

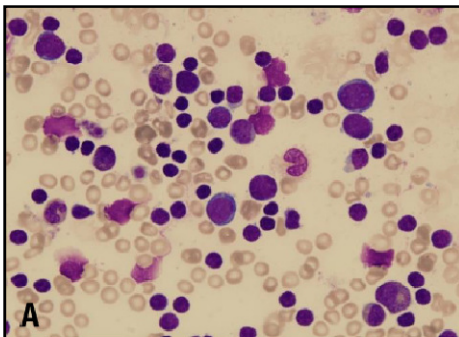
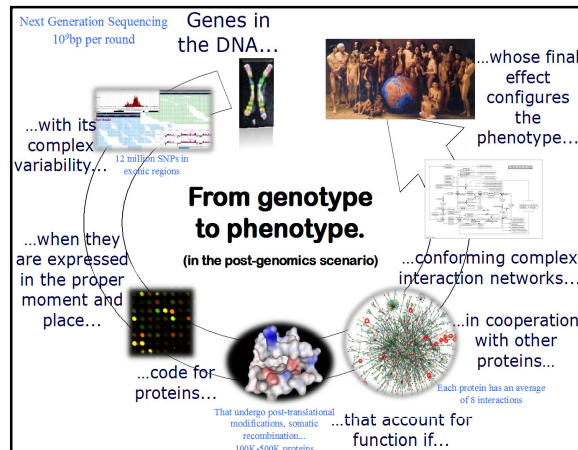


## **Panel de genes para el diagnóstico de Fallos Medulares: utilidad en Anemia de Blackfan-Diamond**

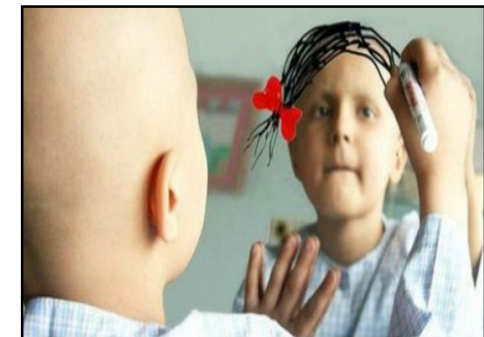
Dra. Eva Gálvez de la Villa  
Hospital Infantil Niño Jesús

## Panel de genes para el diagnóstico de Fallos Medulares

### Anemia de Blackfan Diamond



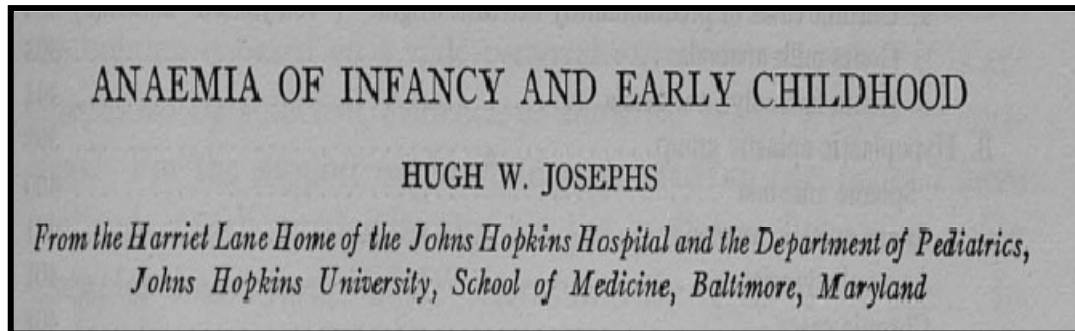
Insuficiencia medular en mayor o menor grado +/- anomalías físicas  
Diagnóstico a edades tempranas de la vida  
Amplia variabilidad genética  
Predisposición cáncer



## Panel de genes para el diagnóstico de Fallos Medulares

---

### ANEMIA DE BLACKFAN DIAMOND



*Diamond LK, Blackfan, KD (1938). "Hypoplastic anemia.". Am. J. Dis. Child. 56: 464–467.*



1936

1938

1951

1961

1997

1999

2010

## Panel de genes para el diagnóstico de Fallos Medulares

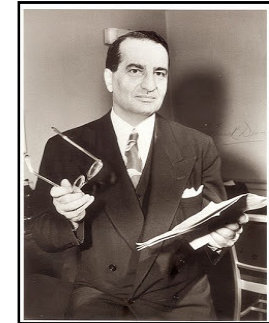
---

### ANEMIA DE BLACKFAN DIAMOND

#### Congenital (Erythroid) Hypoplastic Anemia

*Cortisone Treated*

DONALD M. ALLEN, M.D.  
AND  
LOUIS K. DIAMOND, M.D.  
BOSTON



#### Congenital (Erythroid) Hypoplastic Anemia

*A 25-Year Study*

LOUIS K. DIAMOND, M.D.  
DONALD M. ALLEN, M.D.  
AND  
FRANK B. MAGILL, M.D.  
BOSTON

1936

1938

1951

1961

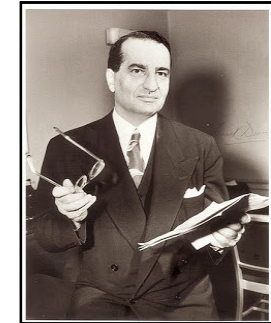
1997

1999

2010

## Panel de genes para el diagnóstico de Fallos Medulares

### ANEMIA DE BLACKFAN DIAMOND



*Nature Genetics* **16**, 368 - 371 (1997)  
doi:10.1038/ng0897-368

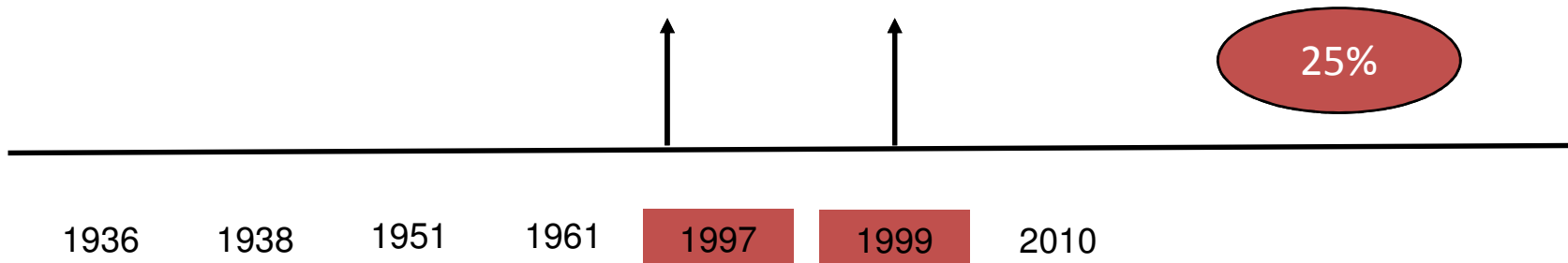
**Diamond-Blackfan anaemia: genetic homogeneity for a gene on chromosome 19q13 restricted to 1.8 Mb**

Peter Gustavsson<sup>1</sup>, Thiébaud-Noel Willig<sup>2</sup>, Arie van Haeringen<sup>3</sup>, Gil Tchernia<sup>2</sup>, Irma Dianzani<sup>4</sup>, Mikael Donner<sup>5</sup>, Göran Elinder<sup>6</sup>, Jan-Inge Renter<sup>7</sup>, Per-Gunnar Nilsson<sup>8</sup>, Laurie Gordon<sup>9</sup>, Gunnar Skeppner<sup>10</sup>, Lisbeth van't Veer-Korthof<sup>11</sup>, Anders Kreuger<sup>12</sup> & Niklas Dahl<sup>1, 13</sup>

*Nature Genetics* **21**, 169 - 175 (1999)  
doi:10.1038/5951

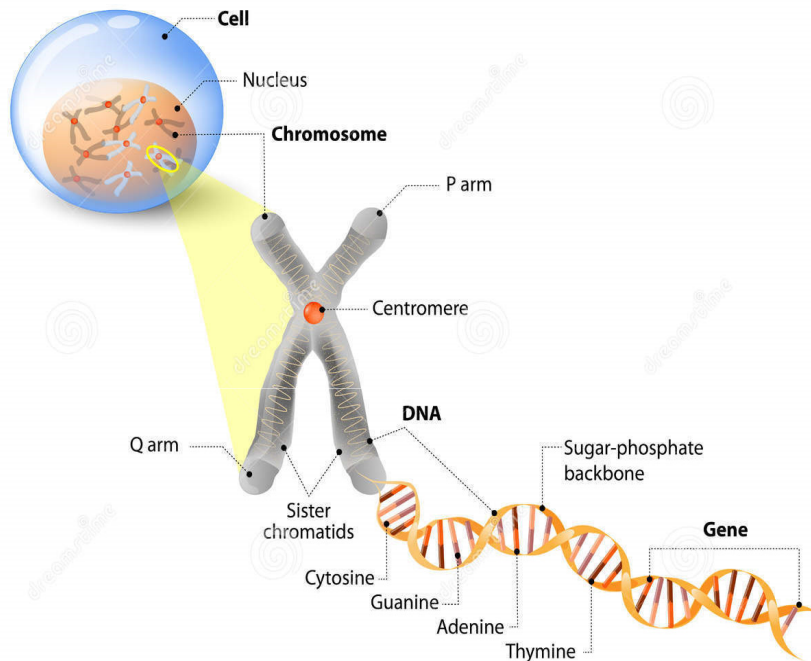
**The gene encoding ribosomal protein S19 is mutated in Diamond-Blackfan anaemia**

Natalia Draptchinskaia<sup>1,8</sup>, Peter Gustavsson<sup>1,8</sup>, Björn Andersson<sup>2</sup>, Monica Pettersson<sup>3</sup>, Thiébaud-Noël Willig<sup>4,5</sup>, Irma Dianzani<sup>6</sup>, Sarah Ball<sup>7</sup>, Gil Tchernia<sup>4,5</sup>, Joakim Klar<sup>1</sup>, Hans Matsson<sup>1</sup>, Dimitri Tentler<sup>1</sup>, Narla Mohandas<sup>4</sup>, Birgit Carlsson<sup>1</sup> & Niklas Dahl<sup>1</sup>



## Panel de genes para el diagnóstico de Fallos Medulares

### ANEMIA DE BLACKFAN DIAMOND



|               |           |
|---------------|-----------|
| <b>RPS19</b>  | 19q13.3   |
| <b>RPS24</b>  | 10q22-23  |
| <b>RPS17</b>  | 15q25     |
| <b>RPL35A</b> | 3q29-qter |
| <b>RPL5</b>   | 1p22.1    |
| <b>RPL11</b>  | 1p36.1-35 |
| <b>RPS7</b>   | 2q25      |
| <b>RPS10</b>  | 6p        |
| <b>RPS26</b>  | 12q       |
| <b>RPL26</b>  | 17p13.1   |
| <b>RPL15</b>  | 3p24.2    |
| <b>RPS29</b>  | 14q21.3   |
| <b>RPL31</b>  | 2q11.2    |
| <b>GATA-1</b> | Xp11.23   |
| <b>RPL19</b>  | 17q12     |
| <b>RPL27</b>  | 17q21.31  |
| <b>RPS27</b>  | 1q21.3    |
| <b>RPS28</b>  | 19p13.2   |
| <b>TSR2</b>   | Xp11.22   |

1936

1938

1951

1961

1997

1999

2010

2016



## PANEL DE GENES PARA EL DIAGNÓSTICO DE FALLOS MEDULARES

---

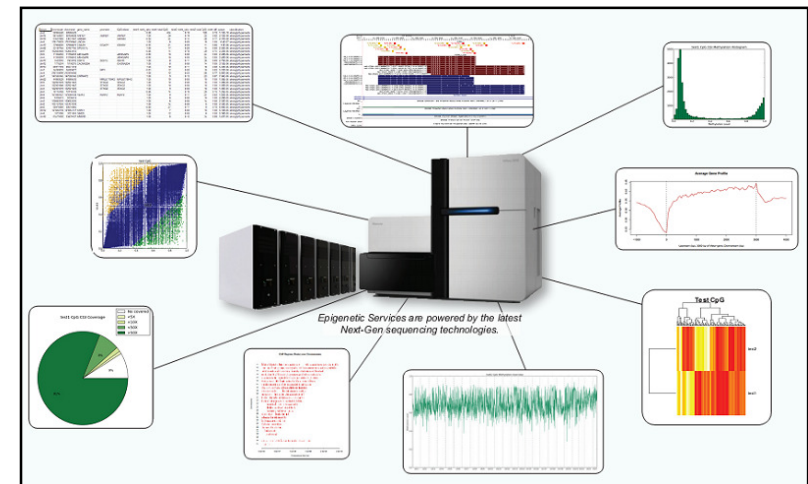
### ANEMIA DE BLACKFAN DIAMOND

Si sólo tenemos un gen responsable es fácil pero....

¿Cómo estudiar los 19 genes descritos hasta la fecha?



## SECUENCIACIÓN MASIVA

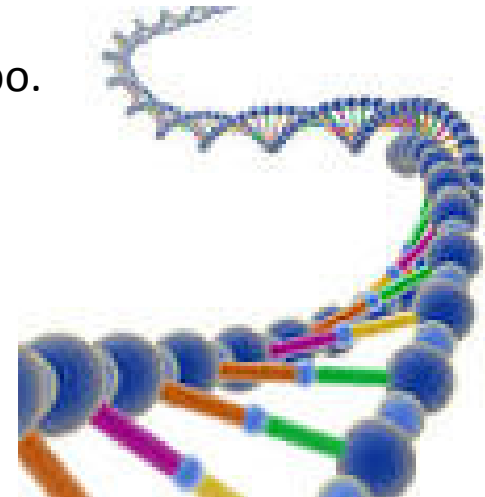


## PANEL DE GENES PARA EL DIAGNÓSTICO DE FALLOS MEDULARES

---

### ANEMIA DE BLACKFAN DIAMOND

- Herramienta para el estudio de la variación genética
- Secuenciación rápida y completa
- Esta potente herramienta ha revolucionado el concepto de diagnóstico genético:
  - Opción de alto rendimiento
  - Capacidad de secuenciar varias personas al mismo tiempo.
  - Secuenciación en paralelo de moléculas de ADN





## PANEL DE GENES PARA EL DIAGNÓSTICO DE FALLOS MEDULARES

---

### ANEMIA DE BLACKFAN DIAMOND

**bjh** short report

Target enrichment and high-throughput sequencing of 80 ribosomal protein genes to identify mutations associated with Diamond-Blackfan anaemia

ORIGINAL ARTICLE

Improving diagnostic precision, care and syndrome definitions using comprehensive next-generation sequencing for the inherited bone marrow failure syndromes

Ghemlas I, et al. *J Med Genet* 2015;52:575–584.

### CONCLUSIONES

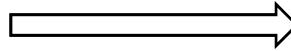
- Rápido
- Coste-efectivo
- Diagnóstico en alto porcentaje de los pacientes
  - Mutaciones no descritas
- Corrección diagnósticos erróneos

## PANEL DE GENES PARA EL DIAGNÓSTICO DE FALLOS MEDULARES

---

### ANEMIA DE BLACKFAN DIAMOND

Necesidad de alcanzar  
diagnóstico genético



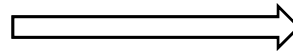
Desarrollo panel NGS

- Confirmación del diagnóstico
- Identificación de familiares asintomáticos
- Consejo genético a paciente y familiares
- Desarrollo de futuras nuevas terapias

# PANEL DE GENES PARA EL DIAGNÓSTICO DE FALLOS MEDULARES

## ANEMIA DE BLACKFAN DIAMOND

Necesidad de alcanzar  
diagnóstico genético



Desarrollo panel NGS

**Grupo Insuficiencias medulares de la SEHOP:** Cristina Beléndez, Cristina Diaz de Heredia, Albert Catalá, Ana Galera, Diego Plaza.....

### Otros colaboradores:



IdiPAZ es un espacio de  
**investigación biomédica**  
fruto de la unión entre:

- Hospital Universitario La Paz
- Universidad Autónoma de Madrid
- Fundación para la Investigación Biomédica del Hospital Universitario La Paz



# NGS en Síndromes Hereditarios con insuficiencia de Médula Ósea

**Nuevos abordajes diagnósticos de  
los síndromes hereditarios con fallo  
de médula ósea para su tratamiento  
con terapias innovadoras**



# PANEL DE GENES PARA EL DIAGNÓSTICO DE FALLOS MEDULARES

## ANEMIA DE BLACKFAN DIAMOND

| Síndromes de fallo medular                |                                              |
|-------------------------------------------|----------------------------------------------|
| Anemia Fanconi                            | Síndrome Nijmegen                            |
| Disqueratosis congénita                   | Síndrome de Bloom                            |
| Blackfan-diamond                          | Síndrome Seckle                              |
| Shwachman–diamond                         | Síndrome ligasa IV                           |
| Neutropenia congénita                     | Ataxia-teleangiectasia-like                  |
| Trombopenia con ausencia de radio         | Síndrome Werner                              |
| Trombopenia amegacariocítica              | Síndrome Roberts                             |
| Trombopenia amegac. sinostosis radioulnar | Síndrome Warsaw                              |
| Deleción 5q                               | Síndrome Rothmund-Thomson                    |
| Disgenesia reticular                      | Anemia Sideroblástica                        |
| Síndrome WHIM                             | Anemia megaloblástica tiamina-sensible       |
| Síndrome de Barth                         | Síndrome Paris Trousseau                     |
| Hipoplasia pelo-cartílago                 | Megacariocitos hipolobulados                 |
| Síndrome Chediak-Higashi                  | Síndrome plaquetas grises                    |
| Glucogenosis                              | Enfermedades MYH9                            |
| Síndrome Griscelli                        | Síndrome de Upshaw Schulman                  |
| Síndrome de Cohen                         | E.von Willebrand con trombopenia             |
| Síndrome Hermansky-Pudlak                 | Macrotrombocitopenia relacionada con TUBB1   |
| Enfermedad Charcot-Marie-Tooth            | Trombocitopenia relacionada con ITGA2/ITGB3  |
| Síndrome Wolcott-Rallison                 | Macrotrombocitopenia familiar                |
| Ataxia-teleangiectasia                    | Trombopenia asociada a LLA                   |
| Anemia congénita diseritropoyética        | Otros síndromes de inestabilidad cromosómica |

|                          |         |          |
|--------------------------|---------|----------|
| ABCB7                    | FANCI   | RPL26    |
| ADAMTS13                 | FANCL   | RPL27    |
| AK2                      | FANCM   | RPL31    |
| ALAS2                    | G6PC3   | RPL35A   |
| ANKRD26                  | GATA1   | RPL5     |
| AP3B1                    | GATA2   | RPS10    |
| ATM                      | GFI1    | RPS14    |
| ATR                      | GLRX5   | RPS17    |
| BACH1                    | GP1BA   | RPS19    |
| BLM                      | HAX1    | RPS24    |
| BLOC1S3                  | HOXA11  | RPS26    |
| BRCA1                    | HPS1    | RPS27    |
| BRCA2                    | HPS3    | RPS28    |
| CDAN1                    | HPS4    | RPS29    |
| CEBPA                    | HPS5    | RPS7     |
| CENPJ                    | HPS6    | RTKL1    |
| CEP152                   | ITGA2B  | RUNX1    |
| CEP63                    | ITGB3   | SBD5     |
| chr3:169482398-169482848 | JAGN1   | SEC23B   |
| chr9:35657748-35658015   | LAMTOR2 | SLC19A2  |
| CLPB                     | LIG4    | SLC25A38 |
| CSF3R                    | LYST    | SLC37A4  |
| CTC1                     | MASTL   | SLX4     |
| CXCR2                    | MPL     | SRP72    |
| CXCR4                    | MRE11A  | STEAP3   |
| CYCS                     | MYH9    | TAZ      |
| DDX11                    | MYO5A   | TCIRG1   |
| DDX41                    | NBEAL2  | TERT     |
| DKC1                     | NBN     | TINF2    |
| DNA2                     | NHEJ1   | TRNT1    |
| DNM2                     | NHP2    | TSR2     |
| DTNBP1                   | NIN     | TSR2     |
| EIF2AK3                  | NOP10   | TUBB1    |
| ELANE                    | PALB2   | USB1     |
| ERCC4                    | PLDN    | VPS13B   |
| ERCC6L2                  | PUS1    | VPS45    |
| ESCO2                    | RAB27A  | WAS      |
| ETV6                     | RAD50   | WIPF1    |
| FANCA                    | RAD51   | WRAP53   |
| FANCB                    | RAD51C  | WRN      |
| FANCC                    | RBBP8   |          |
| FANCD2                   | RBM8A   |          |
| FANCE                    | RECQL4  |          |
| FANCF                    | RPL11   |          |
| FANCG                    | RPL15   |          |
|                          | RPL19   |          |

## PANEL DE GENES PARA EL DIAGNÓSTICO DE FALLOS MEDULARES

### NUESTROS RESULTADOS EN ANEMIA DE BLACKFAN DIAMOND

| DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES                 |    |
|-------------------------------------------|----|
| Total pacientes con anemia arregenerativa | 25 |
| Hallazgos en panel                        | 14 |
| Controles positivos                       | 7  |
| Sin hallazgos en panel                    | 4  |

#### CONTROLES POSITIVOS

| GEN MUTADO   | Nº DE PACIENTES |
|--------------|-----------------|
| RPL11        | 1               |
| RPS19        | 3               |
| RPS26        | 2               |
| RPL35A       | 1               |
| <b>TOTAL</b> | <b>7 (100%)</b> |

Pero aún 22% de pacientes sin diagnóstico....

#### PACIENTES SIN DIAGNÓSTICO

| GEN MUTADO   | Nº DE PACIENTES   |
|--------------|-------------------|
| RPL11        | 1                 |
| RPS17        | 3                 |
| RPS19        | 2                 |
| RPS24        | 1                 |
| RPS26        | 2                 |
| RPL5         | 2                 |
| RPS7         | 2                 |
| RPS29        | 1                 |
| <b>TOTAL</b> | <b>14 (77,7%)</b> |



# PANEL DE GENES PARA EL DIAGNÓSTICO DE FALLOS MEDULARES

---

## Limitaciones y futuras aproximaciones

- Mutaciones en regiones de baja cobertura
- Grandes deleciones o duplicaciones
- Mutaciones en genes no conocidos hasta la fecha

Futuras aproximaciones.....



## 2416 Copy Number Variants Underlying Inherited Bone Marrow Failure Syndromes

Bone Marrow Failure

December 6, 2015,

Program: Oral and Poster Abstracts

Session: 508. Bone Marrow Failure: Poster II

## Identification of point mutations and large intragenic deletions in Fanconi anemia using next-generation sequencing technology

Elena Nicchia<sup>1</sup>, Chiara Greco<sup>2</sup>, Daniela De Rocco<sup>1</sup>, Vanna Pecile<sup>2</sup>, Angela D'Eustacchio<sup>2</sup>, Enrico Cappelli<sup>3</sup>, Paola Corti<sup>4</sup>, Nicoletta Marra<sup>5</sup>, Ugo Ramenghi<sup>6</sup>, Marta Pillon<sup>7</sup>, Piero Farruggia<sup>8</sup>, Carlo Dufour<sup>3</sup>, Alberto Pallavicini<sup>9</sup>, Lucio Torelli<sup>10</sup> & Anna Savoia<sup>1,2</sup>

SECUENCIACIÓN  
EXÓMICA

# Agradecimientos



IdiPAZ es un espacio de **investigación biomédica**  
fruto de la unión entre:

- Hospital Universitario La Paz
- Universidad Autónoma de Madrid
- Fundación para la Investigación Biomédica del Hospital Universitario La Paz



# Agradecimientos



¿?