



Actualidad y perspectivas futuras en el diagnóstico y tratamiento farmacológico de las enfermedades raras: Impacto de las nuevas tecnologías de secuenciación del DNA 'Next Generation Sequencing'

Alba Rodríguez Rius

Facultad de Farmacia - Universidad Complutense de Madrid

INTRODUCCION

- Las enfermedades raras son aquellas que afectan a menos de 5:10.000 habitantes
- Suponen un conjunto de entre 5.000-8.000 enfermedades, la mayoría crónicas, progresivas, degenerativas y con altas tasas de letalidad, que afectan a un total de 29 millones de personas en Europa.
- El 80% son de origen genético, con lo que su investigación, diagnóstico y tratamiento se puede beneficiar del avance científico que han supuesto las nuevas tecnologías de secuenciación NGS (Next Generation Sequencing).

OBJETIVOS

- Análisis de la situación actual de las enfermedades raras en cuanto a diagnóstico y tratamiento, en el contexto mundial, profundizando en la situación Europea y de España.
- Análisis de las perspectivas futuras del diagnóstico y tratamiento:
 - Describir el impacto que pueden tener las nuevas técnicas de secuenciación NGS
 - Describir los retos y expectativas que se plantean, así como otras herramientas y medidas en desarrollo.

METODOLOGIA

- Revisión, documentación e investigación bibliográfica:
 - Búsqueda y selección de las fuentes principales de información en bibliotecas y servidores online
 - Investigación bibliográfica en las fuentes de información seleccionadas:
 - Sitios web de entidades dedicadas a las enfermedades raras: EURORDIS (Rare Diseases Europe), IRDiRC (International Rare Diseases Research Consortium), Orphanet (Portal for rare diseases and orphan drugs) y CIBERER (Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras)
 - Sitios web de entidades relacionadas con la genética y las NGS: EuroGenTest y NCBI (National Center for Biotechnology Information)
 - Bases de datos bibliográficas accesibles online: PubMed (del NCBI) y ScienceDirect
 - Sitios web institucionales: FDA (Food and Drug Administration), EMA (European Medicines Agency)
 - Selección y estudio de las páginas web, informes y artículos más acordes a los objetivos.
- Análisis y discusión de los resultados. Obtención de conclusiones.
- Redacción del trabajo.
- Organización de la bibliografía: en la memoria del TFG se recogen la totalidad de las citas ordenadas por orden cronológico de aparición en el texto, dónde se cita la referencia numérica. En el póster se muestran solo las referencias más relevantes.

RESULTADOS Y DISCUSION

1. SITUACIÓN ACTUAL

Diagnóstico

- Técnicas: análisis de metabolitos, de función y/o expresión de proteínas, estudios genéticos o pruebas funcionales
- Dificultades: por su baja prevalencia → Falta de financiación, de información científica sobre la enfermedad e inexistencia de protocolos y/o centros de referencia: **Demora diagnóstica**



- Consecuencias sobre la salud del paciente a nivel físico, psicológico y social.
- Importancia fundamental de asociaciones de pacientes y otras entidades sociales (FEDER, GlobalGenes, etc.)

Medicamentos huérfanos

"Aquellos destinados a diagnosticar, prevenir o tratar una afección que ponga en peligro la vida o conlleve una incapacidad crónica y que no afecte a más de 5 personas por cada 10.000 de la Comunidad, o que, aún sin cumplir este criterio epidemiológico, resulte improbable que su comercialización, sin incentivos, genere suficientes beneficios como para justificar la inversión necesaria"

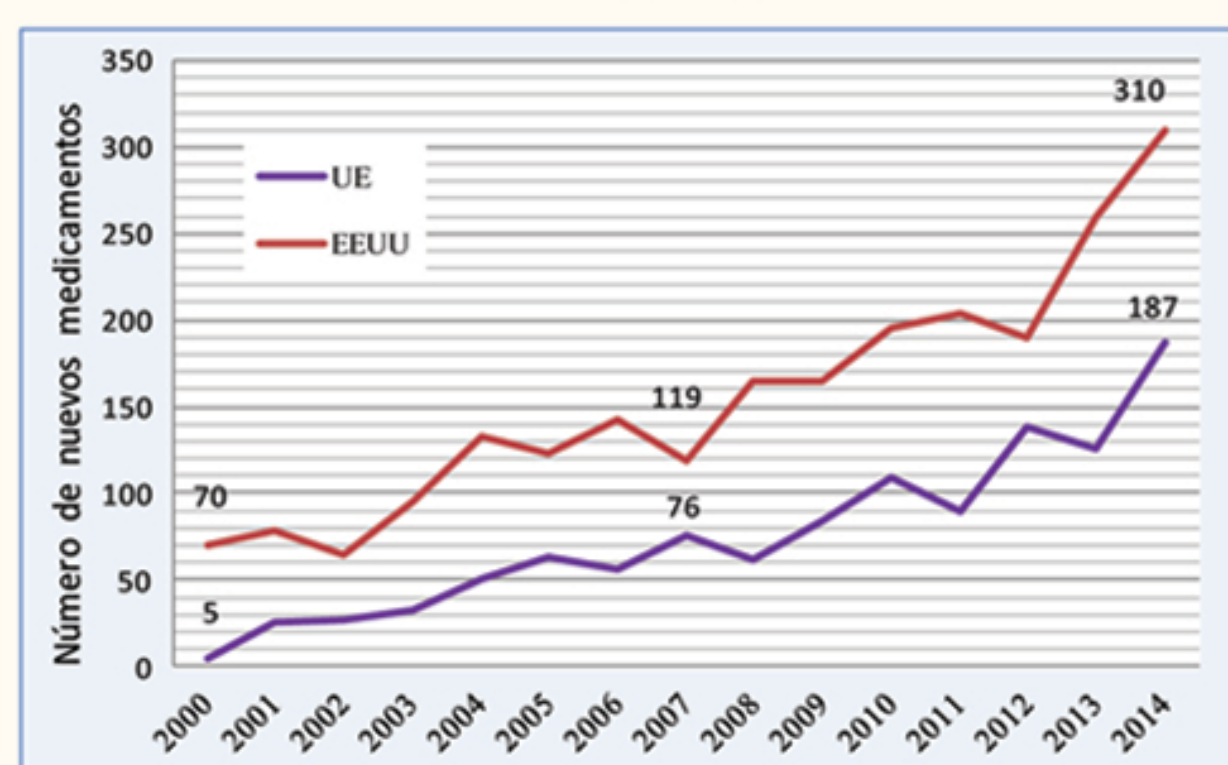


Figura 1 - Número de nuevos medicamentos huérfanos registrados cada año. De estos, 91 tienen autorización de comercialización en Europa, y 156 en EEUU. Datos obtenidos de los registros de EMA y FDA.

- Políticas de estímulo: exclusividad comercial, exención de tasas, subvenciones públicas, sistema acelerado de comercialización, etc.

Tratamiento farmacológico

Medicamentos huérfanos y otros medicamentos (Europa: 101 medicamentos no huérfanos aprobados en Abril 2015).

Grupos de medicamentos según situación administrativa	
Aprobados y comercializados en país origen	
Medicamentos extranjeros	
En fase de investigación	
No aprobados para la indicación en cuestión	

Afecta a:

Facilidad de acceso

Coste económico

17,5% tiene dificultades

9,5% no puede acceder

(España)

27% dice que SNS cubre todos gastos

5% dice que no cubre ningún gasto

- Limitaciones desarrollo nuevas terapias: financiación, limitaciones científicas y diseño ensayos clínicos:

Apenas el 3% de las enfermedades raras tienen algún medicamento disponible

2. PERSPECTIVAS FUTURAS

2.1. IMPACTO DE LAS TÉCNICAS NGS

Nuevas técnicas NGS

	454/Roche	Solexa/Illumina	SOLID/AB
1. Fragmentación DNA y unión a adaptadores	Aislamiento y copia	PCR emulsión	PCR emulsión
2. Aislamiento y amplificación de los fragmentos	Enzima	Polimerasa	Polimerasa
3. Secuenciación de ciclos enzimáticos	Generación imagen	Sulfurilasa y luciferasa	Desoxi-NTs fluorescentes en octámeros
4. Obtención de información de las bases incluidas mediante imagen	Secuenciador	GS FLX+	Hi Seq 4000
	Longitud de lectura	>1000 pb	50 pb
	Tiempo de carrera	23 días	23 días
	Lecturas por carrera	<1 millón	>1 millón
	Secuencia	700 Mb	700 Mb
			40-50 Gb

Figura 2 - Técnicas NGS. Proceso general y características particulares y especificaciones de cada plataforma: 454 de Roche, Solexa de Illumina y SOLiD de Applied Biosystems. Datos obtenidos de las fichas técnicas de cada secuenciador.

- Ventajas: Aumento de magnitud y velocidad de las lecturas, disminución del coste → Mucha información rápida con poca muestra de DNA.

Según el National Human Genome Research Institute, el coste de secuenciación del genoma humano (~3000Mb) se ha reducido de los más de 95 millones de dólares en 2001, a 4.905 dólares en Julio de 2014

- Limitación: interpretación correcta de los datos: desarrollo paralelo de plataformas de bioinformática

Aplicaciones en enfermedades raras

Junto al cáncer, es el grupo de patologías que más se está beneficiando de las NGS

TÉCNICAS:		
En investigación básica	Secuenciación del exoma	Identificar una mutación causante de enfermedad → test diagnósticos y tratamientos
En la práctica clínica	Paneles para la detección de una mutación por re-secuenciación dirigida	Secuenciación de uno o varios genes/regiones para la búsqueda de una o varias mutaciones, ya descritas previamente como causantes de dicha patología → diagnóstico genético Paneles para el diagnóstico de varias patologías

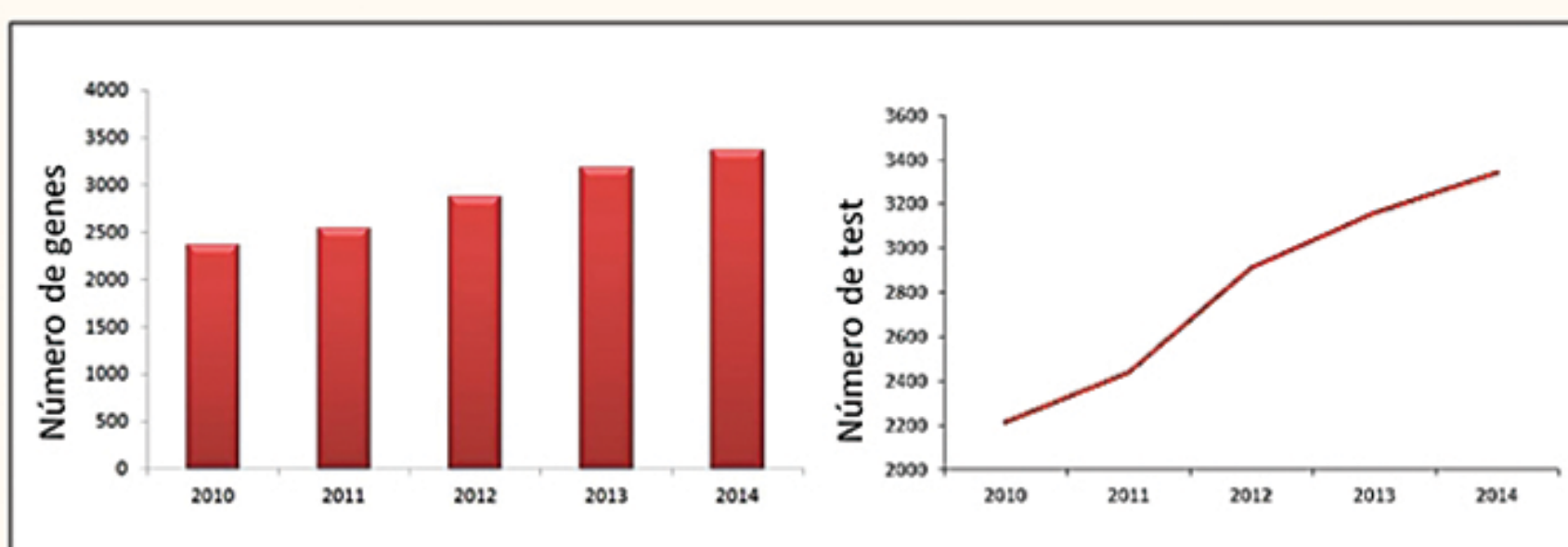


Figura 3 - Evolución en el número de genes relacionados con una enfermedad rara y en el número de test diagnósticos disponibles. Fuente de las gráficas: IRDiRC

- Limitaciones: validación y regulación de test NGS; problemática ética

Proyectos en marcha

- "Genetic Clinic of the Future", de EURORDIS: reunir la opinión de pacientes y expertos sobre cómo aplicar las NGS en la práctica clínica.
- Secuenciación masiva: "UK10K", en Reino Unido, y "Proyecto Genoma Médico" en España.

2.2. RETOS Y HERRAMIENTAS

Expectativas y retos

- Objetivos 2020 del IRDiRC: 6000 test diagnósticos y 200 nuevas terapias.
- Ritmo de desarrollo de nuevas terapias es mucho menor que el de test diagnósticos.

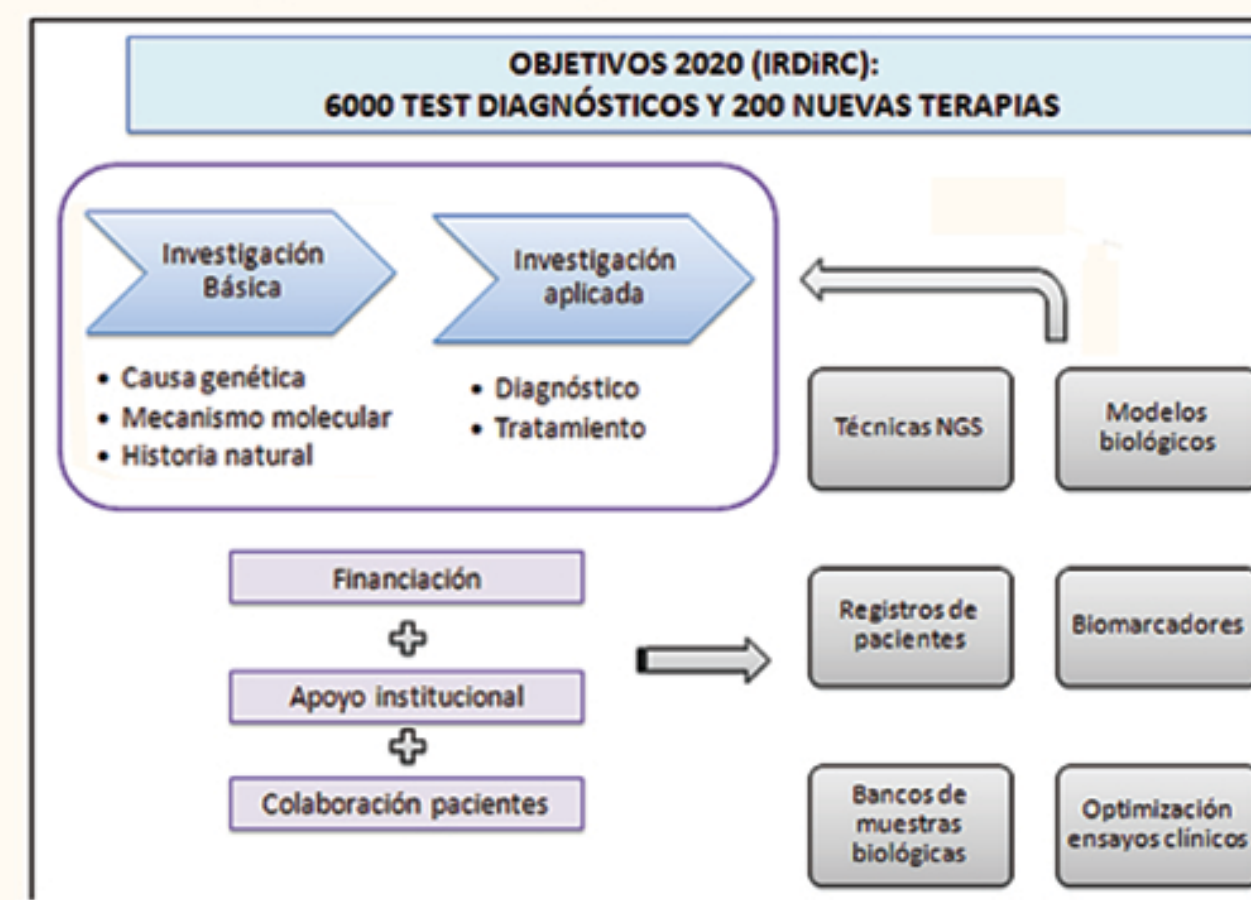


Figura 4 - Objetivos 2020 y herramientas básicas para alcanzarlos. Aspectos básicos necesarios remarcados por el IRDiRC y el Institute Of Medicine of the National Academies (IOM).

Herramientas en desarrollo

- Registros de pacientes: Solo en España existen 46 distintos. Es necesario unificar codificación y facilitar el intercambio de datos
- Bancos de muestras biológicas: EuroBioBank: 130.000 muestras. Promover sostenibilidad, cooperación internacional y facilitar acceso
- Modelos biológicos: International Mouse Phenotype Consortium. Inclusión modelos de enfermedades raras
- Biomarcadores: Característica biológica medible: "predictor". Para que sean útiles deben estar validados y regulados
- Optimización de ensayos clínicos: Diseños alternativos pueden aportar evidencias robustas. Proyecto CRESim: simulador para seleccionar diseño óptimo

CONCLUSIONES

- La situación actual se caracteriza por la demora diagnóstica y la escasez de tratamientos disponibles.
- Las nuevas técnicas NGS han cambiado radicalmente la situación y expectativas de las enfermedades raras. Sus distintos ámbitos y métodos de aplicación son remarcados en prácticamente todas las revisiones y publicaciones sobre estas enfermedades de los últimos 5 años. Las NGS y las diferentes herramientas citadas en este estudio, han supuesto una reducción drástica de las limitaciones técnico-científicas en la investigación, y un aumento exponencial en el número de causas genéticas identificadas, así como de test diagnósticos disponibles.
- Las iniciativas en marcha para seguir impulsando estas herramientas permiten suponer que dicha tendencia se mantendrá en los próximos años y que aumentará el ritmo de desarrollo de nuevas terapias.
- Para que el impacto de las NGS y del resto de herramientas se refleje también en el ámbito clínico-asistencial, será imprescindible la cooperación internacional y el apoyo institucional, permitiendo garantizar tanto el avance en el desarrollo de test diagnósticos y terapias, como el acceso de los pacientes a los mismos.

Bibliografía más relevante

- Boycott KM, Vanston MR, Bulman DE, MacKenzie AE. Rare-disease genetics in the era of next generation sequencing: discovery to translation. Nat Rev Genet. 2013; 14 (10): 681-691
- Committee on Accelerating Rare Diseases Research and Orphan Product Development, Institute of Medicine of the National Academies. Rare Diseases and Orphan Products: Accelerating Research and Development. Washington: The National Academies Press; 2010
- European Organization for Rare Diseases, EURORDIS. The Voice of 12,000 Patients: Experiences and expectations of rare diseases patients on diagnosis and care in Europe. Francia: EURORDIS; febrero 2009.
- Griggs R, Batshaw M, Dunkle M, Gropal-Srivastava R, Kaye E, Krischer J, et al. Clinical research for rare disease: opportunities, challenges, and solutions. Mol Genet Metab. 2009; 96 (1): 20-26.
- International Rare Diseases Research Consortium, IRDiRC. Policies and guidelines, Long Version. Abril 2013
- Xuan J, Yu Y, Qing T, Guo L, Shi L. Next-generation sequencing in the clinic: Promises and challenges. Cancer Lett. 2013; 340: 284-295