PAC0 - Definició dels continguts del treball

• Títol: Classificació de variants en gens implicats en la via Ras/MAPK detectades a partir de NGS.

• Paraules clau: *RASopathies, inherited disorders, NGS, sequence variants, classification*.

• Temàtica escollida:

Els laboratoris moleculars es troben amb que cada vegada detecten més variants durant la seqüenciació de gens associats a malalties genètiques. Mentre que alguns fenotips s’associen a un sol gen, molts altres s’associen a múltiples gens. La comprensió de la importància clínica de qualsevol variant de seqüència cau al llarg d'un gradient, que va des d'aquells en què la variant és gairebé segur que és patogènica per a un malaltia a aquells que són pràcticament benignes. Les recomanacions de la ACMG (de l’anglès, *American College of Medical Genetics and Genomics*) proporcionen unes pautes per a la classificació de variants de seqüència mitjançant criteris formats per la combinació d’opinions d’experts juntament amb dades empíriques. Aquestes pautes estan pensades per a la interpretació de variant observades en pacients amb malalties hereditàries i pretenen determinar quan una variant en un gen clau de la malaltia pot ser patogènica per aquesta. I proporcionen dos grups de criteris: el primer per la classificació de variants patogèniques o probablement patogèniques i el segon per la classificació de variables benignes o probablement benignes; els qual es combinen segons les normes descrites a la taula 1 per la classificació de variants de seqüències [1].

Taula 1. Normes de combinació de criteris per la classificació de variants de seqüències [1].



Les conegudes com a RASopaties són un grup de malalties fenotípicament relacionades provocades per variants patogèniques en gens de la línia germinal implicats en la via de senyalització Ras/MAPK (de l’anglès, *Ras/mitogen-activated protein kinase*). Aquest grup de malalties està format per: la síndrome de Noonan (NS), la síndrome LEOPARD (NS amb múltiples pigues), la síndrome de Costello, la síndrome cardiofaciocutània (CFC) i la síndrome Noonan-like. Les característiques fenotípiques que comparteixen inclouen: un creixement deficient, anomalies cardíaques, anomalies ectodèrmiques, dèficits del desenvolupament neurològic i augment del risc tumoral [2–6]. Els gens majoritàriament implicats són: *BRAF, CBL, HRAS, KRAS, LZTR1, NF1, NRAS, MAP2K1, MAP2K2, PTPN11, RAF1, RIT1, SHOC2, SOS1, SOS2*, entre d’altres [7].

Així com existeixen les guies creades per la ACMG, comentades anteriorment, també existeixen les recomanacions del RAS EP (de l’anglès, *ClinGen RASopathies Expert Panel*), el qual es centra en proporcionar una guia més específica per la classificació de variants en aquests tipus de malalties relacionades amb la via Ras/MAPK. En aquestes malalties la majoria de variants patogèniques produeixen un guany de funció, GOF (de l’anglès, *gain-of-function*), que provoca la desregulació de la via Ras/MAPK. Aquestes s’hereten de manera autosòmica dominant amb penetrància completa i expressivitat variable. Tot i això alguns gens (per exemple: *NF1, LZTR1*) s’han associat amb pèrdues de funció, LOF (de l’anglès, *loss-of-function*) i / o herència autosòmica recessiva [8].

• Problemàtica a resoldre:

Amb els darrers avanços en tecnologies com la NGS (de l’anglès, *Next Generation Sequencing*) cada vegada resulta més ràpid i econòmic l’obtenció de dades genètiques per part dels laboratoris de diagnòstic molecular. Tot i això la interpretació clínica de les dades obtingudes segueix sent subjectiva, complexa i amb limitacions importants pel que fa a consistència i precisió; obtenint-se diferents interpretacions segons les normes de classificació de variants que segueix cada laboratori o l’accés a dades de casos únics. Davant d’això existeixen recomanacions descrites per la ACMG-AMP (de l’anglès, *American College of Medical Genetics and Genomics – Association for Molecular Pathology*), tot i això l’avaluació de la seva fiabilitat per part dels investigadors en aquest camp posen en manifest la necessitat de millorar aquestes guies i afegir l’opinió d’experts alhora de seguir-les.

Històricament, la majoria de les malalties incloses dins les anomenades RASopaties han estat descrites com a síndromes diferents que presenten altes correlacions entre cada síndrome i un/s determinat/s gen/s. Malgrat això, les característiques fenotípiques que comparteixen entre elles han fet complicat el seu diagnòstic. A més, s’ha descrit una expressivitat variable en individus i famílies que comparteixen el mateix genotip [9,10]. Per això, el grup d’experts ClinGen RASopathy (RAS EP) ha intentat proporcionar una revisió completa dels gens de la via Ras/MAPK i la seva implicació en les RASopaties. Actualment la majoria de laboratoris utilitzen panells de NGS per realitzar les proves genètiques per a les RASopaties, els algoritmes que hi ha darrere aquests panells segueixen tenint limitacions relacionades amb l’especificitat que cal millorar. En resum, la dificultat alhora de classificar les variants s’aconsegueix resoldre d’alguna manera (no del tot satisfactòria segons l’opinió dels investigadors en el camp) amb l’ús de les guies establertes. Malgrat això, segueix sent un problema quan s’ha de fer de forma rutinària als laboratoris de diagnòstic molecular on es fan estudis de NGS, en aquests casos segueix sent necessari el disseny d’aplicatius que permetin fer la classificació de variant d’una manera semi-automàtica.

• Objectius:

L’objectiu principal del TFM és la creació o millora d’una eina bioinformàtica per l’anàlisi de dades genòmiques que faciliti la feina dels investigadors en l’àrea del diagnòstic genètic de les RASopaties. En concret desenvolupar un aplicatiu per ajudar a la classificació de variants detectades a partir de NGS.

• Bibliografia:

1. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. Genet Med. 2015;17:405–24.

2. Nava C, Hanna N, Michot C, Pereira S, Pouvreau N, Niihori T, et al. Cardio-facio-cutaneous and Noonan syndromes due to mutations in the RAS/MAPK signalling pathway: genotype-phenotype relationships and overlap with Costello syndrome. J Med Genet. 2007;44:763–71.

3. Pierpont MEM, Magoulas PL, Adi S, Kavamura MI, Neri G, Noonan J, et al. Cardio-facio-cutaneous syndrome: clinical features, diagnosis, and management guidelines. Pediatrics. 2014;134:e1149-62.

4. Rauen KA. The RASopathies. Annu Rev Genomics Hum Genet. 2013;14:355–69.

5. Romano AA, Allanson JE, Dahlgren J, Gelb BD, Hall B, Pierpont ME, et al. Noonan syndrome: clinical features, diagnosis, and management guidelines. Pediatrics. United States; 2010;126:746–59.

6. Tidyman WE, Rauen KA. The RASopathies: developmental syndromes of Ras/MAPK pathway dysregulation. Curr Opin Genet Dev. 2009;19:230–6.

7. Grant AR, Cushman BJ, Cavé H, Dillon MW, Gelb BD, Gripp KW, et al. Assessing the gene-disease association of 19 genes with the RASopathies using the ClinGen gene curation framework. Hum Mutat. 2018;39:1485–93.

8. Gelb BD, Cavé H, Dillon MW, Gripp KW, Lee JA, Mason-Suares H, et al. ClinGen’s RASopathy Expert Panel consensus methods for variant interpretation. Genet Med. 2018;20:1334–45.

9. Allanson JE, Roberts AE. Noonan Syndrome. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Stephens K, et al., editors. Seattle (WA); 1993.

10. Tartaglia M, Kalidas K, Shaw A, Song X, Musat DL, van der Burgt I, et al. PTPN11 mutations in Noonan syndrome: molecular spectrum, genotype-phenotype correlation, and phenotypic heterogeneity. Am J Hum Genet. 2002;70:1555–63.