DESARROLLO COMPLETO DE ESTRATEGIAS DE DIAGNÓSTICO COSTE/EFICIENTES PARA LA POLIQUISTOSIS RENAL EN BASE AL ÍNDICE DE MUTAGÉNESIS POBLACIONAL O NECESIDADES ESPECÍFICAS

Besada Cerecedo M. L.[1]; Sobrino B.[2]; Amigo Lechuga J.[2]; Regueiro Casuso P.[1]; Barcia de La Iglesia A. M.[1]; Durán M.[3]; Vázquez C.[3]; Carracedo A.[2]; Díaz Rodríguez C.[3]; García-González M. A.[1]

Instituto de Investigación Sanitaria (IDIS) de Santiago de Compostela[1]; Fundación Pública Galega de Medicina Xenómica[2]; Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela (CHUS)[3]

Introducción: La poliquistosis renal (PKD) se clasifica en tres grupos: Autosómica Dominante (PQRAD), con mutaciones en los genes PKD1 y PKD2, Autosómica Recesiva (PQRAR), mutaciones PKHD1, y sus formas atípicas. Nuestro grupo ha sido pionero en el desarrollo de estrategias genéticas para el diagnóstico genético de la poliquistosis. Dichas estrategias se han basado en métodos tradicionales de secuenciación del ADN (SANGER, Athena Diagnostics, Inc USA) y, recientemente, en métodos modernos de Secuenciación Masiva de Nueva Generación (NGS) diseñados en base a incidencia poblacional de los genes más mutados: [1] panel con los 8 genes mutados más comunes en la población (Test de Ciliopatías Comunes), y [2] panel con los 72 genes asociados a Poliquistosis Renal rara y ultra-rara (Test de Ciliopatías Poco Comunes). La utilización de técnicas NGS en genes con pseudogenes como PKD1 (6 pseudogenes conocidos de alta homología, 98%, con PKD1), está altamente desaconsejada debido a las altas tasas de falsos positivos y falsos negativos.

Material y métodos: Para solventar este problema, nuestro grupo ha desarrollado dos estrategias considerando: a) Las regiones génicas con mayor índice mutagénico (incluye exclusivamente, la región replicada de PKD1, exones 1-34), b) región completa de los genes PKD1 y PKD2.

Resultados: Aplicamos esta estrategia a una cohorte de 49 pacientes con PKD y variantes génicas conocidas previamente (Casos Control) y obtuvimos una cobertura real óptima del 100%. Las variantes obtenidas tras la secuenciación se filtraron por medio de variant counter (algoritmo informático que desarrollamos para el filtrado de variantes reales y probablemente patogénicas, descartando aquellas que no lo son), y fueron validadas por secuenciación tradicional Sanger. De un total de 237 variantes identificadas, el 82,7% fueron descartadas por variant counter. El 17,3% restante, fueron validadas por Sanger, resultando el 70% verdaderos positivos, con una sensibilidad y especificidad del 100%.

Conclusiones:Actualmente poseemos todas las posibles estrategias genéticas para abordar la secuenciación de las distintas Poliquistosis en base a las necesidades de cada caso, pensadas de manera coste/eficiente: 1) Panel para la región mutagénica responsable de la mayoría de poliquistosis recogidas en la población (85% de las mutaciones quísticas caen en la región que comprende los exones 1-34 del gen PKD1), 2) Panel para las Poliquistosis Autosómicas Dominantes, 3) Panel para las enfermedades poliquisticas más comunes en la población, 4) Panel para enfermedad común, rara y ultrarara para todos los genes quísticos renales conocidos hasta el momento y, por último, 6) Secuenciación SANGER.