

Preliminary Data on the Genetics of Limb Girdle Muscle Weakness in Chile

Bevilacqua JA¹, P. González-Hormazábal², C. Castiglioni³, P. Caviedes⁴, L. Jara².

1. Departamento de Neurología y Neurocirugía, Hospital Clínico Universidad de Chile, Facultad de Medicina, Universidad de Chile;
2. Programa de Genética Humana, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile .
3. Unidad de Neuropediatría, Clínica Las Condes, Santiago.
4. Programa de Farmacología Clínica y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

Declaración de Conflictos de Intereses

- Consultor Médico de Sanofi – Genzyme, Biogen, CLS Behring and Novartis
- No tengo conflictos de intereses para esta presentación

¿Cuántas miopatías existen?



Available online at www.sciencedirect.com

ScienceDirect

Neuromuscular Disorders 28 (2018) 1031–1063



www.elsevier.com/locate/nmd

The 2019 version of the gene table of neuromuscular disorders (nuclear genome)

Gisèle Bonne^{a,*}, François Rivier^b, Dalil Hamroun^c

^aSorbonne Université, INSERM UMRS_974, Centre de Recherche en Myologie, Institut de Myologie, G.H. Pitié-Salpêtrière, Paris, France

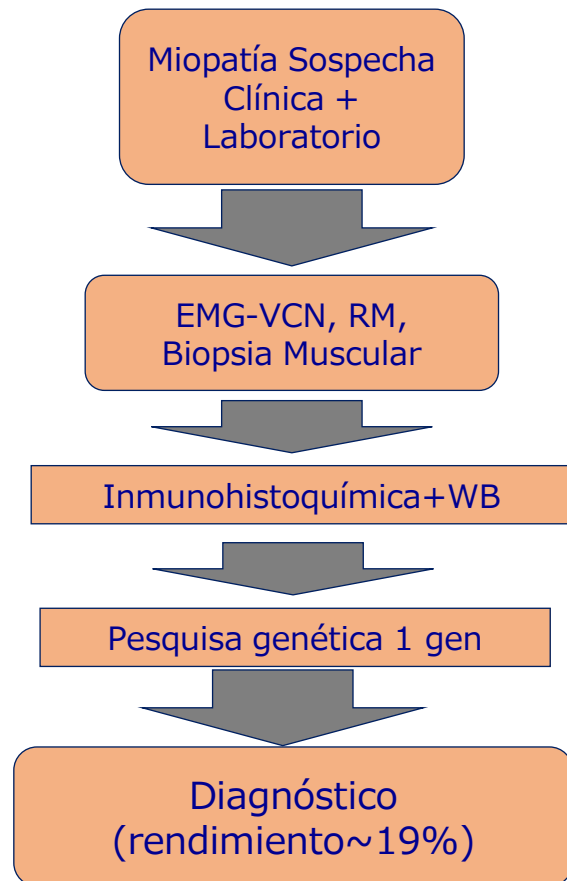
^bNeuropédiatrie & CR Maladies Neuromusculaires, CHU de Montpellier, U1046 INSERM, UMR9214 CNRS, Université de Montpellier, France

^cCHRU de Montpellier, Direction de la Recherche et de l'Innovation, Hôpital La Colombière, Montpellier, France

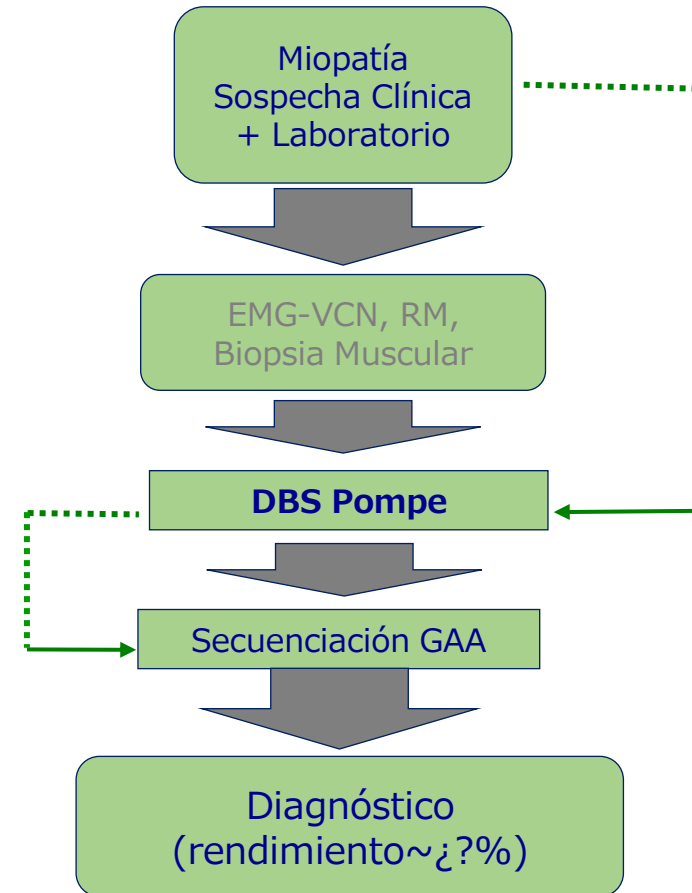
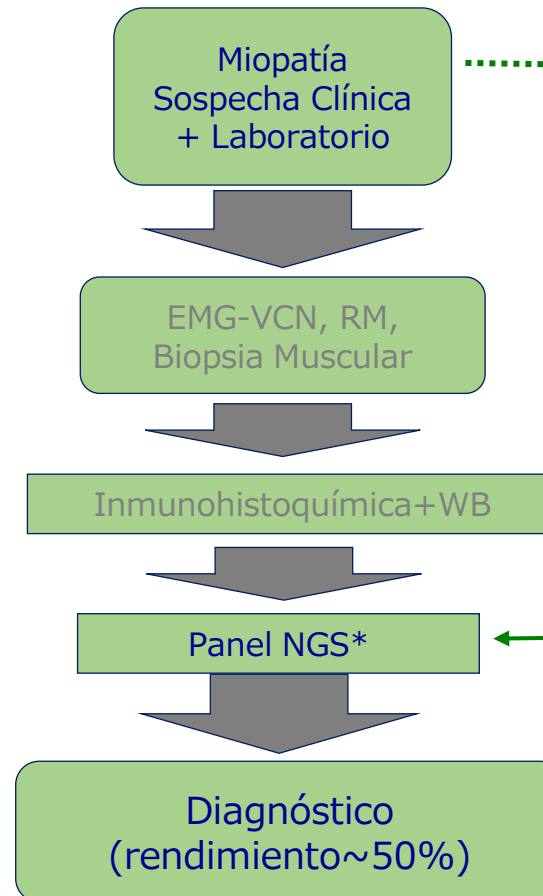
- >690 fenotipos NM →→ ~301 presentaciones fenotípicas de miopatía
- Cientos de genes y proteínas
- Varios loci mapeados a la espera de identificación
- ~25 genes nuevos comunicados cada año....

“...el cambio del algoritmo diagnóstico inducido por NGS ...”

Abordaje clásico



Abordajes inducidos por NGS



Diagnóstico de la debilidad de cinturas (LGMW)

- Paneles NGS como transformador del ejercicio diagnóstico
- Rendimiento diagnóstico igual o superior que el enfoque “biopsia primero”
- “DNA primero” es más rápido y barato que el enfoque “biopsia primero”
- Paneles pequeños vs. ampliados
 - Gen Individual = 15-19%: Panel = 46%: Exoma = ~37%
- Rendimiento Diagnóstico
 - Depende del algoritmo o estrategia y de los criterios de exclusión/inclusión
 - Dependiente fuertemente de características técnicas del panel – cobertura, profundidad, variantes incluidas e interpretación

Cuidado, no todo es tan simple como parece....

EDITORIAL

Next-generation sequencing still needs our generation's clinicians

OPEN

...as any other diagnostic test!!!

A. Reghan Foley, MD*
Sandra Donkervoort, MS,
CGC*
Carsten G. Bönnemann,
MD

Correspondence to
Dr. Bönnemann:
carsten.bonnemann@nih.gov

Neurol Genet
2015;1:e13; doi: 10.1212/

The full arrival and broader availability of next-generation sequencing (NGS) is transforming the practice of medicine, including neurology. Compared with the traditional one-gene-at-a-time Sanger sequencing, NGS, or massively parallel sequencing, is a radically different approach to genetic sequencing. NGS allows for a large number of genes to be captured and sequenced in parallel, creating an enormous amount of data in a relatively short period of time at much lower cost “per gene.”

Traditional direct Sanger sequencing may still be a cost- and time-effective genetic diagnostic testing

on a robust and comprehensive NGS-based panel testing for 236 neuromuscular-related genes. They report that this targeted capture approach resulted in an excellent yield, identifying deleterious mutations in 29 of 35 families (83%) studied in their cohort of patients with clinically heterogeneous neuromuscular diseases, including congenital myopathies, limb-girdle muscular dystrophies (LGMDs), Charcot-Marie-Tooth (CMT) disease, metabolic myopathies, myotonic syndromes, and ion channel diseases. They considered the diagnosis to be definitive in 21 families (60%) and likely in an additional 8

Disferlinopatías en Chile

- 2003, identificación del primer caso (Dysf#001)
- 2005, segundo caso (Dysf#002)
- 2006, confirmados genéticamente,
Dr. Martin Krahn & Prof. Nicolas Levy, Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille, France

HUMAN MUTATION Mutation in Brief #1037, 29:E345-E375, (2008) Online

MUTATION IN BRIEF

Analysis of the *DYSF* Mutational Spectrum in a Large Cohort of Patients

Martin Krahn^{1,2}, Christophe Bérout³, Véronique Labelle¹, Karine Nguyen^{1,2}, Rafaëlle Bernard^{1,2}, Guillaume Bassez⁴, Dominique Figarella-Branger⁵, Carla Fernandez⁵, Julien Bouvenot⁶, Isabelle Richard⁷, Elisabeth Ollagnon-Roman⁸, Jorge A. Bevilacqua⁹, Eric Salvo¹, Shahram Attarian¹⁰, Françoise Chapon¹¹, Jean-François Pellissier⁵, Jean Pouget¹⁰, El Hadi Hammouda¹², Pascal Laforêt¹³, Jon Andoni Urtizberea¹⁴, Bruno Eymard¹³, France Leturcq,¹⁵ and Nicolas Lévy^{1,2*}

FONDECYT Nº1110159 (2011-2014)

“Estudio de las disferlinopatías y enfermedades relacionadas...”

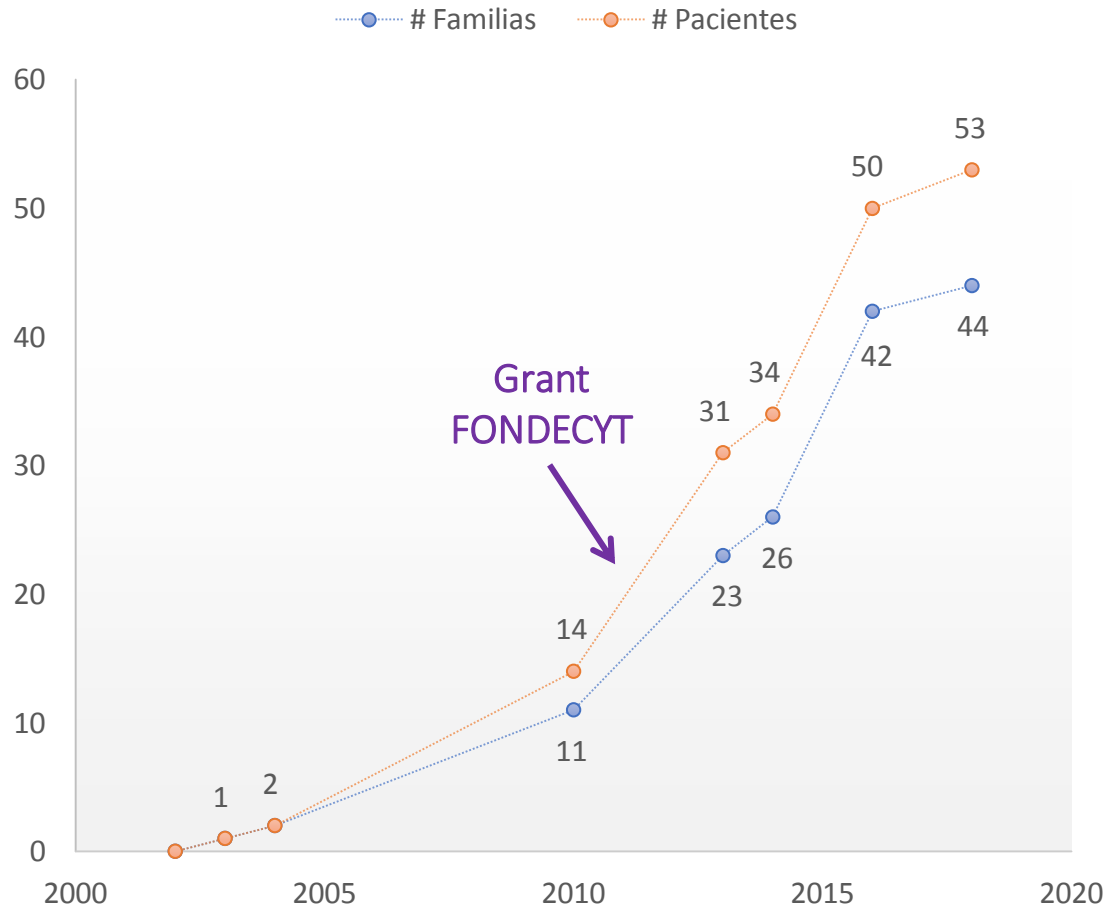
...a partir de la acumulación de casos con similar diagnóstico clínico sin solución molecular...

Objetivos:

1. Redefinir el fenotipo clínico
2. Implementar un algoritmo diagnóstico completo
3. **Establecer el diagnóstico genético de la enfermedad en Chile**
4. *Iniciar la caracterización de pacientes excluidos para disferlinopatía en el presente estudio (Ej. LGMD 2A, 1C) → FONDECYT1151383*
5. *Estudiar otros fenotipos con debilidad de cinturas*

¿Son las disferlinopatías más pevalentes en Chile?

Chile ≈18.05 millones de habitantes

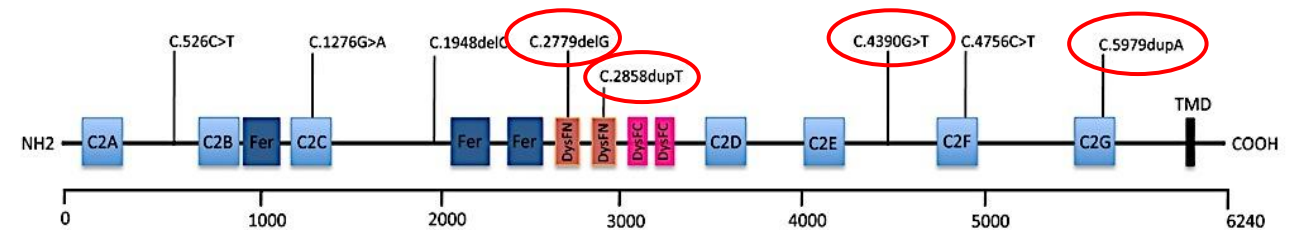


Efecto Fundador de 4 mutaciones recurrentes

Table 1. Relative frequency of the recurrent mutations found in the cohort: recurrence of DYSF pathogenic mutation in Chilean patients.

Ranking	Exon	Nucleotide change	Amino acid change	Frequency (%)	Reference*
1	53	c.5979dupA	p.Glu1994Argfs*3	16 (25.8%)	DYSF_00054
2	27	c.2858dupT	p.Phe954Valfs*2	16 (25.8%)	DYSF_00214
3	26	c.2779delG	p.Ala927Leufs*21	9 (14.5%)	DYSF_00213
4	40	c.4390G>T	p.Glu1443*	8 (12.9%)	DYSF_00267
5	6	c.526C>T	p.Gln176*	5 (8.0%)	DYSF_00264
6	43	c.4756C>T	p.Arg1586*	2 (3.2%)	DYSF_00027
7	21	c.1948delC	p.Leu650Tyrfs*6	2 (3.2%)	DYSF_00317
8	13	c.1276G>A	p.Gly426Arg	2 (3.2%)	DYSF_00314

The first 2 mutations accounted for 51.6% of the total, whereas mutations ranked 1–4 represented 79% of total, suggesting a founder effect. *Description according to Leiden Muscular Dystrophy Database records.



TOWARD AN OBJECTIVE MEASURE OF FUNCTIONAL DISABILITY IN DYSFERLINOPATHY

LISANNE WOUTD, MSc,¹ GABRIELLA A. DI CAPUA, PhD,² MARTIN KRAHN, MD, PhD,^{3,4} CLAUDIA CASTIGLIONI, MD,⁵ RICARDO HUGHES, MD,¹ MARIO CAMPERO, MD,¹ ALEJANDRA TRANGULAO, MT,⁶ PATRICIO GONZÁLEZ-HORMAZÁBAL, PhD,² RAÚL GODOY-HERRERA, PhD,² NICOLAS LÉVY, MD, PhD,^{3,4} JON ANDONI URTIZBEREA, MD,⁷ LILIAN JARA, PhD,² and JORGE A. BEVILACQUA, MD, PhD^{1,6}

Muscle Nerve 53: 49–57, 2016

BROADENING THE IMAGING PHENOTYPE OF DYSFERLINOPATHY AT DIFFERENT DISEASE STAGES

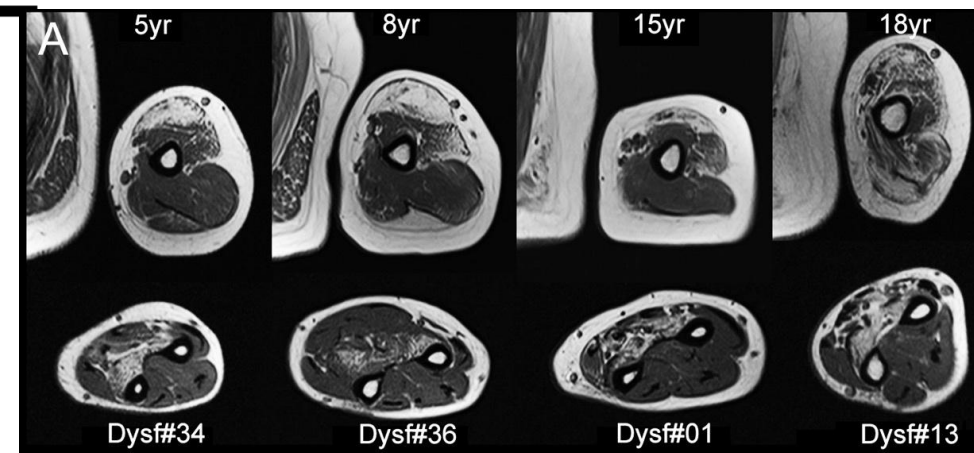
JORGE DÍAZ, MD,¹ LISANNE WOUTD, MSc,² LIONEL SUAZO, MD,¹ CRISTIÁN GARRIDO, MT,¹ PABLO CAVIEDES, MD, PhD,³ ANA M. CÁRDENAS, PhD,⁴ CLAUDIA CASTIGLIONI, MD,⁵ and JORGE A. BEVILACQUA, MD, PhD^{2,6}

Muscle Nerve 54: 203–210, 2016

DISEASE DURATION AND DISABILITY IN DYSFERLINOPATHY CAN BE DESCRIBED BY MUSCLE IMAGING USING HEATMAPS AND RANDOM FORESTS

DAVID GÓMEZ-ANDRÉS, MD, PhD ¹ JORGE DÍAZ, MD,² FRANCINA MUNELL, MD, PhD,¹ ÁNGEL SÁNCHEZ-MONTÁÑEZ, MD,³ IRENE PULIDO-VALDEOLIVAS, MD, PhD,⁴ LIONEL SUAZO, MD,² CRISTIÁN GARRIDO, MT,² SUSANA QUIJANO-ROY, MD, PhD,⁵ and JORGE A. BEVILACQUA, MD, PhD ^{6,7}

Muscle Nerve 59:436–444, 2019

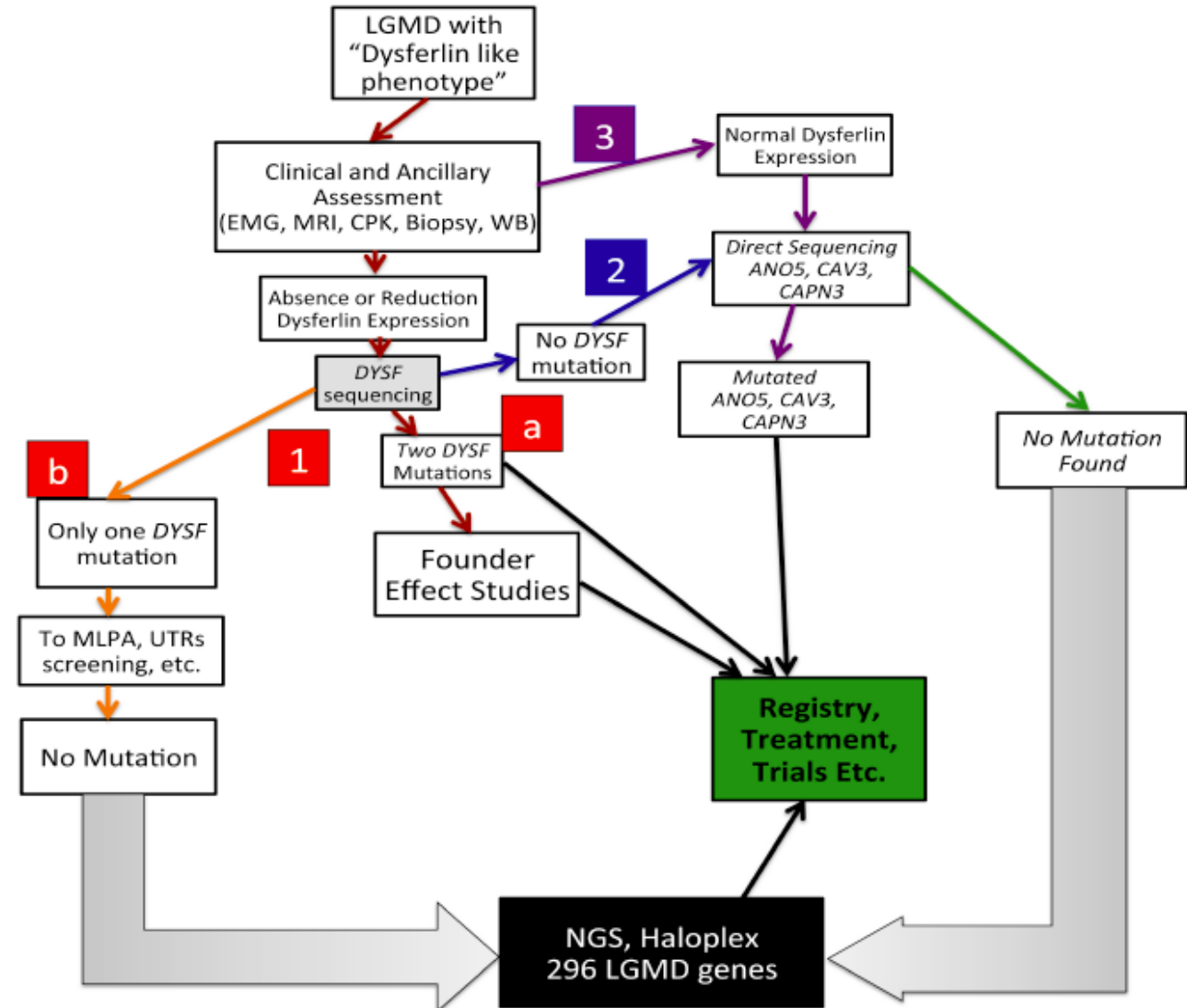


FONDECYT Nº 1151383 (2015-2019)

“Profundización de los estudios de las miopatías de cinturas en la población chilena...”

Objetivos Prioritarios:

1. Caracterización de pacientes excluidos para disferlinopatía en FONDECYT#1110159
2. Establecer prevalencia relativa de las miopatías de cinturas en Chile
3. Se estima que 20% de las LGMD son disferlinopatías → 80% de las LGMD aguardan ser indentificadas...



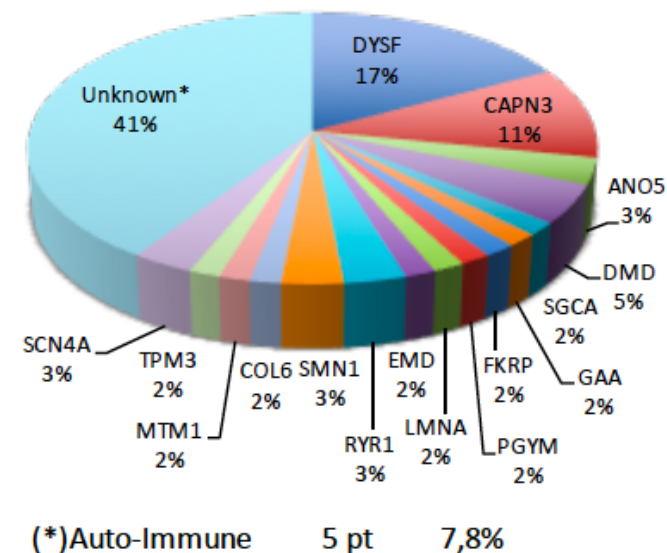
FONDECYT N° 1151383 (2015-2019)

“Profundización de los estudios de las miopatías de cinturas en la población chilena...”

- 64 pacientes estudiados
- 34 (59%) pacientes con diagnóstico
- 17% disferlinopatías
- 10% calpainopatías

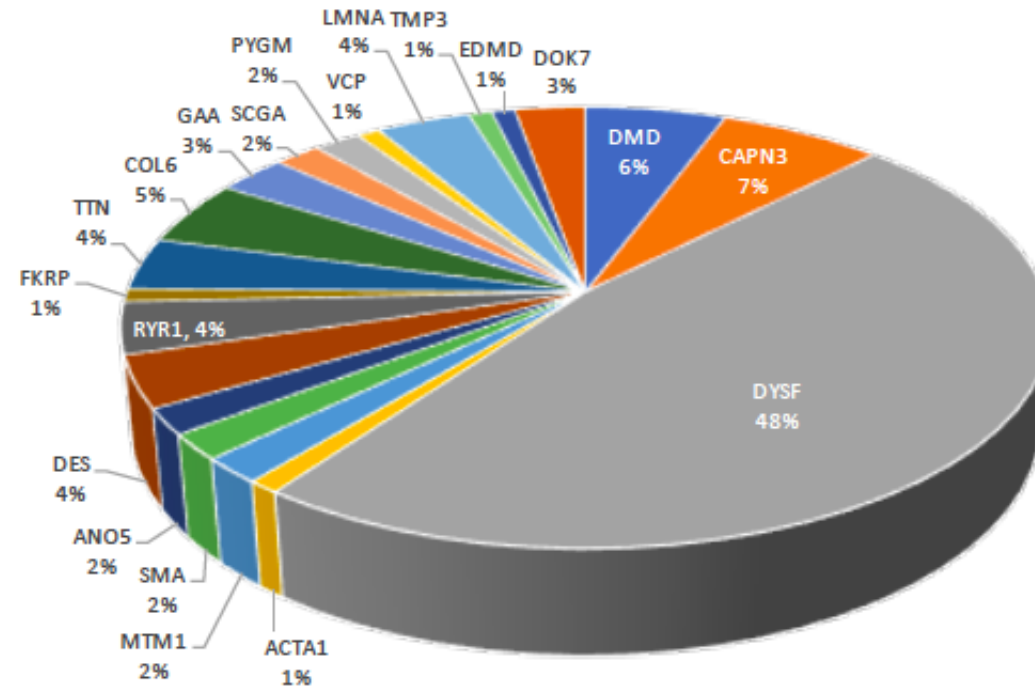
Gene	# affected patients	% over 64 samples
DYSF	11	17,2
CAPN3	7	10,9
ANO5	2	3,1
DMD	3	4,7
SGCA	1	1,6
GAA	1	1,6
FKRP	1	1,6
PGYM	1	1,6
LMNA	1	1,6
EMD	1	1,6
RYR1	2	3,1
SMN1	2	3,1
COL6	1	1,6
MTM1	1	1,6
TPM3	1	1,6
SCN4A	2	3,1
Unknown*	26	40,6
Total	64	100,0

Percent of Genes Mutated over 64 samples



Porcentaje Relativo de las distintas miopatías sobre 105 pacientes con diagnóstico positivo

Gene	# affected patients	% over 105 samples
DMD	6	5,7
CAPN3	7	6,7
DYSF	50	47,6
ACTA1	1	1,0
MTM1	2	1,9
SMA	2	1,9
ANOS	2	1,9
DES	4	3,8
RYR1	4	3,8
FKRP	1	1,0
TTN	4	3,8
COL6	5	4,8
GAA	3	2,9
SCGA	2	1,9
PYGM	2	1,9
VCP	1	1,0
LMNA	4	3,8
TMP3	1	1,0
EDMD	1	1,0
DOK7	3	2,9
	105	100,0



LATAM NGS Pilot Study Overview

Criterio de Inclusión: pacientes con diagnóstico clínico de debilidad de cinturas en 6 países latinoamericanos



Summary LATAM NGS Pilot Study Results

2016

LATAM Pilot



6 Countries

Results

- 2103 Patients
- 335 positive (16%)
 - 9 Pompe (2,7%)
 - 326 LGMDs
 - 126 LGMD2B (37,6%)
 - 83 LGMD2A (24,8%)
 - 34 LGMD2D (10,15%)
 - 25 LGMD2I (7,5%)
 - 20 LGMD2L (5,9%)
 - 15 LGMD2G (4,5%)
 - 10 LGMD2C (2,9%)
 - 10 LGMD2E (2,9%)
 - 03 LGMD2F (0,9%)

2103 INDIVIDUALS ENROLLED



INDIVIDUALS WITH VARIANTS



909 (43%)

CONFIRMED DIAGNOSIS

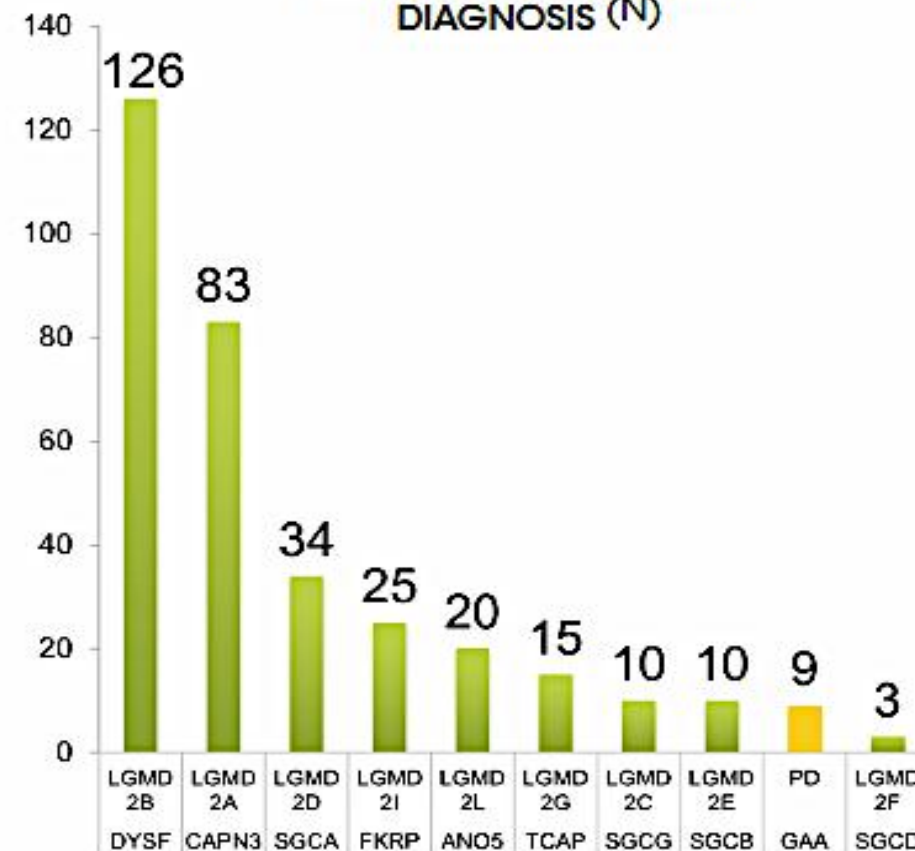


335 (16%)



9 (2.7 %)

CONFIRMED MOLECULAR DIAGNOSIS (N)



LATAM NGS Pilot Study Conclusion

Next-gene sequencing is an effective strategy for improving the diagnosis of patients with limb girdle muscle weakness

- Identified mutations in 43% of 2103 tested individuals
- 16% individuals received a definitive molecular diagnosis
- 27% individuals with no molecular diagnosis had:
 - Either one heterozygous mutation only
 - Two or more heterozygous mutation in unrelated genes
 - Or two heterozygous and/or one homozygous mutation found to be a variant of unknown significance

Inclusion of GAA improved the overall diagnosis

- 3rd most frequent identified variant (9.8%)
- 9 patients (2,7%) confirmed with Pompe Disease across Latin America

Frequency of the genes variants in Latin America similar to other geographic regions⁽⁴⁻¹²⁾

(4) Martiniuk et al. *Am J Med Genet* 1998;79:69–72; (5) Aulsebrook et al. *Eur J Hum Genet* 1999;7:713–6; (6) Hopkins et al. *J Pediatr* 2015;166:172–7; (7) Liao et al. *Clin Chim Acta*. 2014;431:80–6; (8) Mechtler et al. *Lancet* 2012;379:335–41; (9) Gutiérrez-Rivas et al. *Neuromus Disor* 25, 2015:548–553; (10) Savaresse et al. *Neurology* 2016;87:71-6; (11) Preisler et al. *Molecular Genetics and Metabolism* 110, 2013:287–289; (12) Lukacs et al. *Neurology* 2016;87:295–298

Comentarios

Registros y bases de datos indispensables para:

- Definir la epidemiología nacional, regional (LATAM)
- Asesoría genética adecuada (pacientes, administradores, médicos, etc.)
- Incorporación de pacientes a ensayos terapéuticos
- Indicar nuevas terapias
- Definir políticas sanitarias, cálculo de costos, etc.

Bases de datos ENM en Chile

- Datos parciales en bases privadas, grupos de trabajo, etc.
 - *Ej. 160 pacientes AME, Dra. Castiglioni, Clinica Las Condes*
- Necesidad de confirmación genética de diagnósticos clínicos, “rumores”
- Sin registros para enfermedades de alta prevalencia:
 - Distrofia Miotónica 1 y 2
 - Distrofia Facioescápulohumeral
 - Síndrome de Charcot-Marie-Tooth
 - Esclerosis Lateral Amiotrófica



Programa
FONDECYT
CONICYT



FACULTAD DE
MEDICINA
UNIVERSIDAD DE CHILE



Institut de Myologie



HOSPITAL DE LA
SANTA CREU I
SANT PAU
UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA

UCDAVIS
HEALTH SYSTEM



Reconocimientos

Dr. Patricio González; Prof. Dra. Lilian Jara S.
Programa de Genética Humana, ICBM,
Santiago Chile

Dr. Andoni Urtizberea, Dra. Norma B. Romero
Institut de Myologie, Paris, Francia

Dra. Lidia González-Quereda, Dra. Pia Gallano
Servicio De Genética, Hospital de Sant Pau
Barcelona, España

Dr. Ricardo Maselli
Universidad de California, Davis, USA

Dr. David Gómez-Andrés
Neurología Pediátrica, Hospital Universitario de Vall d'Hebron,
Barcelona, España

Dr. Martin Krahn, Dr. Mathieu Cerino, Dr. Marc Bartoli, Prof. Dr. Nicolas Levy
Myologie Translationelle, Aix Marseille Université, INSERM, Marseille, France

Ms. Alejandra Tranguiao, Prof. Dr. Pablo Caviedes
Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM,
Santiago, Chile

Dra. Claudia Castiglioni
Unidad de Neuropediatría,
Clínica Las Condes, Santiago, Chile

Dra. Nadia Daba, Dr. Roberto Araujo
Sanofi- Genzyme

Dr. Enrico Bertini
Ospedale Bambino Gesù, Roma, Italia



Assistance Publique
Hôpitaux de Marseille



Jorge A. Bevilacqua, MD, PhD

Unidad Neuromuscular
Departamento de Neurología y Neurocirugía
Hospital Clínico Universidad de Chile
Facultad de Medicina, Universidad de Chile

Departamento de Anatomía y Medicina Legal
Facultad de Medicina, Universidad de Chile

jbevilac@med.uchile.cl



Laboratorio de Miología
Unidad de Patología Neuromuscular
Departamento de Neurología y Neurocirugía,
Clínica Dávila. Santiago, Chile

jbevilacqua@davila.cl

