

The logo for CIBERER, featuring the word "ciberer" in a stylized green font with three dots above the 'i'.

Centro de Investigación Biomédica en Red
de Enfermedades Raras



El Síndrome de Usher: Diagnóstico Molecular de una Enfermedad Genéticamente Heterogénea y la Importancia del Estudio Poblacional

José M. Millán

Unidad de Genética, Hospital La Fe. Valencia

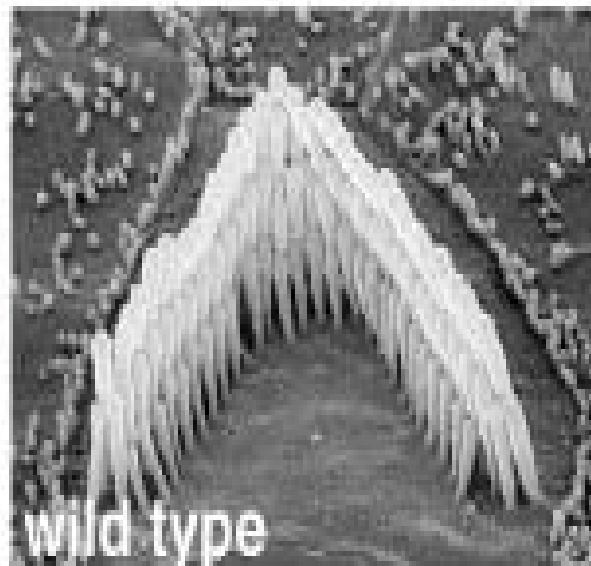
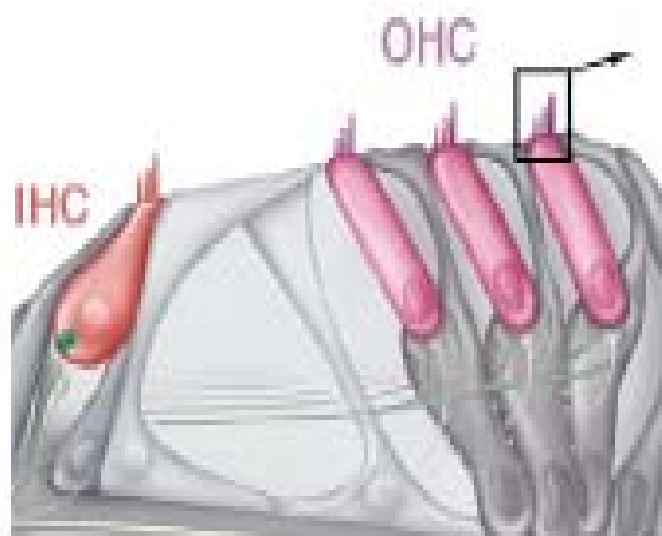
CIBER de Enfermedades raras (CIBERER)

Síndrome de Usher-Definición

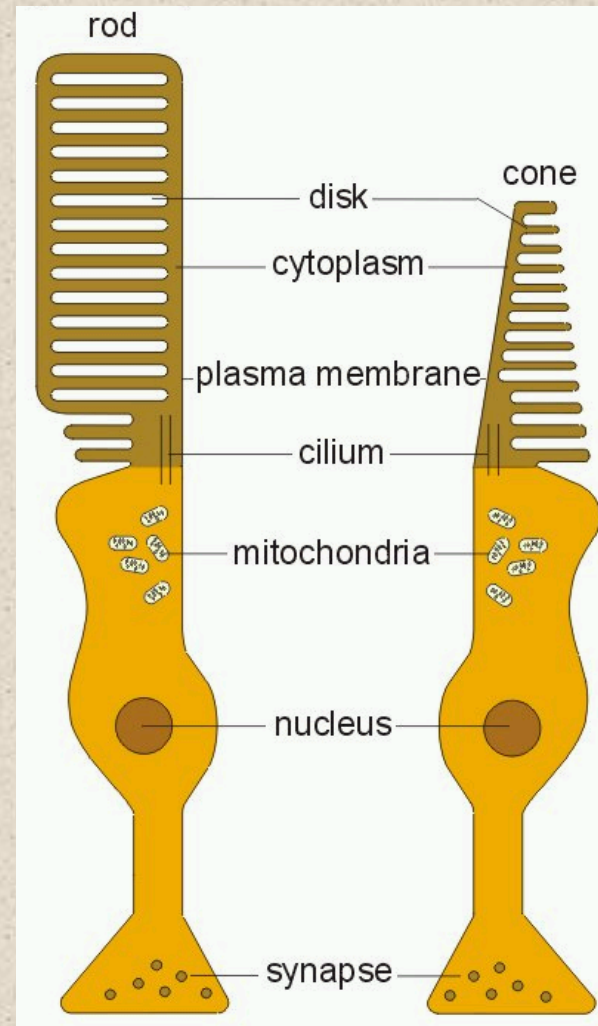
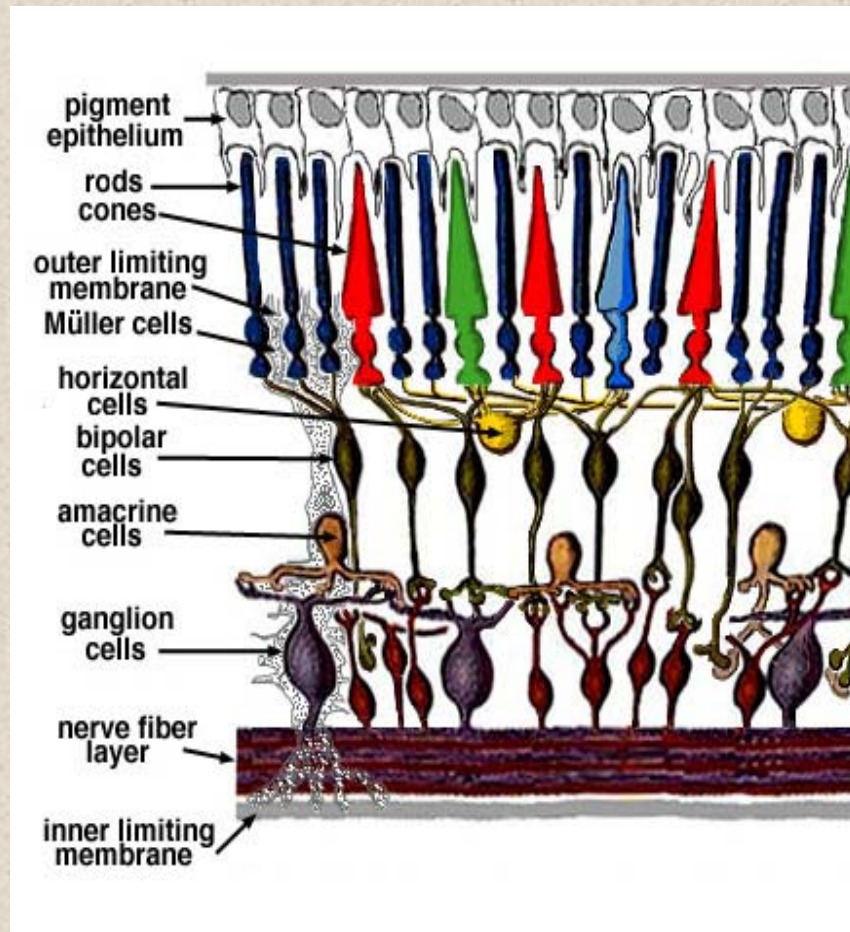
- El síndrome de Usher (USH) es una enfermedad caracterizada por la asociación de retinosis pigmentaria (RP), hipoacusia neurosensorial y, en ocasiones, afectación de la función vestibular.
- Su tipo de herencia es autosómico recesiva
- Es clínica y genéticamente heterogéneo
- Su prevalencia en España se estimó en 4,2/100.000



Síndrome de Usher- Hipoacusia



Síndrome de Usher- RP



Síndrome de Usher-Clínica

Manifestación clínica	USH1	USH2	USH3
Pérdida auditiva	Profunda a severa Estable	Severa-moderada Estable	Severa-moderada Progresiva
Función vestibular	Alterada	Normal	Variable
Inicio RP	Usualmente prepuberal	Peri o postpuberal	Peripuberal
Lenguaje	No inteligible	Inteligible	Inteligible

Síndrome de Usher-Genética

USH1

USH1B/ DFNB2/ DFNA11	11q13.5	miosina VIIA
vUSH1C/ DFNB18	11p15	harmonina
vUSH1D/ DFNB12	10q	cadherina 23
vUSH1E	21q21	?
vUSH1F/ DFNB23	10	protocadherina15
vUSH1G	17q	SANS

Síndrome de Usher-Genética

USH2

vUSH2A/ RP	1q41	usherina
vUSH2C	5q14.3-q21.3	VLGR1
vUSH2D	9q32	WHRN

USH3

vUSH3	3q21-25	clarina-1
-------	---------	-----------

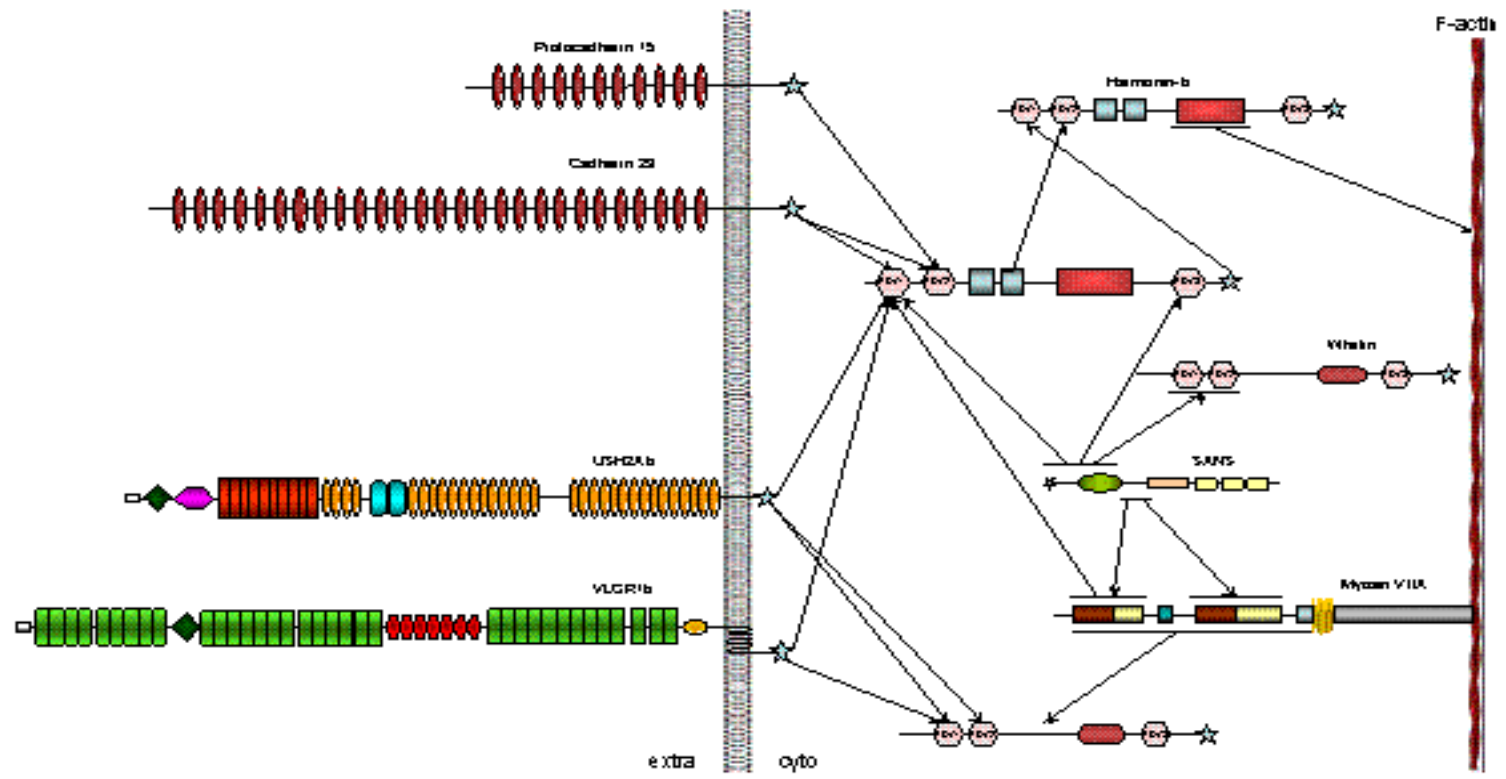
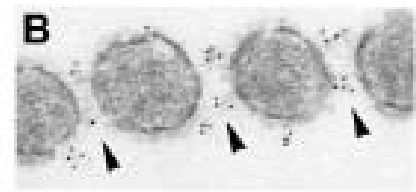
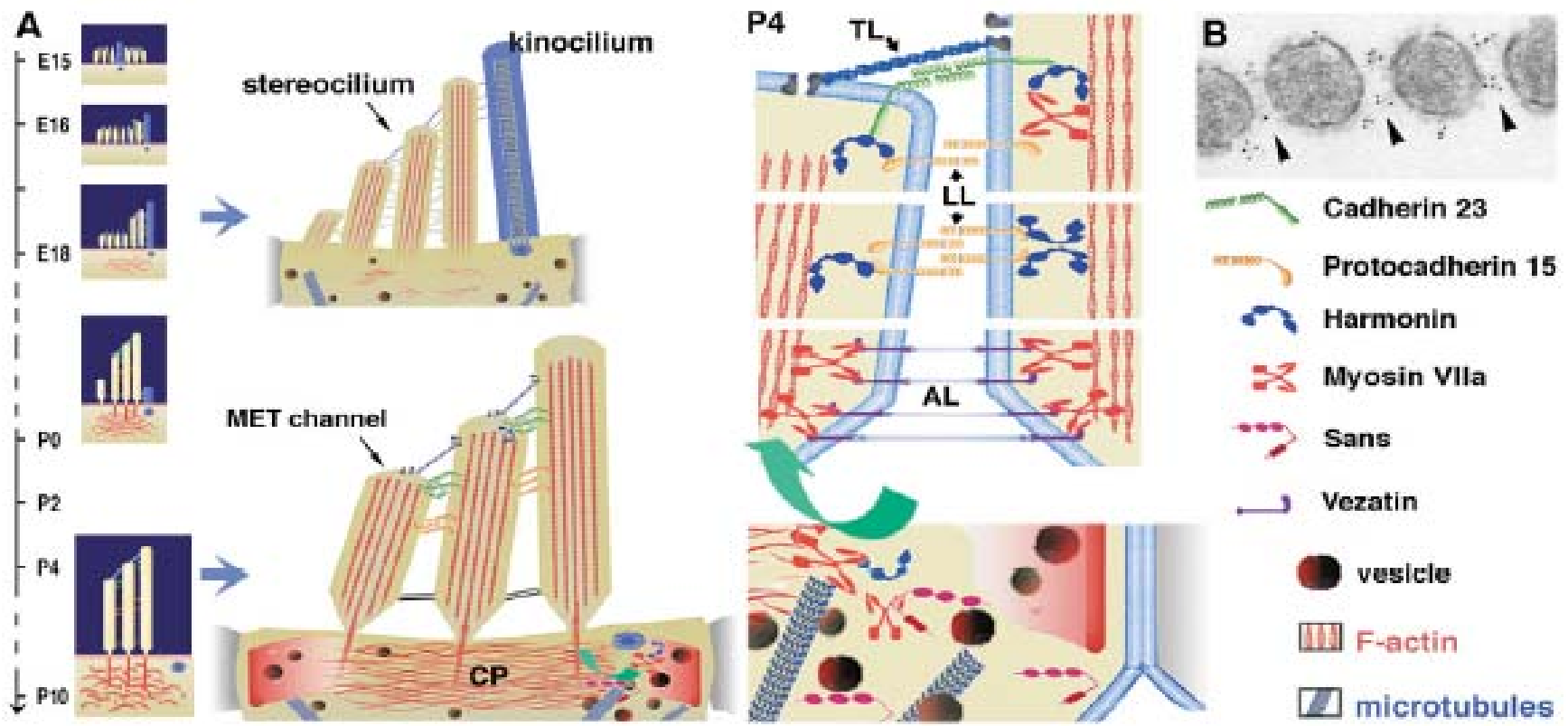


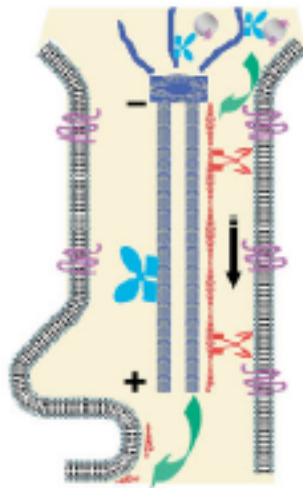
Figure 2.
Schematic diagram illustrating the deciphered interactions within the USH-protein network-interactome.

INTERACTOMA-USHER

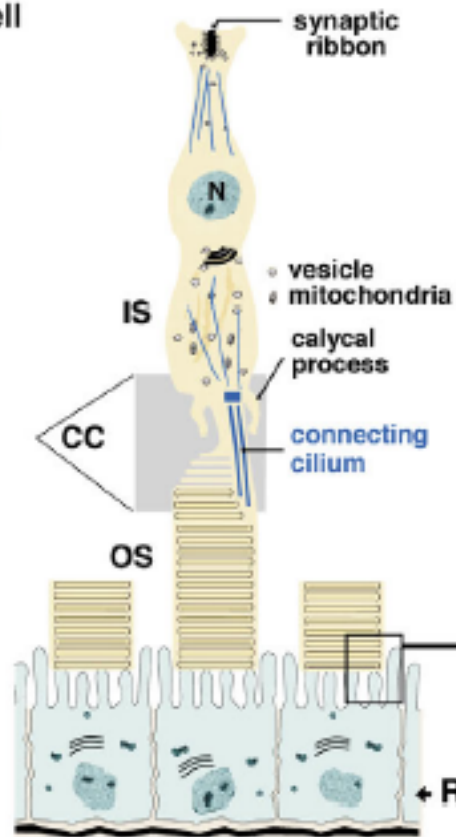


- Cadherin 23
- Protocadherin 15
- Harmonin
- Myosin VIIa
- Sans
- Vezatin
- vesicle
- F-actin
- microtubules

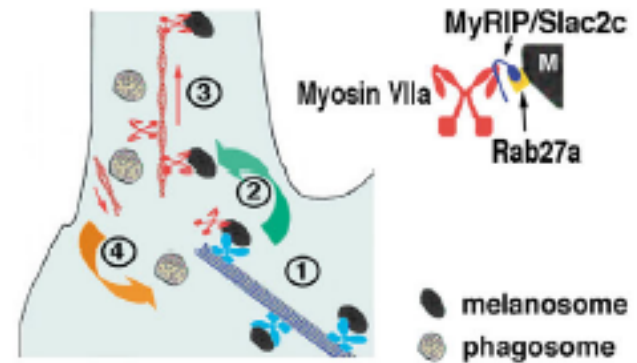
A Photoreceptor cell



- vesicle
- ▨ F-actin
- ▨ microtubules
- ⌘ Myosin VIIa
- ⌘ Rhodopsin
- ⌘ kinesin/dynein motor

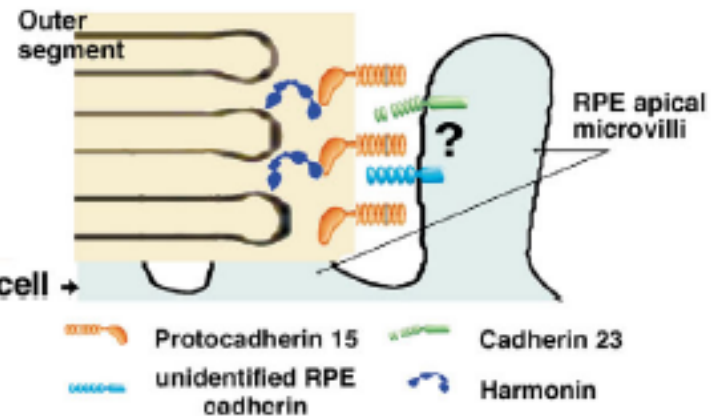


B RPE cell



- melanosome
- phagosome

C Photoreceptor - RPE cell interface



- ▨ Protocadherin 15
- ▨ unidentified RPE cadherin
- ▨ Cadherin 23
- ▨ Harmonin

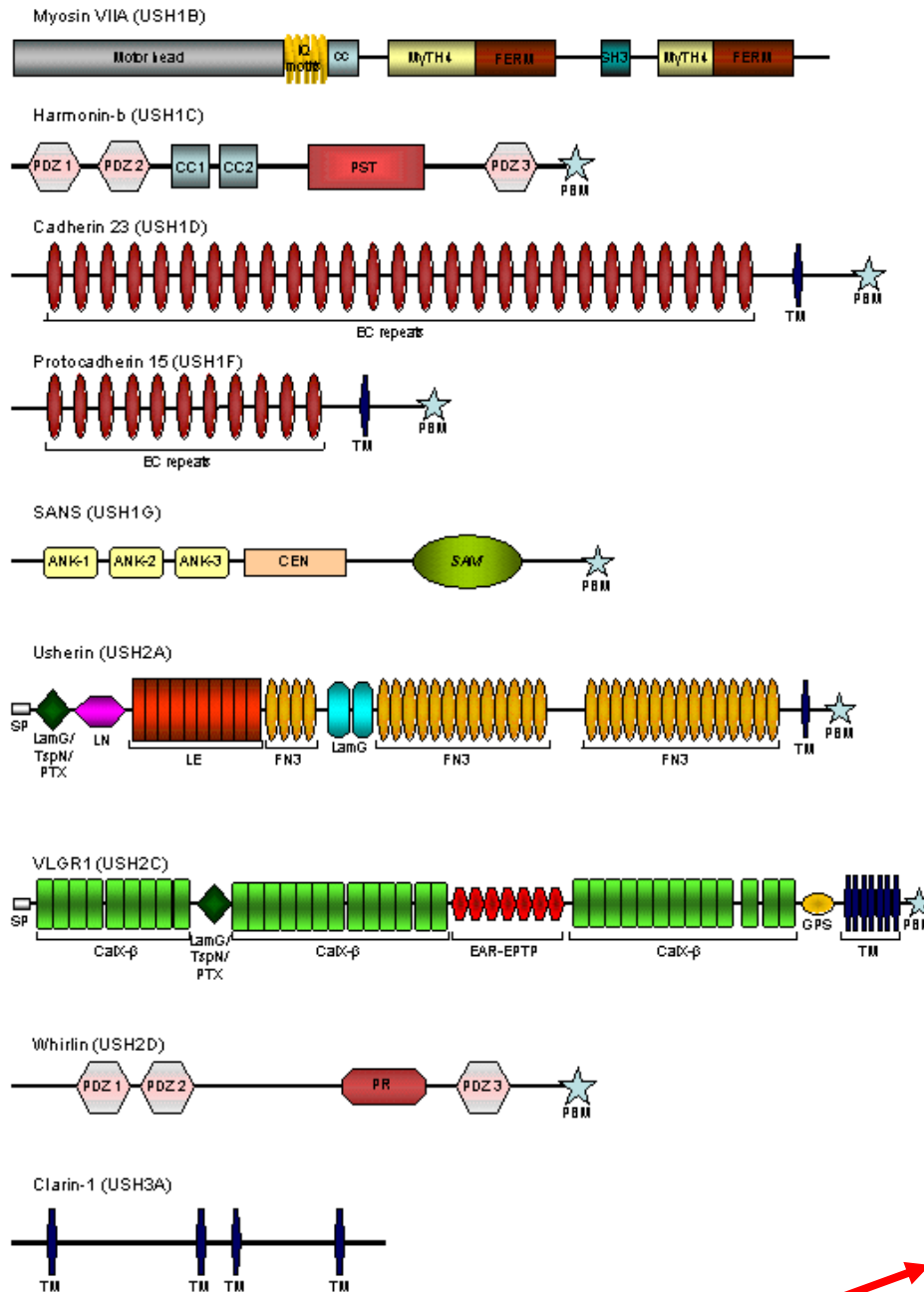
Diagnóstico Genético. ¿Para qué?

- En todos los pacientes
 - Confirmación diagnóstico clínico, asesoramiento adecuado, ¿futuras terapias génicas?
- En niños con sordera neurosensorial congénita
 - Estrategias rehabilitadoras no dependientes de la visión



Diagnóstico del Individuo. Dificultades

- Genes muy grandes
- No hay características clínicas distintivas entre los genes
- Las mutaciones son, en general específicas de cada familia
- Heterogeneidad genética de nuestra población



49 exones, 6645 pb

26 exones, 1656 pb

69 exones, 10062 pb

33 exones, 5865 pb

3 exones, 1380 pb

TOTAL 25,608 Kb

73 exones, 15606 pb

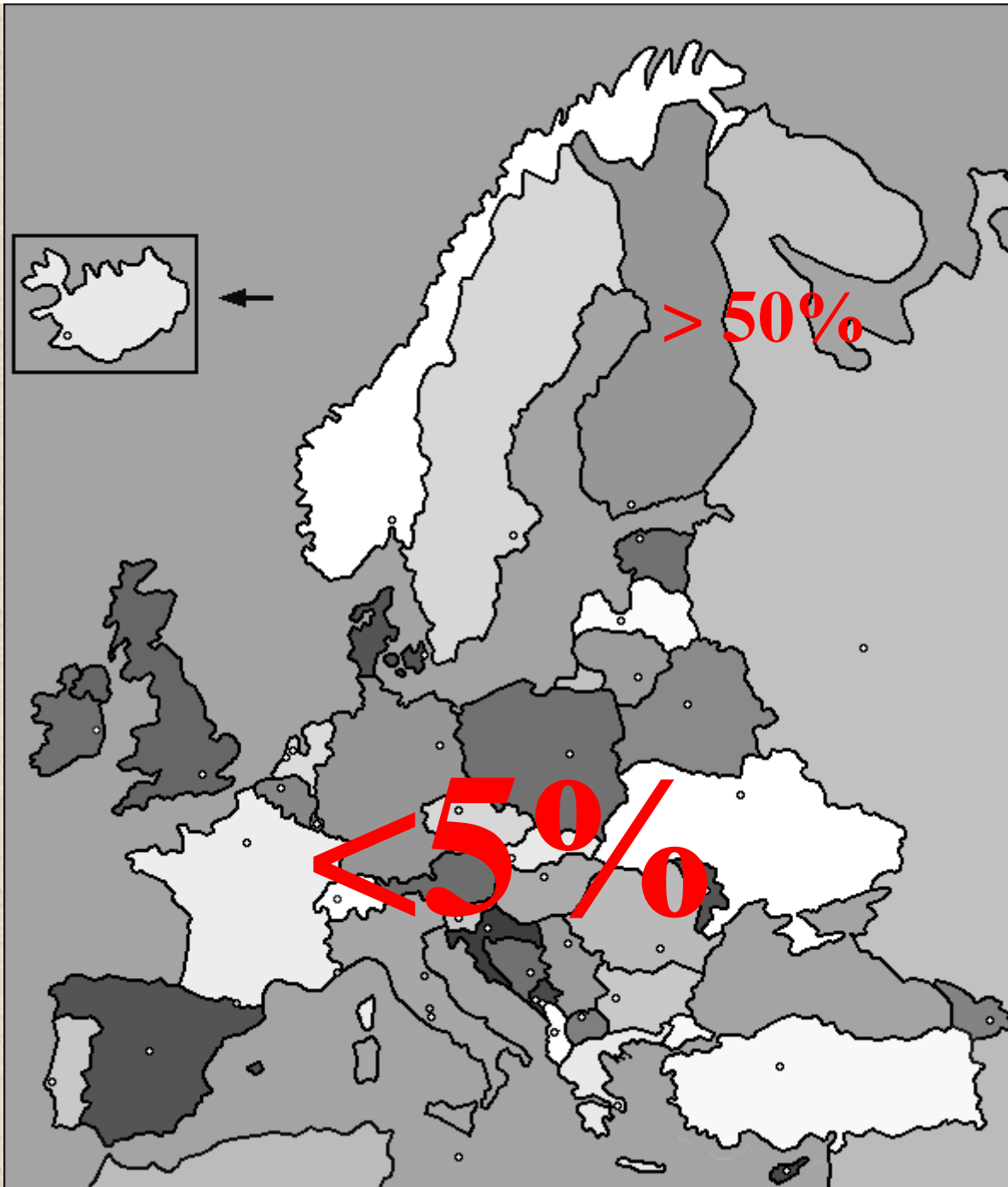
94 exones, 18921 pb

12 exones, 2721 pb

TOTAL 37,248 Kb

4 exones, 696 pb





USH3

Superior al 50%

en Finlandia (Y176X)

en p. Ashkenazi (N48K)

Inferior al 5% en el resto
de poblaciones

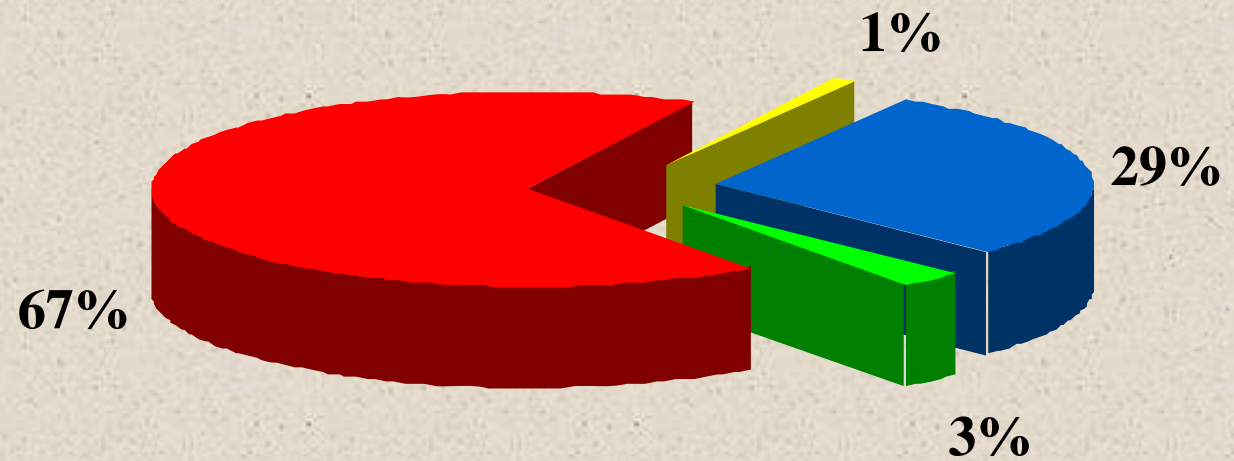
El diagnóstico molecular es más sencillo en individuos pertenecientes a poblaciones endogámicas

- A veces hay excepciones
 - Deleción SMN1 (Atrofia Muscular Espinal)
 - G380R en FGFR3 (acrodrolplasia)
 - 35delG en GJB2 (hipoacusias)

Es necesario conocer la estructura poblacional de la enfermedad para desarrollar un algoritmo óptimo de diagnóstico molecular de la misma

Clasificación clínica

- Usher tipo I
- Usher tipo II
- Usher tipo III
- Usher Atípico



Similar en Europa, EUA,
Colombia, Japón

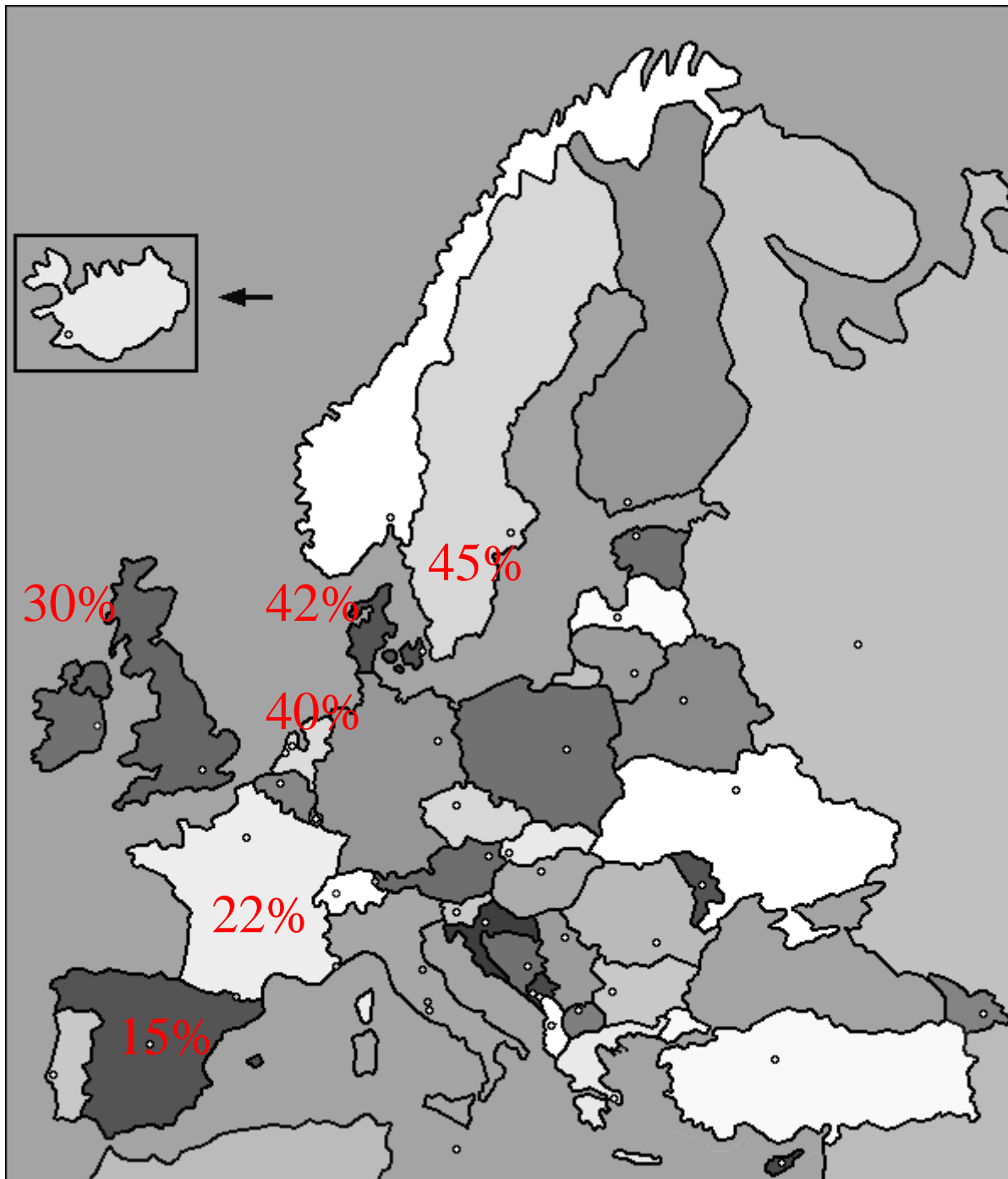
Clasificación Genética

USH1

- MYO7A: 45%
- CDH23: 20%
- PCDH15: 15%
- USH3A: 2%
- SANS: Ø
- USH1C: ¿?

USH2

- USH2A: 85%
estimado (mutación
en 50%)
- VLGR1: ¿?
- WHRN: Ø



USH2A

2299delG (23,3%)

C759F (3,75%)

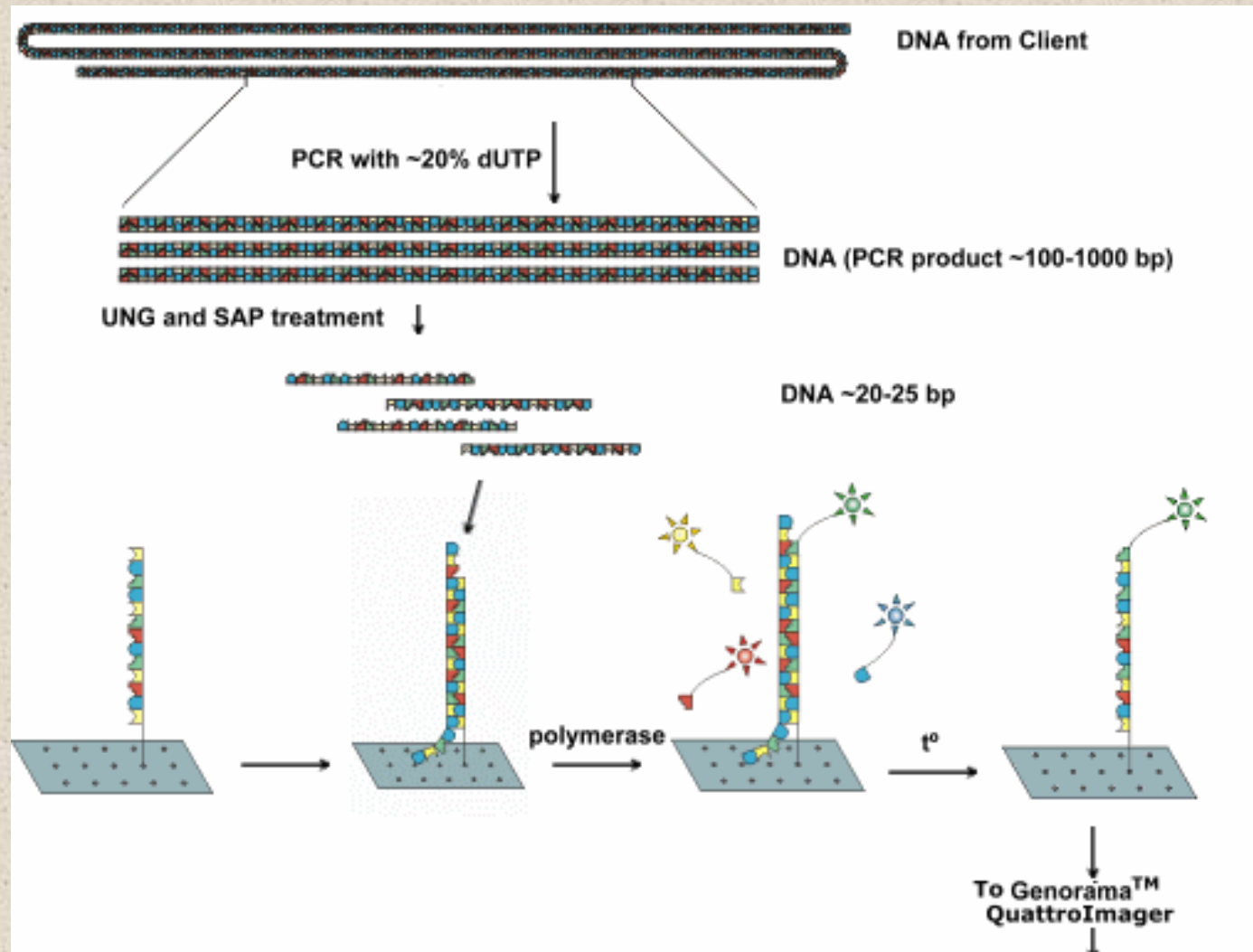
2431_2432delAA
(4,5%)

W3955X (17%-30%)

No en nuestra población

Herramientas Diagnósticas: DNA-Microchips

Tecnología APEX Arrayed Primer Extension



Microchip-Usher

- 430 mutaciones en 8 de los 9 genes identificados (V4.0)
- 57 de las 430 mutaciones fueron encontradas en población española (13,25%)
- La incorporación de mutaciones “propias” debería aumentar la eficacia del chip en nuestra población
- Ha permitido detectar dos mutaciones especialmente frecuentes en CDH23 (6049+1G>A y 6050-9G>A)
- Eficacia esperada: 50-60%/ Eficacia real: 37%
USH1; 25% USH2; 30% USH3

Ventajas e Inconvenientes

- Detección de muchas mutaciones con coste bajo en tiempo y esfuerzo técnico
- La incorporación de “nuestras mutaciones” aumenta la eficacia en nuestra población
- Sólo detecta mutaciones previamente encontradas
- Necesita actualizaciones
- Necesita estudio poblacional para determinar la patología del cambio

Carácter patológico de un cambio

- Mutaciones *nonsense*
- Mutaciones de cambio de aminoácido o que afectan al procesamiento del intrón
 - Naturaleza del cambio
 - Segregación con la enfermedad si es posible
 - Presencia en tu población
 - Mutación patológica
 - Polimorfismo no patológico
 - Variante rara de difícil catalogación

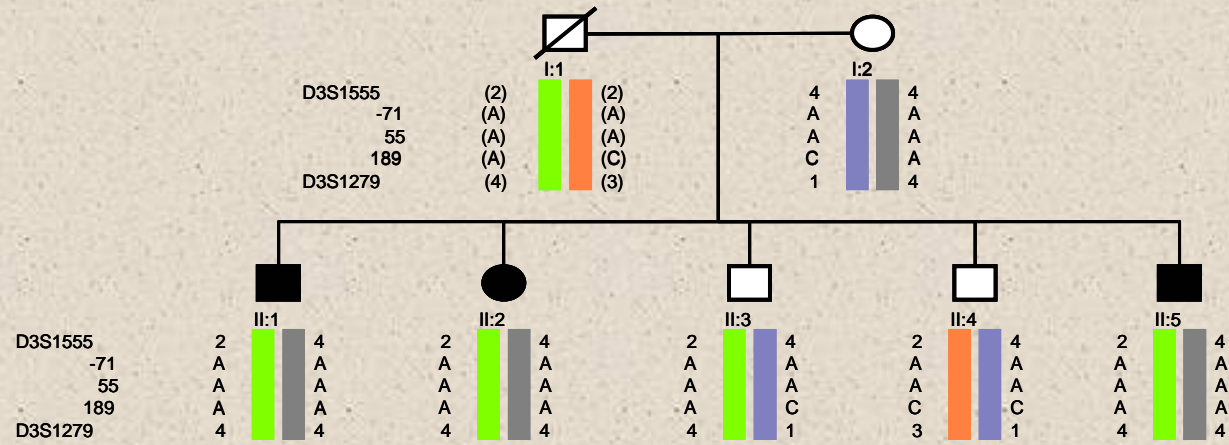
Nuevos Horizontes

- Mutación R3X en gen PCDH15 (exclusiva de población pakistaní??) [hipoacusia, CMT]
- Mutación c.2283-1G>T en el gen MYO7A (frecuente en el Magreb??)
- T80fs en el gen USH2A (frecuente en población sefardí)

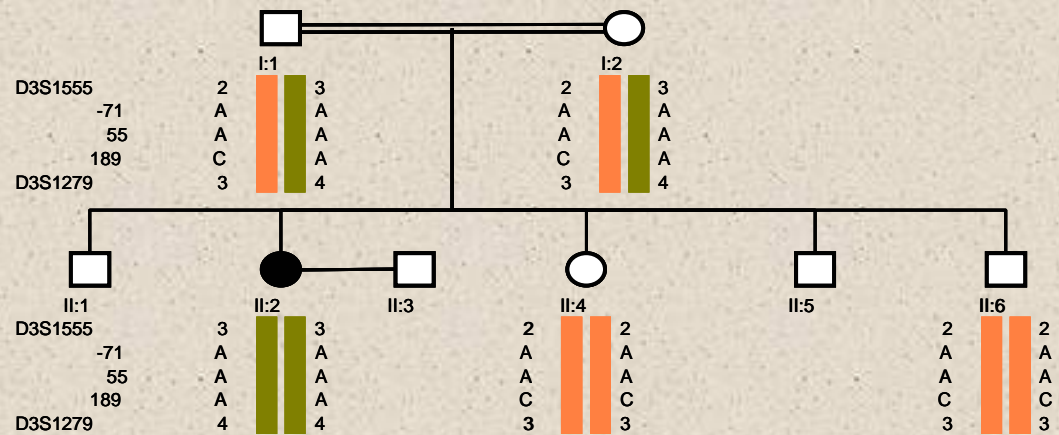
Herramientas Diagnósticas-2: Microchip de genotipado mediante SNPs

- Selección de SNPs informativos
- Intragénicos (preferible) o muy ligados a los genes que se pretenden valorar
- Análisis rápido de muchos SNPs pertenecientes a muchos loci al mismo tiempo

FRP26



FRP44



Herramientas Diagnósticas-2: Microchip de genotipado mediante SNPs

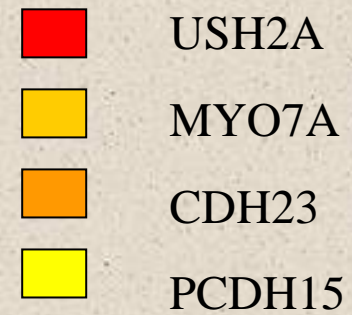
- No rastrea mutaciones
- Permite descartar un cierto número de los genes implicados para cada familia
- Es útil para familias grandes con varios afectados y sanos y en casos consanguíneos
- No es útil en casos aislados
- Requiere el análisis posterior de los genes no descartados

Herramientas diagnósticas-3:

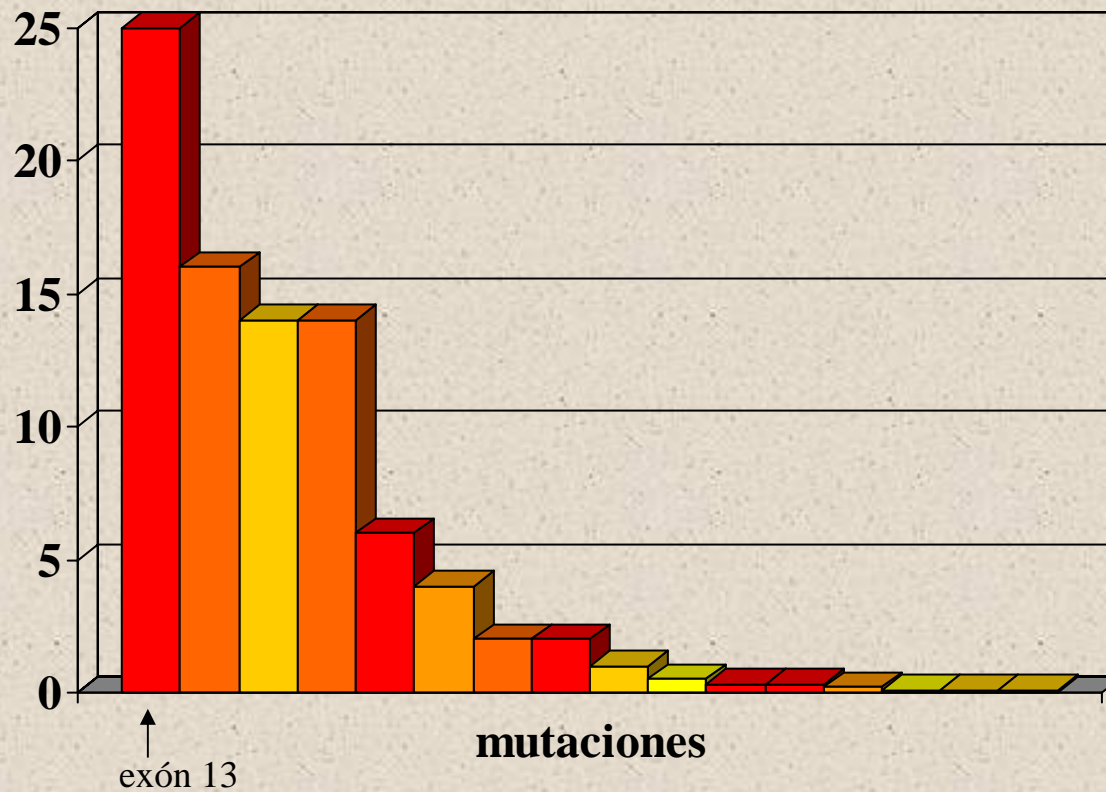
(MDPD: Mutation detection probability distribution)

- Se basa en el análisis de los amplicones de todos los genes implicados en una enfermedad en función de la probabilidad de que tengan una mutación.
- Requiere un conocimiento previo de los amplicones más mutados en una población (LSDB: Locus Specific DataBase)

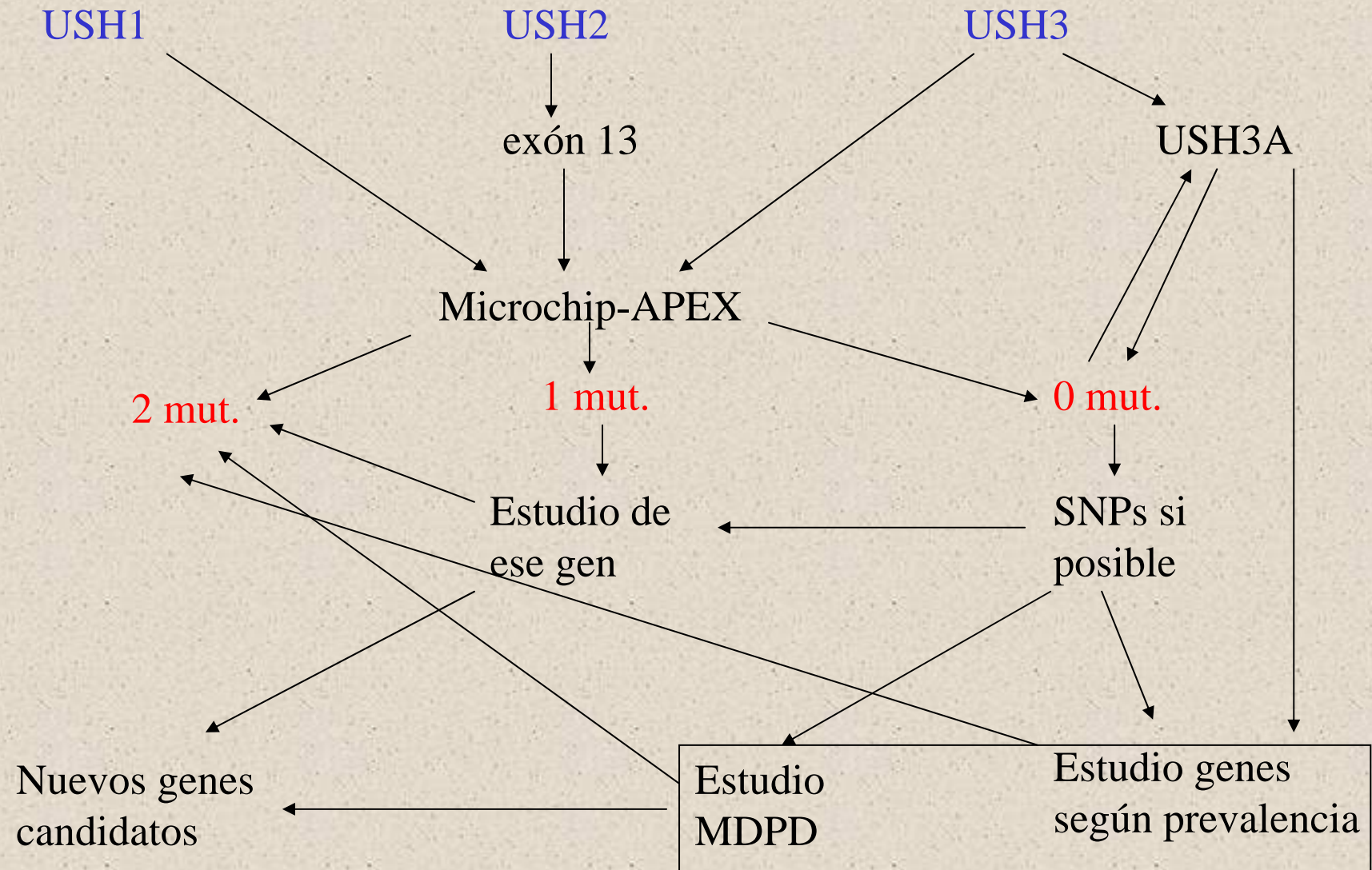
MDPD



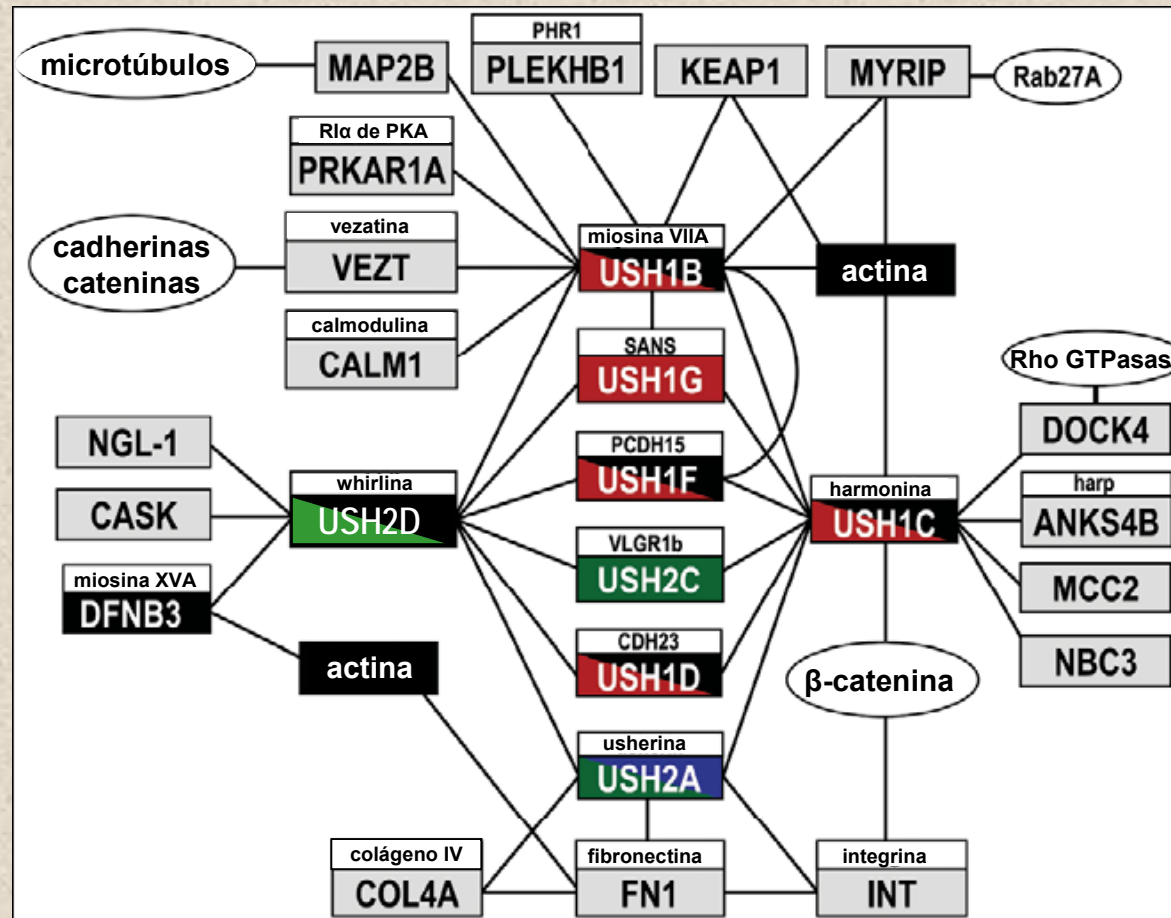
...



Algoritmo para el estudio del síndrome de Usher



El interactoma se expande...



GRACIAS POR SU ATENCIÓN