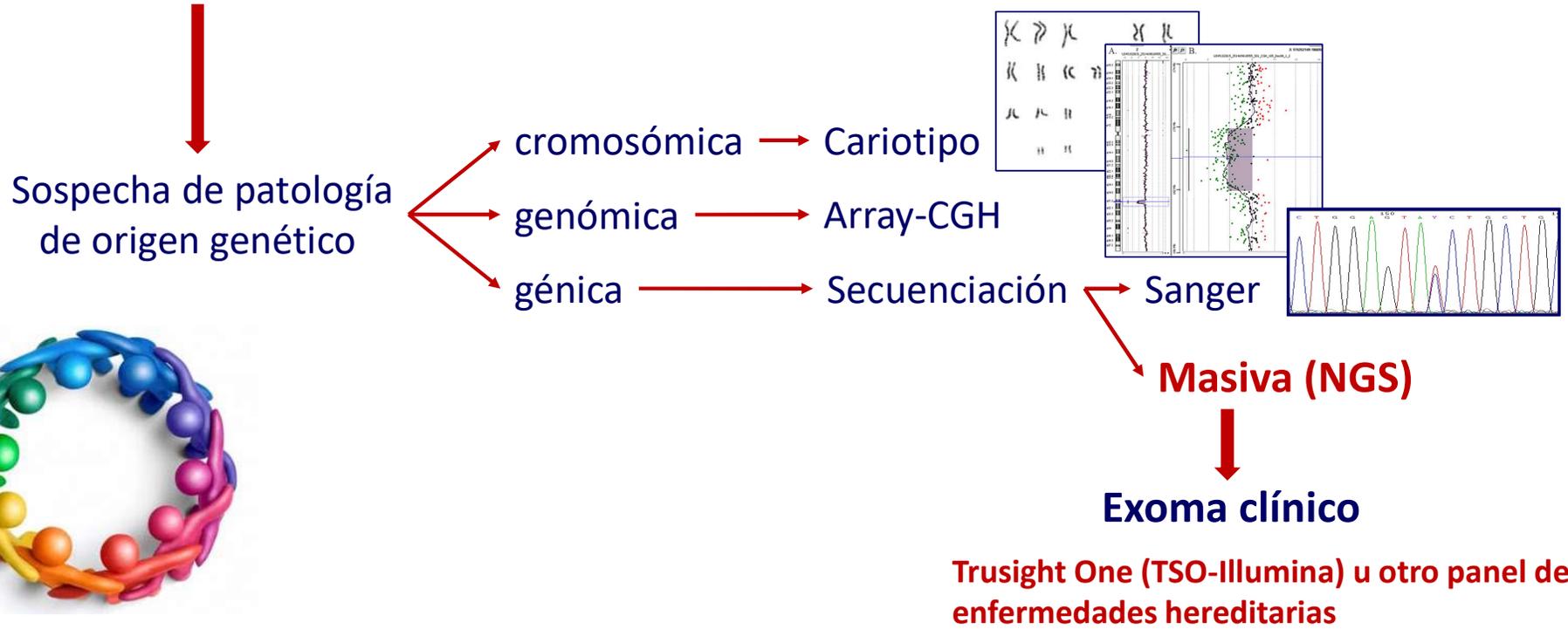
Estado Informe Final de Cabral, Valentin Listo

Archivo Informe Final [CH1802512-Cabral Valentin...70722.pdf\(0.32 MB\)](#)

Remove file Send file

Metodología de trabajo

Evaluación de los antecedentes, estudios bioquímicos, de imágenes



Diagnóstico de Precisión de enfermedades pediátricas genéticas - NGS -arrayCGH – MLPA

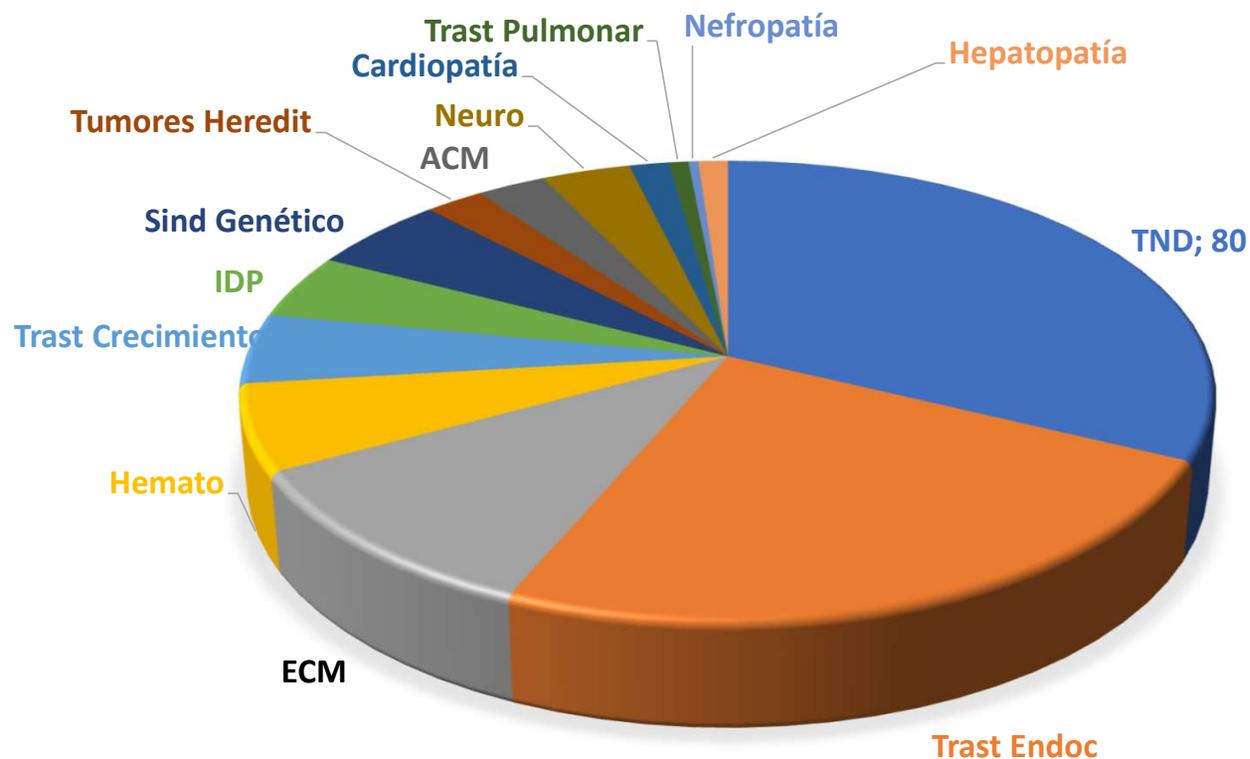
462 casos índices

MARZO 2018						
Domingo	Lunes	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes	Sábado
				1	2	3
4	5	6	7	8	9	10
11	12	13	14	15	16	17
18	19	20	21	22	23	24
25	26	27	28	29	30	31

JULIO DE 2022						
Domingo	Lunes	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes	Sábado

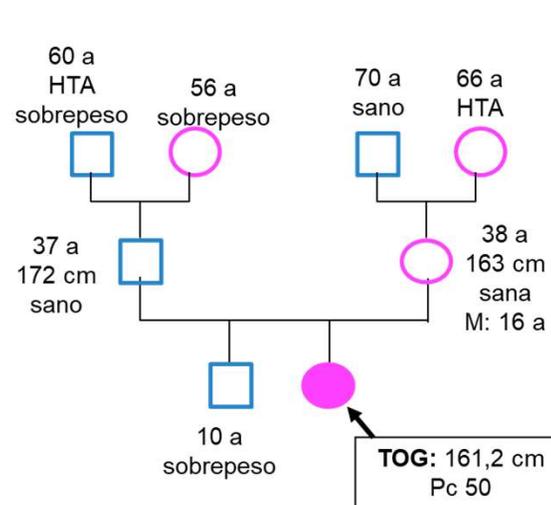
Período del estudio y cantidad de casos incluidos

- 2016: 6
- 2017: 12
- 2018: 78
- 2019: 141
- 2020: 72
- 2021: 99
- 2022 (enero a julio): 54



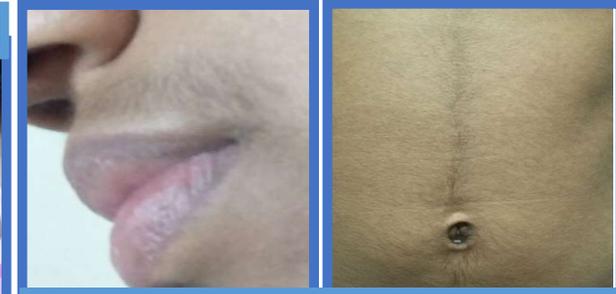
Veamos la aplicación de Diagnóstico por NGS en uno de los primeros casos que estudiamos en la División Endocrinología-HNRG

SEXO: Femenino
EDAD: 14a 4m **FN:** 17-04-2002
LUGAR DE NACIMIENTO: Colombia
FECHA DE 1° CONSULTA HNRG: 09-09-2016
MOTIVO DE CONSULTA: **Hirsutismo SEVERO**
Peso: 42,5 kg (Pc 10)
Talla: 158,5 cm (Pc 50)
IMC: 14.3 (<Pc 3)
TA: 115/60 mmHg
FC: 80 x min



Datos clínicos y bioquímicos

- Buen estado general, **voz gruesa, hábito algo hercúleo, rasgos toscos, nariz ancha**
- **Leve acné en frente**
- **Acantosis nigricans marcada en cuello, axilas y pliegues inguinales**
- **Aumento del vello facial (frente, entrecejo, bozo, patillas) y corporal (dorso, línea alba, pecho y extremidades). Score F y G: 32**
- No bocio
- Abdomen sin masas ni visceromegalias
- M: 4/4 tróficas, no galactorrea, VP5, vulva estimulada, **hipertrofia de clítoris**
- Ecografía ovárica: **aumento de volumen de ambos ovarios y morfología poliquística**



Laboratory results					
	Patient	Normal range		Patient	Normal range
Total testosterone (ng/dL)	128	10-50	AST (U/L)	11	5-33
Androstenedione (ng/dL)	995	80-250	ALT (U/L)	17	5-32
DHEA-S (ng/mL)	2500	600-2880	Total bilirubin (mg/dl)	0.62	0.1-1.1
17-OH-Progesterone (ng/mL)			Total Cholesterol (mg/dL)	147	110-181
Baseline	2	≤ 2	Triglycerides (mg/dL)	60	31-119
60 min	2.8	≤ 10	HDL-C (mg/dL)	66	35-82
SHBG (nmol/L)	24	40-80	LDL-C (mg/dL)	69	59-145
LH (IU/L)	7.6	0.4-12	Fasting insulin (μIU/mL)	72.9	2-17
FSH (IU/L)	3.5	1.3-10.8	Fasting glucose (mg/dL)	76	75-110
Estradiol (pg/mL)	35	20-200	HOMA	13.7	≤ 2.5
TSH (μIU/mL)	1.6	0.5-6.5	HbA 1C (%)	4.7	< 6
free T4 (ng/dL)	0.98	0.8-2			
Prolactin (ng/mL)	13	3-25			
OGTT					
	baseline	30 min	60 min	90 min	120 min
Glucose (mg/dL)	73	133	146	154	136
Insulin (μIU/mL)	47.7	299	560	600	572

Impresión Diagnóstica

HIPERANDROGENISMO

SOP

HSC LATE ONSET

TUMOR OVARICO

TUMOR
SUPRARRENAL

Deficit de P450 Arom

Resistencia congénita
a los glucocorticoides

HIPERPLASIA
ADRENAL NODULAR

RESISTENCIA INSULÍNICA sin Sobrepeso/obesidad

ASOCIADA A SOP

RESISTENCIA GENÉTICA
A LA INSULINA



Dra. Analía Freire
Ped-Endocrinol
MD-PhD



Genetic Syndromes of Severe Insulin Resistance

Robert K. Semple, David B. Savage, Elaine K. Cochran, Phillip Gorden,
and Stephen O’Rahilly

Endocrine Reviews, August 2011, 32(4):498–514

TABLE 1. Proposed new classification for syndromes of severe IR

	Discriminating features
I. Primary insulin-signaling defects	
A. Generalized ^a [<i>INSR</i> mutations (40) or anti- <i>INSR</i> antibodies (12)]	Extreme hyperinsulinemia but normal lipid profile (39, 40), preserved or elevated adiponectin, SHBG, and IGFBP1 (70)
B. Partial ^b [<i>AKT2</i> (19), <i>AS160</i> (91, 169), others to be defined]	Likely to depend upon precise signaling defect
II. Secondary to adipose tissue abnormalities ^c	
A. Severe obesity [e.g., <i>MC4R</i> (170), <i>POMC</i> (171), <i>LEP</i> (126), <i>LEPR</i> (172), <i>SH2B1</i> (173)]	Early onset severe, hyperphagic obesity Tall stature (<i>MC4R</i>) Hypogonadotropic hypogonadism (<i>LEP</i>) Red hair and hypoadrenalism (<i>POMC</i>) Disproportionate IR [<i>SH2B1</i> (173)]
B. Lipodystrophy (generalized or partial, Table 2)	Congenitally absent adipose tissue, or regional deficiency of adipose tissue Usually severe dyslipidemia, fatty liver Low adiponectin and leptin levels

^a An alternative term for this cluster of disorders is “insulin receptoropathies.”

^b Affecting only some intracellular arms of the insulin signaling pathway, or variable among tissues.

^c In addition to frank obesity or lipodystrophy, there is a less well-defined group of disorders having clinical and biochemical evidence of “adipose tissue failure” and severe dyslipidemia despite grossly normal whole body adipose tissue mass.

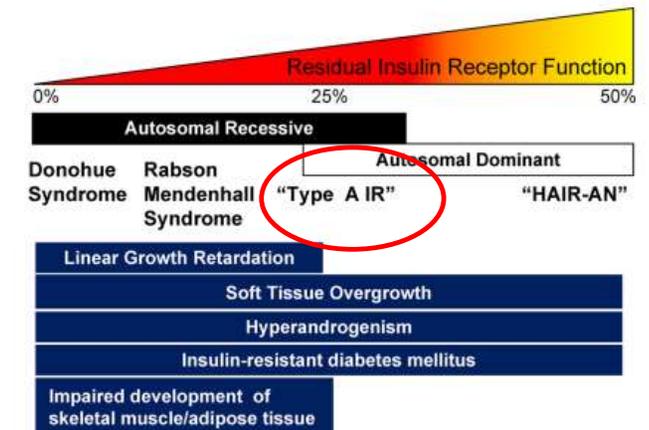
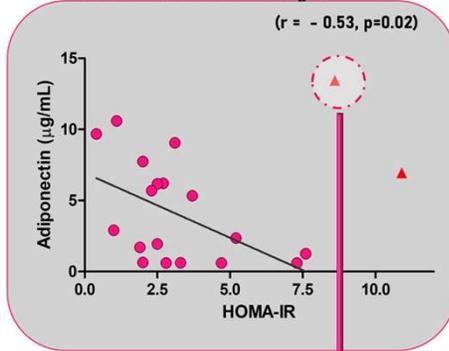


Fig. 4. Clinical spectrum of insulin receptoropathies.



Dra. Analía Freire
Ped-Endocrinol
MD-PhD

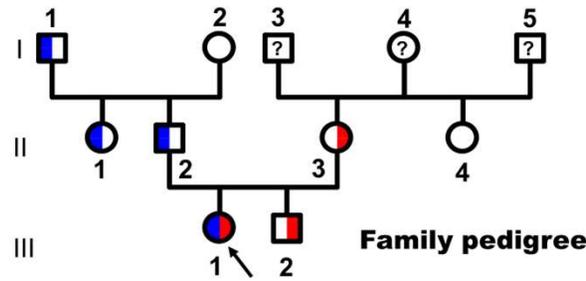
Correlation between Adiponectin levels and Homa-IR in PCOS patients



Paciente con sospecha de receptoropatía



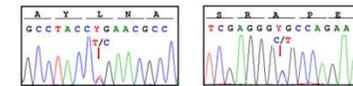
Bioq. Paula Scaglia



Family pedigree

Gene	Protein variant	cDNA variant	Classification ACMG* guidelines	
<i>INSR</i>	Insulin Receptor	p.Leu1150Pro	c.3449T>C exon 19	likely pathogenic
<i>SH2B1</i>	SH2B Adaptor Protein 1	p.Ala663Val	c.1988C>T exon 11	unknown significance

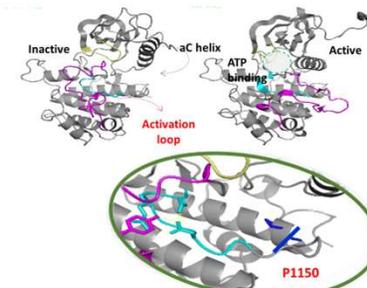
Sanger sequencing



	Human	P. troglodytes	X. laevis	M. musculus	R. norvegicus	D. rerio	M. mulatta	C. lupus	F. catus	C. elegans	Consistency
Human	EAENPPQR	---	PPFTLOHM	IQMAKSEADG	HAYLNKRFV	RRDLAARNCM	---	---	---	---	---
P. troglodytes	EAENPPQR	---	PPFTLOHM	IQMAKSEADG	HAYLNKRFV	RRDLAARNCM	---	---	---	---	---
X. laevis	DAENPPQR	---	LAPFLKSI	IQMAKSEADG	HAYLNKRFV	RRDLAARNCM	---	---	---	---	---
M. musculus	DAENPPQR	---	PPFTLOHM	IQMAKSEADG	HAYLNKRFV	RRDLAARNCM	---	---	---	---	---
R. norvegicus	DAENPPQR	---	PPFTLOHM	IQMAKSEADG	HAYLNKRFV	RRDLAARNCM	---	---	---	---	---
D. rerio	DAENPPQR	---	PPFTLOHM	IQMAKSEADG	HAYLNKRFV	RRDLAARNCM	---	---	---	---	---
M. mulatta	EAENPPQR	---	PPFTLOHM	IQMAKSEADG	HAYLNKRFV	RRDLAARNCM	---	---	---	---	---
C. lupus	EAENPPQR	---	PPFTLOHM	IQMAKSEADG	HAYLNKRFV	RRDLAARNCM	---	---	---	---	---
F. catus	EAENPPQR	---	PPFTLOHM	IQMAKSEADG	HAYLNKRFV	RRDLAARNCM	---	---	---	---	---
C. elegans	DEVFQDRI	---	DIIPDQRT	RENAKQDDE	HAYLLEKRC	RRDLAARNCM	---	---	---	---	---
Consistency	7RRR	RRR	67	887738	RRRR	RRR	RR	RR	RR	RR	RR

Multiple protein sequence alignment using PRALINE software
<http://www.ibi.vu.nl/programs/praline/www/>
Residue (L1150) conservation in Tyrosine Kinase domain

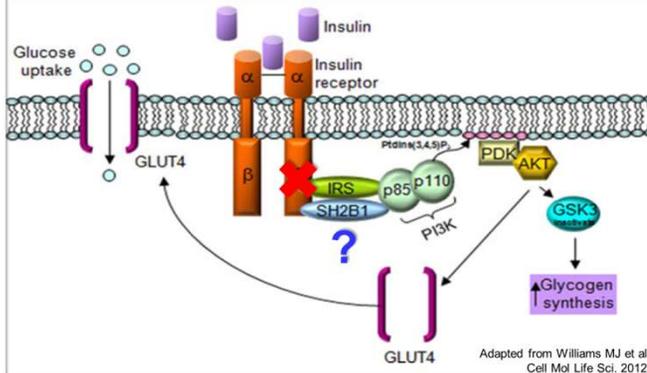
In silico molecular modelling of β -Subunit of Insulin Receptor



PYMOL (by Schrödinger, <https://pymol.org/>)

Proline 1150 breaks the α -helix and changes the bonding angle of the polypeptide chain, yielding a helix distortion. This aminoacid change could alter the dynamic flexibility of the activation loop and could cause loss of kinase activity.

Schematic representation of molecular defects in insulin activity found in the patient



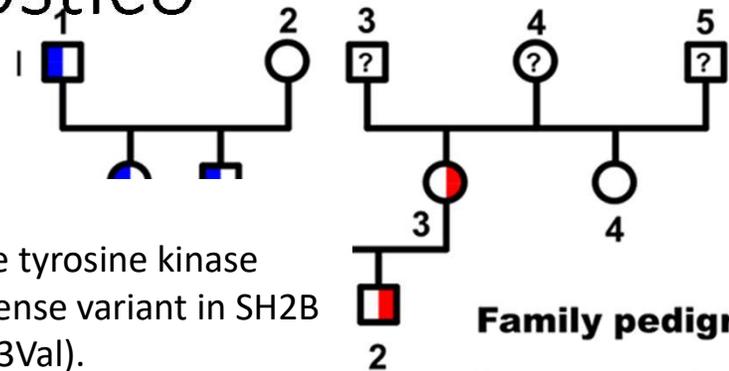
Adapted from Williams MJ et al. Cell Mol Life Sci. 2012.

Impacto clínico del diagnóstico

- Tratamiento: Inicia Metformina
- Búsqueda de familiares afectados

Conclusion:

- We identified a novel heterozygous missense variant in the tyrosine kinase domain of INSR (p.Leu1150Pro) and an heterozygous missense variant in SH2B adapter protein 1 involved in the insulin pathway (p.Ala663Val).
- Interestingly, the patients' mother and brother had the same INSR LP variant although of a milder phenotype, reason why their IR went undiagnosed.
- The novel heterozygous p.Leu1150Pro variant in the INSR gene appears to be the cause of the type A insulin resistance syndrome; the SH2B1 variant, likely to synergistically affect the insulin pathway, may contribute to explain the more severe presentation of the phenotype in the patient and the phenotypic variability of the syndrome within this family

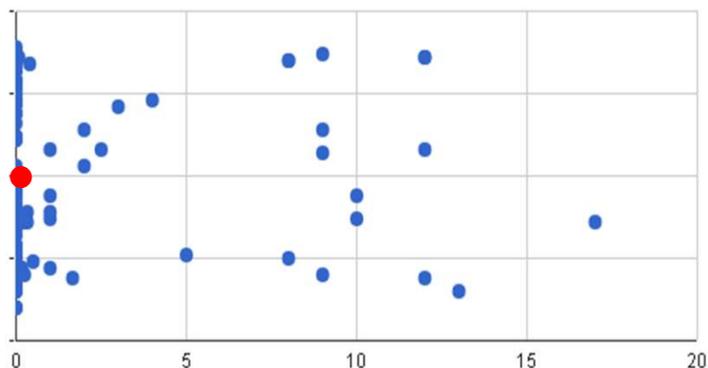


Family pedigree

Patient	Mother	Brother
3	85	88.9
36	84.7	114
7.7	41.2	35.3
100	300	313.2
HOMA	8.6	7.7

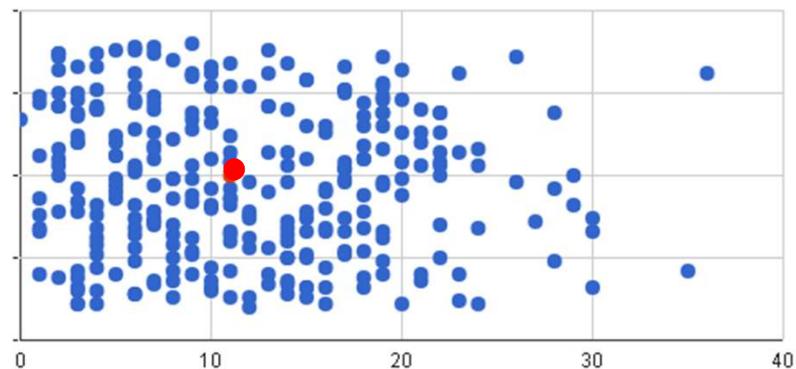
Impacto clínico del Proceso Diagnóstico por NGS-HNRG

Edad de aparición de los síntomas



Total Count (N)	Mean	StDev	Percentile						
			0.05	0.10	0.25	0.50 Median	0.75	0.90	0.95
98	1.90	3.89	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	9.00	12.00

Edad al Diagnóstico

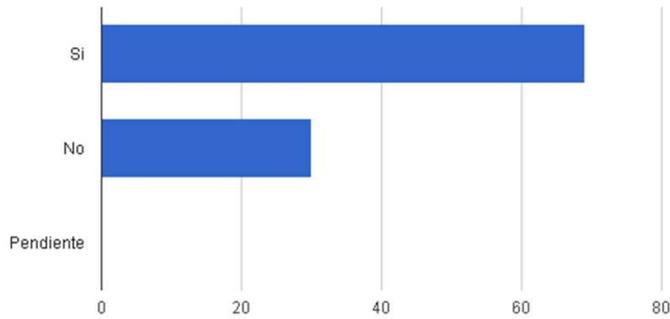


Total Count (N)	Mean	StDev	Percentile						
			0.05	0.10	0.25	0.50 Median	0.75	0.90	0.95
262	11.87	7.31	2.00	3.00	6.00	11.00	17.00	21.90	24.00

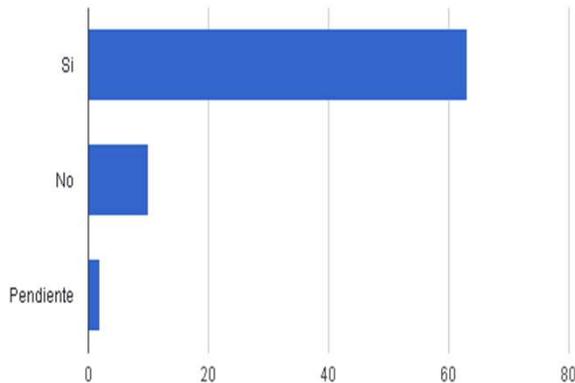
Tiempo de Odisea Diagnóstica en nuestra cohorte: 11 años

Impacto clínico del Proceso Diagnóstico por NGS-HNRG

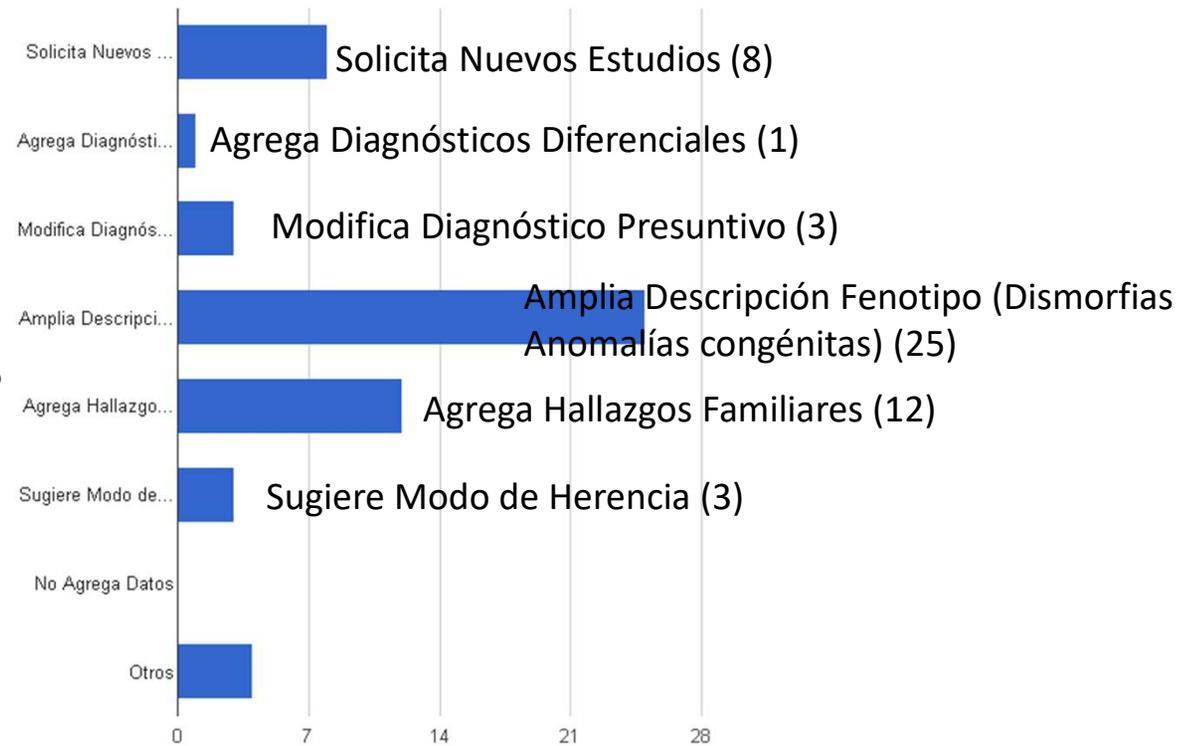
Evaluación Genética



La familia desea conocer Hallazgos Secundarios ?



Que agregó la evaluación por genética ? N=33



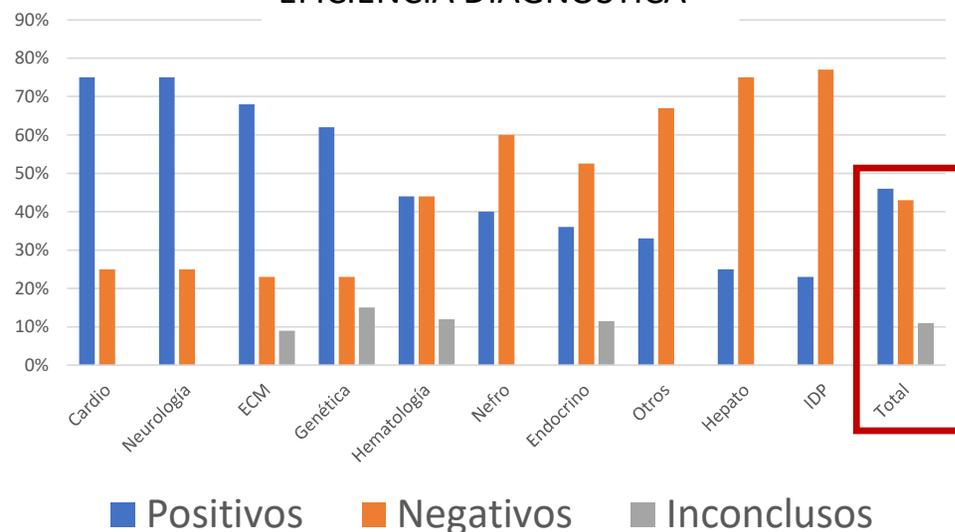
Eficiencia Diagnóstica NGS -262 casos (TSO-Inherited-T1-WES)

Pacientes	Positivos	Negativos	Inconclusos	Total de pac.
ECM	68,00%	23,00%	9,00%	35
Endocrino	36,00%	52,50%	11,50%	122
Cardio	75,00%	25,00%	0,00%	4
IDP	23,00%	77,00%	0,00%	13
Hematología	44,00%	44,00%	12,00%	16
Neurología	75,00%	25,00%	0,00%	4
Genética	62,00%	23,00%	15,00%	53
Nefro	40,00%	60,00%	0,00%	5
Hepato	25,00%	75,00%	0,00%	4
Otros	33,00%	67,00%	0,00%	9
Total	46,00%	43,00%	11,00%	265

Caso positivo: variante o variantes patogénicas o probablemente patogénicas en un gen que explica la patología del paciente

Caso negativo: No se encuentran variantes patogénicas o probablemente patogénicas en un gen que explica la patología del paciente

EFICIENCIA DIAGNÓSTICA



Caso inconcluso:

Tipo 1: Se encuentran solo variantes VUS en gen que explica la patología

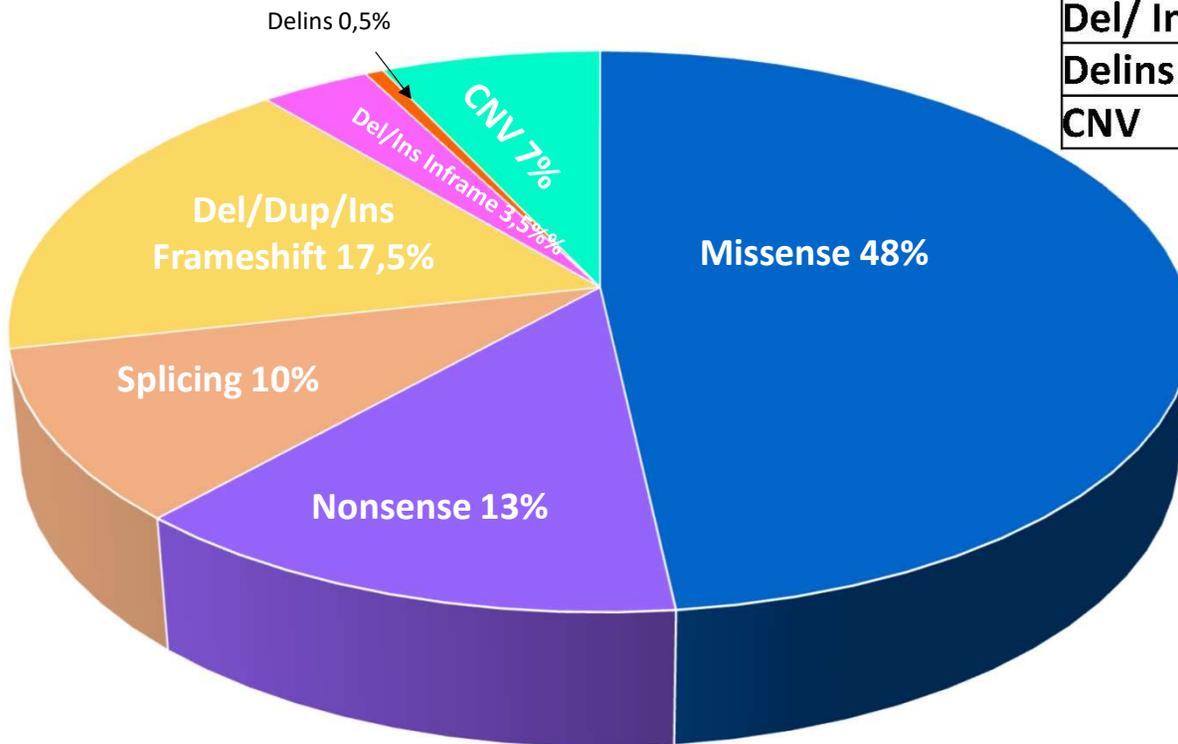
Tipo 2: Se encuentra 1 sola variante patogénica en heterocigosis en un gen que explica la patología pero es de herencia AR.

Tipo 3: 2 variantes patogénicas o probablemente patogénicas en heterocigosis en gen candidato. No se pudo realizar la segregación para evaluar genotipo.

Tipo 4: Se encuentran variantes patogénicas o probablemente patogénicas en gen candidato pero la segregación no concuerda con lo esperado.

Tipo5: Predicción de CNV, falta confirmación por método adecuado

Tipo de variante



	Nº de Var	%
Missense	83	48
Nonsense	23	13
Splicing	17	10
Del/Dup/Ins Frameshift	30	17,5
Del/ Ins Inframe	6	3,5
Delins	1	0,5
CNV	12	7

Positivos

- En el 70% de los casos positivos (86 pacientes) el gen estaba entre los genes candidatos
- En el 30% de los casos positivos (37 pacientes) el gen no estaba entre los genes candidatos.

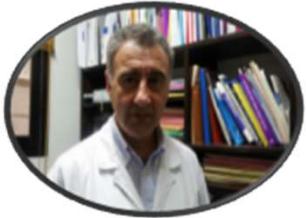


Conclusiones y Perspectivas

- Las nuevas tecnologías de diagnóstico genómico son aplicables y eficientes para el contexto de diagnóstico clínico de enfermedades pediátricas hereditarias en un Hospital Público.
- Como lograr sustentabilidad en nuestro medio ?
 - Interés de los decisores de políticas de salud
 - Generar un plan de implementación que se enmarque en la visión, valores de nuestro hospital.
 - Formar profesionales de la salud involucrados en el proceso (médicos, bioquímicos, bioinformáticos)
 - Conformar redes internas (dentro del hospital) y entre hospitales u otras organizaciones.
 - Conocer Indicadores de Impacto Clínico
 - Obtener el apoyo de empresas proveedores de insumos y equipamiento



Gracias



Dr. Rodolfo Rey – Director CEDIE



Dr. Ignacio Bergadá-Jefe División Endocrinología HNRG

Equipo Interdisciplinario Genómica Clínica -HNRG



Sección Laboratorio de Endocrinología -HNRG

