

Genetisk testing – the good, the bad and the ugly

Nasjonalt metabolsk webinar

30.10.20

Overlege Trine Prescottt
Medisinsk Genetikk, Sykehuset Telemark

tripre@sthf.no

35 00 31 46

Genetisk testing og utredning metabolsk sykdom

The good = Årsaksdiagnose

The bad = Ingen årsaksdiagnose

The ugly =



Skammekroken

Kunne ha stilt årsaksdiagnose



Pre-test

1. Er sannsynlighet for å gjøre et bifunn størst ved genomisk kopitallsanalyse (feks array CGH) av pasienten eller ved hel-eksom (WES) trio testing for pasienten og foreldrene?
2. Hva betyr «trio»?
3. Kan eksomsekvensering brukes til å utelukke en diagnose?
4. Hvilken informasjon kan trio analyser gi om slektskapsforhold?
5. Er serie testing av ulike genpaneler en god strategi?
6. Hva er forskjellen mellom et eksom og et genom?
7. Når og hvorfor skal du vurdere å gjøre en WES-trio?

MR caput



7 måneder: Hypoplastisk corpus callosum?
Sentral vurdering anbefalt

18 måneder: Smal corpus callosum
Symmetrisk regionalt utbredt hypomyelinisering

Diagnosis, prognosis, and treatment of leukodystrophies


Marjo S van der Knaap, Raphael Schiffmann, Fanny Mochel, Nicole Wolf


Leukodystrophies comprise a large group of rare genetic disorders primarily affecting CNS white matter. Historically, the diagnostic process was slow and patient prognosis regarded as poor because curative treatment was only available for very few leukodystrophies in early stages of the disease. Whole-exome sequencing has both greatly increased the number of known leukodystrophies and improved diagnosis. Whether MRI keeps its central place in diagnosis and what the role is of whole-exome sequencing are relevant questions for neurologists. Improved diagnosis has revealed the phenotypic variability of leukodystrophies, requiring adaptation of prognostication. Technological advance in molecular techniques and improved insight into the pathophysiology of individual leukodystrophies have led to therapeutic developments, including drug design and gene therapy. Despite this progress, therapies are only beneficial early in the disease course, emphasising the need for a speedy diagnosis and for research on regenerative approaches to repair the damage already present.


Lancet Neurol 2019; 18: 962–72



 DISEASES

 SIGNS & SYMPTOMS

 DIAGNOSIS

 TREATMENT

 ALL

DISEASES *Overview of 81 diseases presented in 15 biochemical categories*

Amino Acids

Cholesterol & Bile Acids

Creatine

Glucose Transport & Regulation

Fatty Aldehydes

Hyperhomocysteine

Lysosomes

Metals

Mitochondria

Neurotransmission

Organic Acids

Peroxisomes

Pyrimidines

Urea Cycle

Vitamins/Co-Factors

Hvit substans avvik er et prominent og konsistent trekk

<p>X-Linked Adrenoleukodystrophy</p> <p>Dementia, psychosis/(manic-) depression/anxiety, behavioral disturbances, vision loss, sensorineural hearing loss, white matter abnormalities (MRIscan)</p> <p>Adrenal insufficiency</p>	<p>I.o. Argininemia</p> <p>Encephalopathic crisis, psychosis/depression, behavioral disturbances, ataxia, spasticity, white matter abnormalities (MRIscan)</p> <p>Cholestatic icterus</p>	<p>I.o. Argininosuccinic Aciduria</p> <p>Encephalopathic crisis, psychosis/depression, behavioral disturbances, white matter abnormalities (MRIscan)</p> <p>Elevated transaminases and hepatic fibrosis, brittle hair</p>
<p>I.o. Citrullinemia</p> <p>Encephalopathic crisis, psychosis / depression, behavioral disturbances, white matter abnormalities (MRIscan)</p> <p>Brittle hair</p>	<p>Citrullinemia Type II</p> <p>Encephalopathic crisis, psychosis/depression, behavioral disturbances, white matter abnormalities (MRIscan)</p> <p>----</p>	<p>I.o. CPS Deficiency</p> <p>Encephalopathic crisis, psychosis/depression, behavioral disturbances, white matter abnormalities (MRIscan)</p> <p>----</p>
<p>MELAS</p> <p>Dementia, Encephalopathic crisis, psychosis /depression, behavioral disturbances, stroke, vision loss, White matter abnormalities (MRIscan).</p> <p>----</p>	<p>Hurler Syndrome (MPS I)</p> <p>Dementia, sensorineural hearing loss, White matter abnormalities (MRIscan)</p> <p>Dysmorphisms, corneal clouding, valvular thickening and cardiomyopathy, diarrhea, hepato(-spleno) megaly, dysostoses, very thick hair</p>	<p>Hunter Syndrome (MPS II)</p> <p>Dementia, sensorineural hearing loss, White matter abnormalities (MRIscan)</p> <p>Dysmorphisms, corneal clouding, valvular thickening and cardiomyopathy, diarrhea, hepato (-spleno) megaly, dysostoses, very thick hair</p>
<p>I.o. Metachromatic Leukodystrophy</p> <p>Dementia, psychosis/(manic-)depression, behavioral disturbances, spasticity, neuropathy</p> <p>---</p>	<p>3-Methylcrotonyl Glycinuria</p> <p>white matter abnormalities (MRIscan)</p> <p>Urine sweaty feet odor</p>	<p>I.o. MTHFR Deficiency</p> <p>psychosis/depression, behavioral disturbances, Stroke, neuropathy, White matter abnormalities (MRIscan)</p> <p>---</p>
<p>I.o. NAGS Deficiency</p> <p>Encephalopathic crisis, psychosis/depression, behavioral disturbances, white matter abnormalities (MRIscan)</p> <p>---</p>	<p>I.o. OTC Deficiency</p> <p>Encephalopathic crisis, psychosis/depression, behavioral disturbances, psychiatric disturbances, white matter abnormalities (MRIscan)</p> <p>Elevated transaminases</p>	<p>PDH Complex Deficiency</p> <p>Ataxia, dystonia, neuropathy, cystic leukodystrophy (MRIscan), brain cysts / dysgenesis (MRIscan)</p> <p>Dysmorphisms</p>
<p>Pyridoxine Dependent Epilepsy</p> <p>Epilepsy, white matter abnormalities (MRIscan), brain cysts / dysgenesis (MRIscan)</p> <p>---</p>	<p>Sly Syndrome (MPS VII)</p> <p>Dementia, White matter abnormalities (MRIscan)</p> <p>Dysmorphisms, corneal clouding, hepato(-spleno) megaly, dysostoses</p>	<p>SSADH Deficiency</p> <p>Behavioral disturbances, epilepsy, ataxia, white matter abnormalities (MRIscan)</p> <p>---</p>

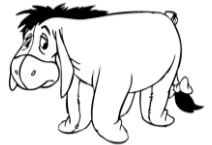
Genetisk utredning



8 måneder: 180k array CGH, normalt

17 måneder: Utviklingsavvik-trio ca 1855 gener, normalt
Hel-eksom trio (WES trio) 20 000 gener foreslått vurdert

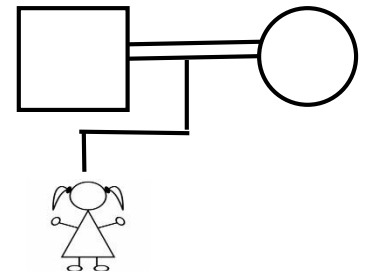
22 måneder: Mistanke om 8-10 diagnoser basert på klinisk fenotype og supplerende utredning



23 måneder: Bioinformatisk utvidelse → WES trio



25 måneder: Homozygot c.10_25dup p.(Ala9Glyfs*42) i *MTHFS*



MTHFS koder for metylentetrahydrofolat syntetase

Forstyrrelse i cerebral folat metabolisme

Årsaken? Passer fenotypen?



Litteraturen: 3 ubeslektete barn med «nevroutviklingsforstyrrelse, mikrocefali og hypomyelinisering»

...økt «startle» refleks

+ 1 person til via internasjonalt samarbeid

Ny runde metabolsk utredning (macrocytær anemi? MTHF i csf?)

MTHF tidligere 52 nmol/L (38-177)

Behandling?

Ikke folinsyre? 5-MTHF peroralt + metylcobalamin i.m.?

Familieplanlegging (autosomal recessiv sykdom)



Internasjonalt samarbeid ved ultrasjeldne sykdommer

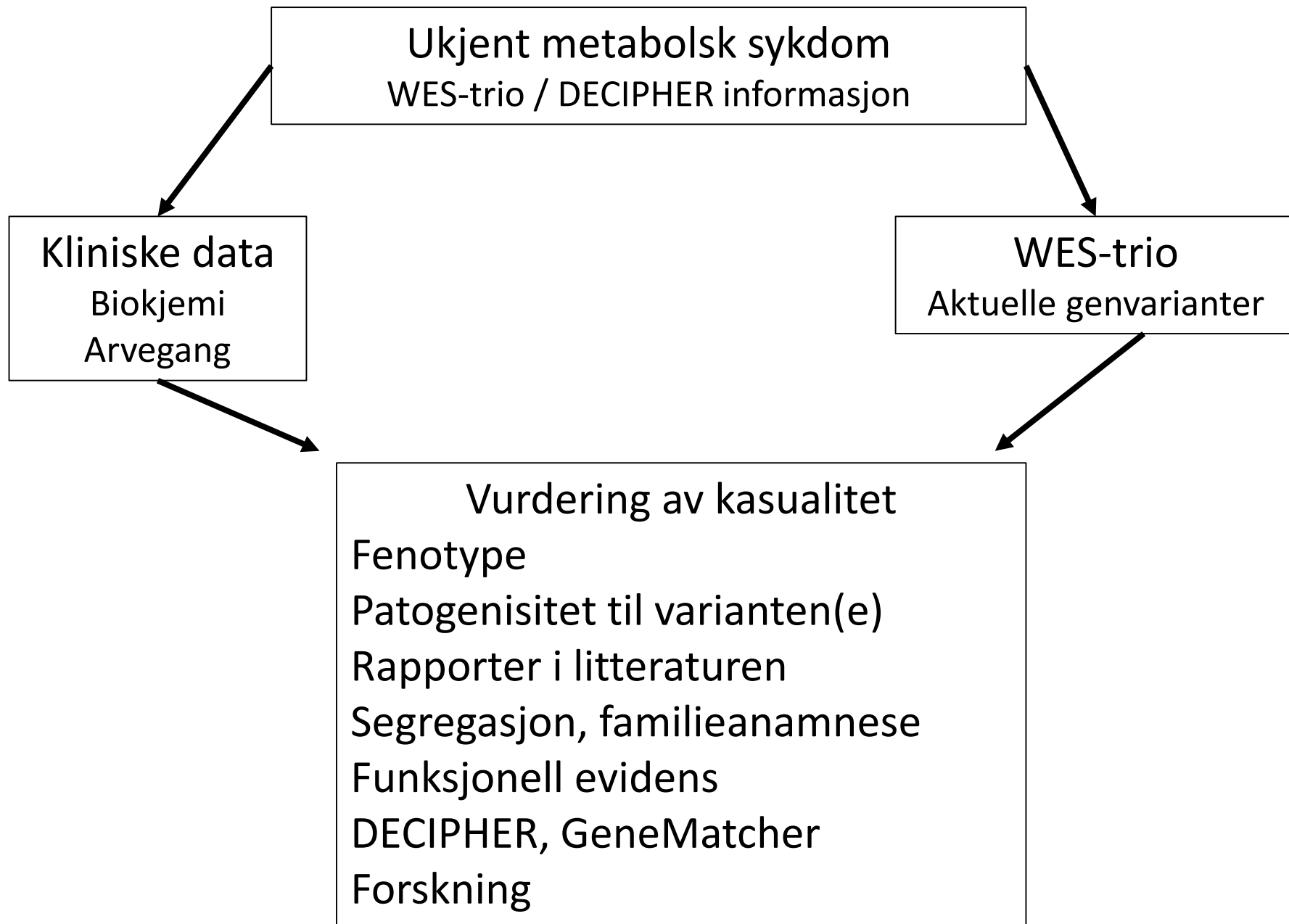
Fra epost veksling med Lance Rodan, Harvard:

We are continuing to study the complex biochemistry of this disorder in conjunction with Dr. Gregory Ducker at the University of Utah, a biochemist with expertise in folate metabolism and the study of folate vitamers.

We believe there are secondary metabolic perturbations in this disorder beyond disrupted methylation, potentially including abnormal purine metabolism.

As a start, I would like to email the group an excel spreadsheet to collate the basic clinical and genetic data on these patients.

There may be additional functional work that we can provide in the near future beyond enzymology.



Tolkning av genetiske varianter

Noen er lett å klassifisere

benigne
sykdomsgivende

En *de novo* variant er ikke alltid kausal

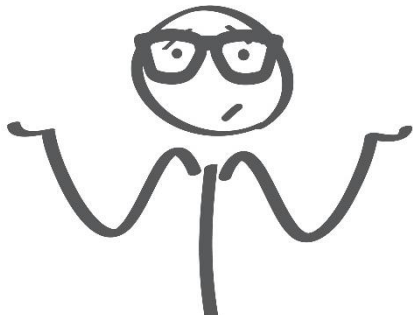
2% av oss har en *de novo* kopitallsvariant (CNV)

~1-2 *de novo* exonisk singel nukleotid variant (SNV) / person



Varianter med ukjent signifikans (VUS)

Passer fenotypen?



Genomics England PanelApp

A crowdsourcing tool to allow gene panels to be shared, downloaded, viewed and evaluated by the Scientific Community

White matter disorders - childhood onset (Version 6.536)

Relevant disorders: Childhood onset leukodystrophy, R109

This panel contains these 4 panels:

Intellectual disability v3.456

Inborn errors of metabolism v2.22

Mitochondrial disorders v2.8

White matter disorders and cerebral calcification - narrow panel v1.20

Panel types: GMS Rare Disease Virtual, Super Panel, GMS signed-off

Panel version 6.20 has been signed off on 4 Mar 2020



2242 grønne gener

= sterk evidens for gen-fenotype sammenheng



MTHFS gult

Årsaken?



Utviklingsavvik panel

September 2018: 1750 gener

Oktober 2020: 2000+ gener



Medfødte stoffskifte sykdommer

Syklisitet

Tidlig debut

....men ikke bare

Tap av kognitive ferdigheter

Familieanamnese

Flere affiserte

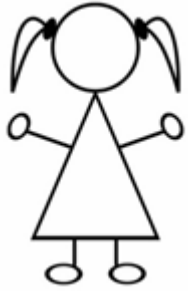
Konsanguinitet

Men klinikken ikke alltid opplagt



Diagnose

Diagnose



Genpanel trio



WES trio



Trio-sekvensering: stort genpanel



~200 sjeldne
varianter



XL, AR, *de novo* modell

~1-2 *de novo* varianter



~200 sjeldne
varianter



XL, AR, *de novo* modell

~50 *de novo* varianter

Prøven er ikke fra biologisk far eller mor

A close-up photograph of a person's hand holding a yellow sticky note. The note is tilted and features red text in a bold, sans-serif font. The background is a plain, light-colored surface.

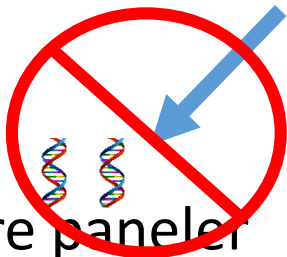
**Hva bør
du gjøre?
Ikke
gjøre?**

Spesifikk diagnose
Ett eller få gener



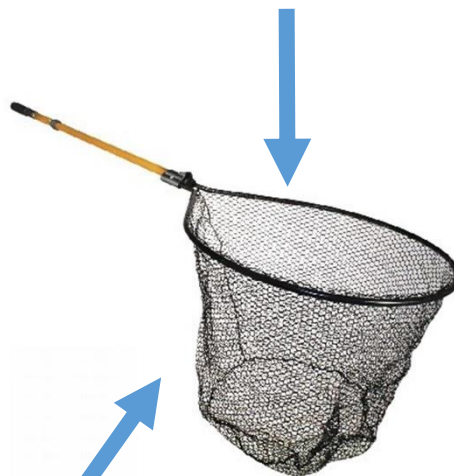
Spesifikk test
eller panel

Negativt



Flere paneler

Fenotypisk heterogenitet
Mange aktuelle gener



Bred testing
Vurder WES trio

WES-trio informasjon, Skien

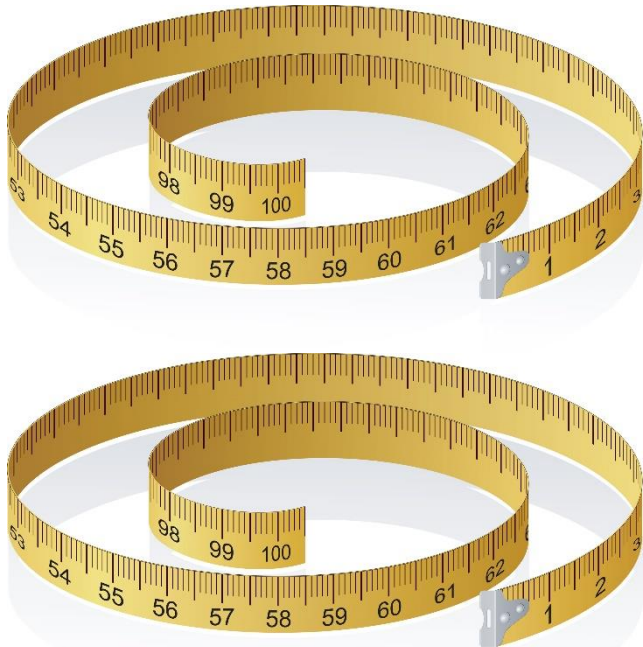
1. Biologiske slektskapsforhold vil bli klarlagt
2. Genvariantdata brukes i tolkning av prøver fra andre
3. Foreldreprøvene blir ikke «fullstendig» undersøkt
4. Risiko for bifunn er <1%
5. Kan bli aktuelt med forespørsel om deltagelse forskningsprosjekt
6. Svartid er vanligvis tre til fire måneder (panel → WES-trio, fortere)

JA eller NEI spørsmål

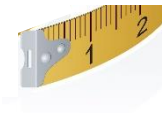
1. Beskjed om bifunn med høy risiko for alvorlig sykdom hvor forebygging eller behandling mulig?
2. Tillatelse til registrering i DECIPHER?

Neste Generasjons Sekvensering (NGS)

Genomsekvensering
"Whole **genome**
sequencing"
(WGS)



Eksomsekvensering
"Whole **exome**
sequencing"
(WES)



Eksomsekvensering

Rimeligere, lettere å tolke enn **helgenom**sekvensering

~80% av genfeil i eksomet

Problemer

Noen typer avvik

introniske spleisefeil

intrageniske delesjoner / insersjoner (indels)

ekspansjoner

epigenetiske avvik

mosaikk tilstander

CNV'er over 30 – 50 basepar

avvik i regulerende elementer utenfor eksomet

avvik i mtDNA

Varianter av ukjent signifikans (VUS'er)

Bifunn uten relevans til indikasjon for analysen



Genomsekvensering

RNA sekvensering

Metaboliske analyser

etc



Uttalt hepatosplenomegali pancytopeni, brudd, blå sclerae

?Hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH)

Eksomsekvensering basert genpanel inkludert *UNC13D*: negativ

253 kb C-terminal inversion i *UNC13D* i nordiske HLH families

UNC13D mangel påvist

Spesialanalyse designet: homozygositet for inversjonen påvist

Gode kliniske opplysninger  bedre hjelp



Rapid exome sequencing in PICU patients with new-onset metabolic or neurological disorders

Abigail S Carey ^{1 2 3}, John P Schacht ^{2 3 4}, Christine Umandap ^{2 3 4}, David Fasel ^{3 5}, Chunhua Weng ^{3 5}, Joshua Cappell ^{1 2 3}, Wendy K Chung ^{2 3 4}, Steven G Kernie ^{6 7 8}

13 foreldrepar forespurt (<6 år, innlagt > 3 dager)

10 deltok

7 dagers svartid

5 genetiske diagnoser

3 årsaksdiagnoser med relevans til det aktuelle:

1 *DEPOC3*-relatert epilepsi → everolimus forsøkt

1 *KCNB1*-relatert epilepsi, feberkramper → epilepsi, medisiner

1 *PIK3CD*-relatert diaré (immunsvikt) → IVIG

1 epilepsi, bifunn (G6PD mangel → endret medikasjon)

1 failure to thrive, tilleggdiagnose (albinisme → øyelege)

Innlagt 15 dager (12-46,2) vs 100 kontroller 59 dager (41-95,5)

Genpaneltesting

KRONIKK

BARNE- OG UNGDOMSPSYKIATRI / BARNESYKDOMMER / FYSIKALSK MEDISIN
OG REHABILITERING / INDREMEDISIN / MEDISINSK GENETIKK /
ØYESYKDOMMER

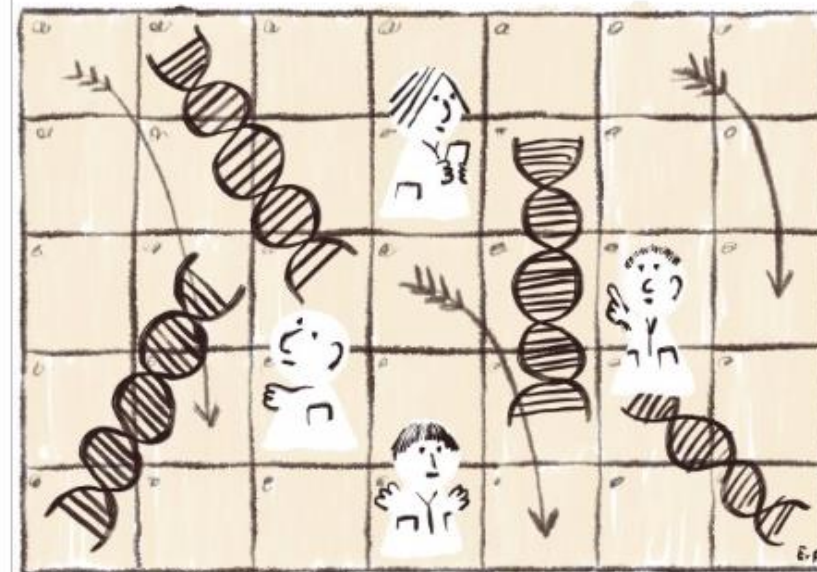
ARTIKKEL

Ida W. Sørensen, Trine Prescott, Cecilie F. Rustad, Ellen Ø. Blinkenberg, Charlotte von der Lippe Om forfatterne

LITTERATUR

Publisert: 10. februar 2020
Utgave 3, 25. februar 2020

Tidsskr Nor Legeforen 2020
doi: 10.4045/tidsskr.19.0535





NORSK PORTAL FOR MEDISINSK-GENETISKE ANALYSER

Søk

- Indikasjoner
- Gen/locus
- NGS genpanel**
- Laboratorier
- Ordbok
- Lenker
- Hvordan bruke portalen
- Nyheter
- Hjem

- ▶ Arvelig kreft
- ▶ Bindevevssykdommer
- ▶ Døvhets
- ▶ Endokrine tilstander
- ▶ Fertilitet og kjønnsutvikling
- ▶ Gastrointestinale lidelser
- ▼ **Heleksom**
 - NGS-Heleksom-TRIO SH-TEL
 - NGS-Spesialtilpasset SH-TEL
- ▶ Hematologiske og immunologiske tilstander
- ▶ Hjertergenetikk
- ▶ Hudsykdommer
- ▶ Metabolske sykdommer
- ▶ Nevrologiske sykdommer inkl muskelsykdommer
- ▶ Nyresykdommer
- ▶ Psykiatriske tilstander
- ▶ Skjelettdysplasier/ kraniosynostoser
- ▶ Spesialtilpassede genpanel
- ▶ Syndromer
- ▶ Utviklingshemming og lærevansker
- ▶ Øyesykdommer

NGS-Heleksom-TRIO Lab: SH-TEL

Klikk på tittellinjene under for å vise/skjule detaljer om panelet:

Panelbeskrivelse	Panelbeskrivelse versjon 1.1.2	+
Genlister		+
Laboratorium og rekvisisjon		+
Metode		+
Prøvemateriale		+



1. Er sannsynlighet for å gjøre et bifunn størst ved genomisk kopitallsanalyse (feks array CGH) av pasienten eller ved hel-eksom (WES) trio testing for pasienten og foreldrene? **Kopitallsanalyse**

2. Hva betyr «trio»?



Utviklingsavvik trio \neq WES trio

3. Kan eksomsekvensering brukes til å utelukke en diagnose?

Oftest ikke

4. Hvilken informasjon kan trio analyser gi om slektskapsforhold?

Nært slektskap / fravær av slektskap

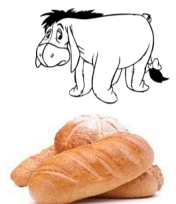
5. Er testing av ulike genpaneler i serie en god strategi?

Nei

6. Hva er forskjellen mellom et exom og et genom?

Exomet = proteinkodende del av genomet dvs 1-2%

7. Når og hvorfor skal du vurdere å gjøre en WES-trio?



Genetisk utredning ved sjeldne metabolske sykdommer

Fenotype er viktig for

utvelgelse av hvem som skal testes
tolkning av genvarianter

Hvis første genpanel er negativt, vurder WES
gentesting, og spesielt genpaneler, er ferskvare



Hvis WES negativ vurder andre tilnærminger
WGS (hel-genom sekvensering mm) kommer

Vurder re-analyse om 1-5 år hvis negativ WES
behandlende lege må kontakte laboratoriet



Og en ting til.....

KONTAKT

