



**BITGENIA**

TRANSCENDING  
GENOMICS

## Panel de enfermedades autoinflamatorias

### Caso PMP3-XX

#### Análisis de Panel de Enfermedades Autoinflamatorias por NGS

Institución/Hospital

##### Datos del informe

**Profesional Solicitante:** Dr./Dra. postulante

**Institución o Procedencia:**

**Responsable Bitgenia:** Dr. Marcelo Martí- Lic. Guadalupe Buda

**Resumen clínico:** Paciente de sexo masculino con sospecha diagnóstica de Fiebre Mediterránea Familiar. Presentó episodios de pleuritis y serositis peritoneal, con fiebre desde la niñez y VSG y PCR elevadas y leucocitosis durante las crisis. Posee ascendencia armenia.

**Fecha de Informe:** DD/MM/AA



## Resultados

A partir de la secuenciación del panel de Enfermedades Autoinflamatorias se buscaron, para el análisis y priorización, mutaciones presentes en los genes descritos en el **Anexo 1**.

Se encontraron las siguientes variantes con **importante relevancia clínica**:

POSICIÓN	GEN	CAMBIO DE NUCLEÓTIDO	CAMBIO DE AMINOÁCIDO	EFECTO	GENOTIPO	COB.	INFO EXTERNA	CLASIFICACIÓN CLÍNICA
16:3293447	MEFV	C->G c.2040G>C	p.Met680Ile	Missense	HET	72/136	rs28940580	<b>5</b>
16:3293310	MEFV	A->G c.2177T>C	p.Val726Ala	Missense	HET	96/173	rs28940579	<b>4</b>

**5** Patogénica **4** Probablemente patogénica **3** Variante de significado incierto (VUS)

Se reportan dos variantes de tipo missense en el gen **MEFV** (OMIM: 608107), en el cual la mayoría de las mutaciones missense reportadas fueron clasificadas como patogénicas (**PP2**), ambas en heterocigosis, y con muy baja frecuencia poblacional (**PM2**).

La primera variante NM\_000243.2:c.2040G>A(p.Met680Ile) produce un cambio G>C en la región codificante (ENST00000219596.1) del exón 10, traducándose en la sustitución del residuo Metionina 680 por Isoleucina dentro del dominio conservado B30.2/SPRY de la proteína resultante (**PM1**). La misma resulta ser una variante frecuente en poblaciones armenias y se encuentra reportada (tanto esta variante como la sustitución p.Met680Leu, **PM5**, **PS1**) en las bases de datos Infervers, ClinVar y Uniprot como patogénica, asociadas con Fiebre Mediterránea Familiar (OMIM: 608107, **PP5**).

La segunda variante NM\_000243.2:c.2177T>C(p.Val726Ala) produce un cambio T>C en la región codificante (ENST00000219596.1) del exón 10, traducándose en la sustitución del residuo Valina 726 por Alanina dentro del dominio conservado B30.2/SPRY de la proteína resultante (**PM1**). La misma resulta ser una variante frecuente en poblaciones armenias y se encuentra reportada en las bases de datos Infervers, ClinVar y Uniprot como patogénica,

asociadas con Fiebre Mediterránea Familiar (OMIM: 608107, **PP5**). Recientemente, Mansour et. al, 2019 reportó que, de 1387 pacientes con signos y síntomas de FMF estudiados, la combinación M6801+V726A en heterocigosis compuesta, -la misma reportada en el presente informe-, se observó en el el 11,4% de los casos<sup>12</sup>.

Mutaciones en homocigosis o heterocigosis compuesta en este gen -como las encontradas en el presente caso- se encuentran asociados con el desarrollo de Fiebre Mediterránea Familiar (OMIM: 249100), una condición autoinflamatoria de herencia autosómica recesiva -en la mayoría de los casos- que presenta, entre los síntomas principales, dolor abdominal, fiebre recurrente, artritis, inflamación del peritoneo, pleura o sinovio y dolor de pecho<sup>3</sup>.

El gen MEFV, se encuentra en el cromosoma 16.p13.3, tiene 10 exones y codifica para una proteína de 781 aminoácidos llamada pirina (o marenostrina), que se expresa principalmente en neutrófilos, eosinófilos y monocitos activados por citocinas, modula el procesamiento de IL-1 $\beta$ , la activación de NF- $\kappa$ B y regula la actividad de varias proteínas target involucradas en inmunidad innata y en procesos de autofagia (principalmente de componentes del inflammasoma), apoptosis e inflamación<sup>4</sup>. Asimismo, la pirina recluta y se une a la prolina-serina-treonina fosfatasa 1 (codificada por el gen PSTPIP1) y ambas interactúan con proteínas de actina, involucrándose en el proceso de migración celular.

Se ha reportado que mutaciones de alta penetrancia en el exón 10, que se ubican dentro del dominio B30.2/SPRY -como es el caso de ambas variantes reportadas- producen fenotipos graves en niños, pudiendo presentar eritema similar a la erisipela, esplenomegalia, vasculitis, dolor muscular recurrente aislado y, en algunos casos, osteomielitis multifocal recurrente crónica (CRMO)<sup>56</sup>. Varias formas de artritis se asocian con fiebre mediterránea

<sup>1</sup> Mansour, Amal R et al. "Molecular Patterns of MEFV Gene Mutations in Egyptian Patients with Familial Mediterranean Fever: A Retrospective Cohort Study." *International journal of inflammation* vol. 2019 2578760. 13 Feb. 2019, doi:10.1155/2019/2578760.

<sup>2</sup> Magaki, Shino et al. "A 44-Year-Old Female with Familial Mediterranean Fever, Cardiomyopathy and End Stage Renal Disease." *Brain pathology (Zurich, Switzerland)* vol. 28,1 (2018): 135-136. doi:10.1111/bpa.12581

<sup>3</sup> Cekin et. al. MEFV Mutations and Their Relation to Major Clinical Symptoms of Familial Mediterranean Fever. *Gene* (2017), doi: 10.1016/j.gene.2017.05.013

<sup>4</sup> Chae, et. al, Targeted disruption of pyrin, the FMF protein, causes heightened sensitivity to endotoxin and a defect in macrophage apoptosis. (2003) *Mol. Cell* 11, 591-604.pmid:12667444.

<sup>5</sup> Hakan Babaoglu, Ozkan Varan, Hamit Kucuk, Aynur Turan, Abdurrahman Tufan; Osteitis as a manifestation of familial Mediterranean fever, *Rheumatology*, Volume 56, Issue 11, 1 November 2017, Pages 2035–2036, <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kex294>.

<sup>6</sup> Daia et. al, Chronic recurrent multifocal osteomyelitis in a patient with Familial Mediterranean Fever. *Pediatr Rheumatol Online J.* 2015; 13(Suppl 1): P104. Published online 2015 Sep 28. doi: 10.1186/1546-0096-13-S1-P104.

familiar, incluida la mono/oligoartritis aguda en extremidades inferiores, espondilitis anquilosante, sacroileítis, artritis de la articulación de la cadera y artritis crónica juvenil. Las complicaciones graves que amenazan la vida, como la obstrucción intestinal, la amiloidosis renal y los síntomas infrecuentes resultan, en algunas ocasiones, la única forma de manifestación de la fiebre mediterránea familiar.

De acuerdo con las recomendaciones y guías del ACMG, la primera variante se clasifica como **patogénica** (criterio: 1 PS, 2PM y  $\geq$  2PP), mientras que la segunda como **probablemente patogénica** (criterio: 2 PM y  $\geq$  2PP)<sup>7</sup>.

.....

*Es importante mencionar que además de las variantes mencionadas anteriormente, se analizaron todas aquellas que cumplían los criterios de búsqueda en el panel de genes candidato listados en el Anexo I, y se pudo verificar que NO se encuentran variantes críticas ya sea de alto impacto (stop prematuro, cambios del marco de lectura, etc.) y/o de impacto moderado (cambios no sinónimos) de muy baja (o nula) frecuencia que puedan explicar el fenotipo patológico. Las demás variantes corresponden a polimorfismos, presentan una inconsistencia entre el modelo de enfermedad reportado (AR/AD) y el tipo de variante (Het/Hom), y/o darían lugar a síndromes cuyo fenotipo NO coincide con los datos clínicos provistos por la historia clínica del paciente.*

---

<sup>7</sup> Richards 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 May;17(5):405-24. doi: 10.1038/gim.2015.30. Epub 2015 Mar 5.



Los resultados del presente análisis sugieren que las dos variantes encontradas en el gen **MEFV** deberán ser evaluados en profundidad por el profesional médico responsable del caso, dado que existe sólida evidencia bibliográfica de la asociación entre mutaciones en este gen y la sintomatología presentada por la paciente, aportando evidencia genética que consolida un diagnóstico molecular preciso asociado a la clínica evidenciada y que permitirá implementar una decisión terapéutica adecuada.

Es importante destacar que recientemente, un grupo internacional de expertos ha publicado recomendaciones para la gestión de pacientes con FMF. La colchicina es el pilar del tratamiento de la FMF, y su uso regular previene los ataques y controla la inflamación subclínica en la mayoría de los pacientes. Además, disminuye el riesgo a largo plazo de la amiloidosis. Sin embargo, una minoría de pacientes con FMF no responde o tolera el tratamiento con colchicina. Los fármacos anti-interleucina-1 podrían considerarse en estos pacientes. Aunque la FMF es una EAI relativamente bien descrita y han pasado casi 20 años desde el descubrimiento del gen MEFV, todavía existen varios problemas no resueltos, como el mecanismo exacto de desarrollo de la enfermedad, la existencia heterocigotas sintomáticos y el manejo óptimo de la resistencia a la colchicina<sup>8</sup>.

En base a estos resultados, se sugiere entonces:

i) Profundizar en la correlación fenotípica del paciente y lo reportado en la literatura para las variantes encontradas.

**ii) Validar las variantes reportadas por secuenciación de Sanger y realizar el análisis de segregación familiar de las mismas. Es importante realizar este estudio para validar que cada variante haya sido heredada a partir de un único progenitor (es decir, que ambos padres son portadores sanos).**

iii) Proporcionar asesoramiento genético adecuado.

---

<sup>8</sup> Özen, Seza et al. "Familial Mediterranean Fever: Recent Developments in Pathogenesis and New Recommendations for Management." *Frontiers in immunology* vol. 8 253. 23 Mar. 2017, doi:10.3389/fimmu.2017.00253.

## Anexo I- Estrategia de Priorización de variantes



<b>Panel de Enfermedades Autoinflamatorias<sup>9</sup></b>	ACP5, <b>ACTB</b> , ADAM17 (97%), ADAR, ADGRE2, AGBL3, AP1S3, ARPC1B, CARD14 (97%), CECR1, COPA, DDX58, DNASE2, EGFR, IFIH1, IL10RA, IL10RB, IL1RN, IL36RN, ISG15, LACC1, LPIN2, MEFV, MVK, NCSTN, NLRC4 (98%), NLRP1, NLRP12, NLRP3, NLRP7, NOD2, OSMR, OTULIN (96%), PLCG2, POLA1 (98%), POMP (96%), PSMA3, PSMB4, PSMB8, PSMB9, PSMG2 (97%), PSTPIP1, RBCK1, RELA, RNASEH2A, RNASEH2B, RNASEH2C, RNF31, SAMHD1, SH3BP2, SHARPIN, SLC29A3 (98%), STIM1, TMEM173, TNFAIP3, TNFRSF11A (95%), TNFRSF1A (90%), TRAP1, TREX1, TRNT1 (95%), <b>USP18</b> (90%), WDR1.
--	---

Teniendo en cuenta el diagnóstico clínico y el modelo de enfermedad propuesto (ver documentos de historia clínica) se priorizaron para el análisis aquellas variantes que cumplieran los siguientes criterios:

- I. Se ajustaran a un modelo de herencia en concordancia con la historia familiar.
- II. Estuvieran dentro de los genes relacionados clínicamente con el caso, listados arriba.
- III. Estuvieran reportadas en la base de datos como patogénicas y/o que tuvieran una predicción bioinformática de alto impacto funcional.

<sup>9</sup> Los porcentajes especificados entre paréntesis corresponden a la cobertura real de las regiones codificantes capturadas por el kit Agilent Sure Select V7.

Los **genes resaltados en negrita** poseen algún/os exones que presentan un alto porcentaje de homología (> 90% o, en algunos casos, > 98%) con otras regiones del genoma y/o que incluyen secuencias repetitivas, dificultando el mapeo, llamado de variantes y posterior análisis en las áreas mencionadas.

## Anexo II - Estadística General



Paciente	
Library Prep Kit	Agilent Sure Select V7
Reference	GRCh37
#Variants	94452
#Known variants	93835
dbSNP ratio	0.99
Het/Hom ratio	1.77
Ti/Tv ratio	2.35
Missense/Silent	1.01
Avg.coverage	56
#Genes	17022

## Anexo III - Metodología y Limitaciones.



### Análisis Bioinformático para identificación de las variantes

Para la obtención del siguiente reporte a partir de la muestra de sangre/saliva obtenida se realizó una extracción del material genético -ADN-, luego se procedió a realizar una captura de las regiones que comprenden un EXOMA-HUMANO utilizando el kit SureSelect XT V7 (Agilent) así como las regiones intrónicas flanqueantes. Las regiones fueron secuenciadas con tecnología Illumina (llevada a cabo por la empresa Macrogen). El procedimiento de Mapeo-Alineamiento y llamado de variantes fue realizado mediante el protocolo desarrollado en Bitgenia, basado en las buenas prácticas establecidas por el Broad Institute (Eli and Edythe L. Broad Institute of Harvard and MIT). El análisis del archivo de variantes (VCF) se realizó con el software B-platform.

### Limitaciones

Las variantes no han sido confirmadas mediante un método de análisis independiente y eventualmente podrían representar errores técnicos. Algunos tipos de anomalías genéticas pueden no ser detectables mediante el uso de las distintas tecnologías involucradas en este estudio. Es posible que la región genómica que pudiera contener la/s eventual/es variantes indicadas no hayan sido capturadas o adecuadamente representadas en las secuencias obtenidas y en consecuencia no detectadas en el presente estudio.

Adicionalmente, tanto la existencia de un alto porcentaje de homología (mayor a 90% o, en algunos casos, mayor al 98%) entre secuencias codificantes correspondientes a algun/os de los genes analizados y otras regiones del genoma, como la presencia de secuencias repetitivas constituyen una limitación inherente a cualquier tecnología de secuenciación NGS, dificultando el mapeo, llamado de variantes y el posterior análisis en esas áreas. Más información: <https://www.bitgenia.com/wp-content/uploads/2020/04/cuadro-pseudogenes-B02.pdf>

Por otro lado, es posible que una anomalía genética particular pueda no ser reconocida como la causa del trastorno en estudio debido al conocimiento incompleto de la funcionalidad de todos los genes y regiones genómicas secuenciadas, así como el impacto funcional de cada variante identificada.

**Los resultados informados están destinados exclusivamente a profesionales de la salud cualificados para su interpretación en el contexto de una consulta médica y no proporcionan per-se consejo médico, diagnóstico o tratamiento alguno. Es por esto que los resultados aquí presentados deben ser cuidadosamente interpretados y validados por el Profesional solicitante.**