

Secuenciación por NGS de Exoma

Caso Bainbridge 2011

Human Genome Sequencing Center, Baylor College of Medicine.

Profesional Solicitante	Bainbridge, Matthew, MD
Institución/Sector	Human Genome Sequencing Center, Baylor College of Medicine, Houston, TX 77030, USA
Profesional Bitgenia	Lic. Germán Biagioli

Código de Caso	Bainbridge_2011
Análisis Solicitado	Secuenciación del exoma en Trio Padre-Madre-Probando
Sinopsis del caso	Dos hermanos diagnosticados con distonía responsiva a L-dopa (DRD), que no responden adecuadamente al tratamiento. Padres no consanguíneos sanos.

Tipo de muestras	Sangre periférica
Código muestras	BM01, BM02, BM03
Fecha de Recepción	28/02/2016
Fecha de Informe	06/03/2016

Resultados

Se encontraron las siguientes variantes con potencial relevancia clínica:

Posición	Gen	Cambio de nucleótido	Cambio de aminoácido	Efecto	Cigosis	Cob.	Info Externa
2:73118631	SPR	A/T	p.K251X	Codificante Stop temprano	HET	18/32	rs121917747
2:73115586	SPR	A/G	p.R150G	Codificante No Sinónima	HET	14/26	rs104893665

Se encontraron en el probando dos variantes en heterocigosis compuesta en el gen SPR (Siapterin Reductasa), cada una de las cuáles está presente en heterocigosis en uno de los padres. La primera corresponde a un cambio a nivel genómico de A=>T que resulta en el cambio del codón que codifica para la Lisina 251 por un codón STOP. La segunda comprende un cambio a nivel genómico de A=>G que resulta en un cambio en el aminoácido Arginina 150 por una Glicina. Ambas variantes fueron detectadas con una buena profundidad y han sido confirmadas por el método de sanger en las tres muestras.

No existe en ClinVar u otras bases de datos información sobre la patogenicidad de ambas variantes.

La primer variante es una variante de impacto biológico alto, ya que produce una proteína truncada y para la cual hay evidencia bioquímica de que no es funcional in-vitro.

La Segunda variante comprende un cambio que es predicho como patogénico por todos los predictores utilizados, y que comprende un cambio del aminoácido con mayor tamaño posible y carga positiva, por el de menor tamaño posible en un residuo cercano al sitio activo.

Interpretación Biológica y Clínica

La presencia en el probando de dos variantes de alto impacto biológico en heterocigosis compuesta en el gen SPR, sugieren que el mismo es incapaz de producir una proteína SPR funcional. El hecho de que ambos padres son heterocigotas y por lo tanto poseen un alelo funcional para la SPR es consistente con el modelo de herencia recesivo propuesto.

Como se muestra en la figura 1, la SPR se encuentra río arriba en la vía de síntesis de los neurotransmisores Dopamina y Serotonina, por lo que el probando es incapaz de fabricar ambos. La falta de Dopamina es consistente con los síntomas y el diagnóstico de DRD. La falta de respuesta al tratamiento con L-Dopa se explicaría por la falta de Serotonina. Mutaciones "incapacitantes" en el gen SPR se encuentran asociados a DRD en las bases de datos clínicas (ClinVar, OMIM)

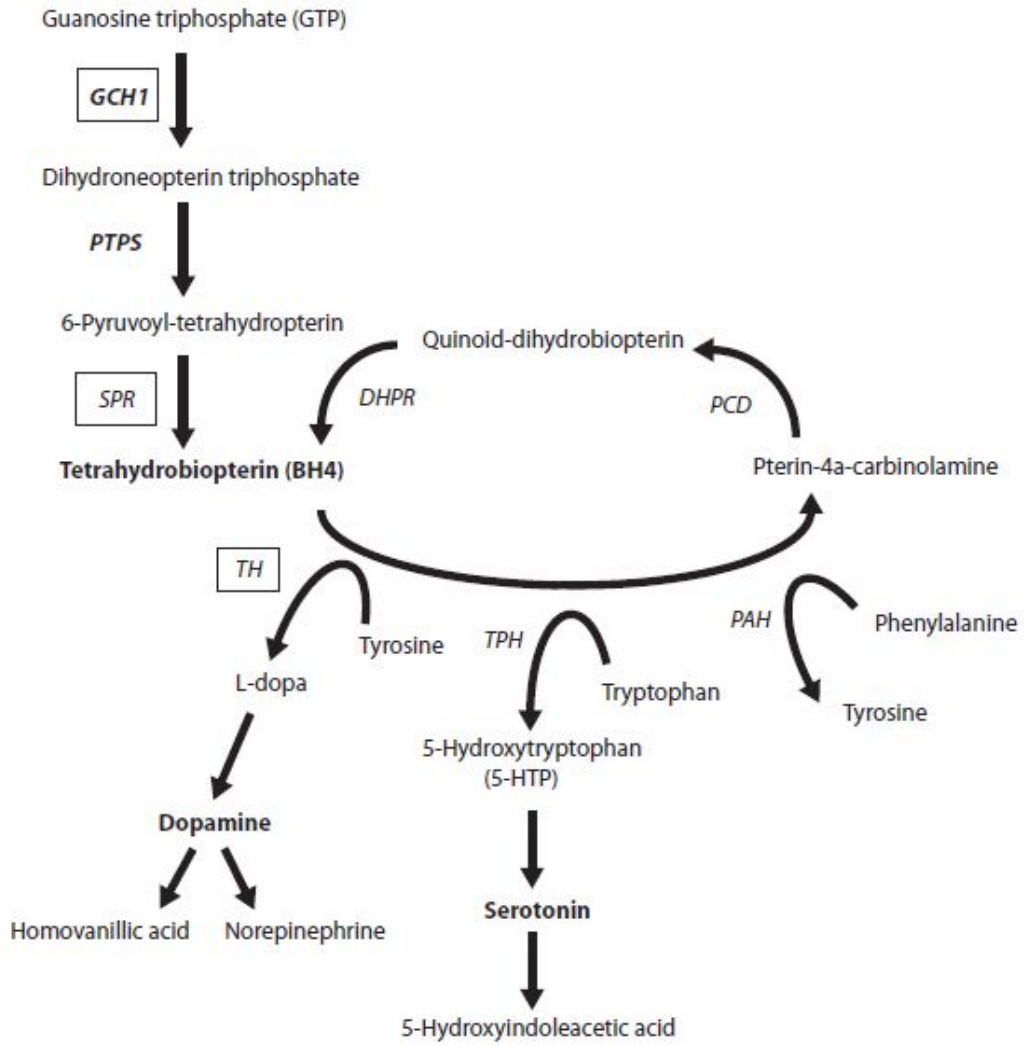


Figura 1: Vía metabólica

Anexo I - Estrategia de Priorización de variantes

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

- I. Se ajustarán a un modelo de herencia recesivo que pudieran estar en el probando en homocigosis y/o heterocigosis compuesta.
- II. Estuvieran dentro de los genes relacionados clínicamente con casos de DRD (AKT1, CALM1, DHFR, GCH1, GCHFR, HSP90AA1, NOS3, PAH, PARK2, PCBD1, PRKG2, PTS, QDPR, SPR, TH, TPH1)
- III. Estuvieran reportadas en la base de datos ClinVar¹ como patogénicas (5 - Pathogenic) y/o que tengan una predicción bioinformática de alto impacto funcional.

Anexo II - Estadística General

Probando	
Library Prep Kit	Agilent Sure Select V5
Reference	GRCh37
#Variants	55532
#Known variants	53385
dbSNP ratio	0.96
Het/Hom ratio	1.80
Ti/Tv ratio	2.42
Missense/Silent	0.93
Avg.coverage	54
#Genes	14468

¹ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/intro/>

Madre

Library Prep Kit	Agilent Sure Select V5
Reference	GRCh37
#Variants	29180
#Known variants	28461
dbSNP ratio	0.98
Het/Hom ratio	3.14
Ti/Tv ratio	2.44
Missense/Silent	0.91
Avg.coverage	51
#Genes	11273

Padre

Library Prep Kit	Agilent Sure Select V5
Reference	GRCh37
#Variants	36638
#Known variants	35562
dbSNP ratio	0.97
Het/Hom ratio	4.81
Ti/Tv ratio	2.44
Missense/Silent	0.91
Avg.coverage	53
#Genes	12401

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 "Agilent Sure Select V5". Las regiones fueron secuenciadas con tecnología Illumina (llevada a cabo por la empresa MacroGen) obteniéndose ca. 170,175,566 lecturas. 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 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. 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.

Aviso de exención de responsabilidad y condiciones de uso

Este informe no proporciona consejo médico, diagnóstico o tratamiento alguno. Este análisis es únicamente con fines informativos y están sujetos a cambios, por lo que no garantizamos la exactitud o integridad de los resultados. Este informe es solo para su uso en la investigación y no se puede usar en los procedimientos de diagnóstico.