



**BITGENIA**

—  
TRANSCENDING  
GENOMICS

## Panel de enfermedades autoinflamatorias

### Caso 00XX

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

Hospital- Institución

#### Datos del informe

**Profesional Solicitante:** Dr./ Dra

**Institución o Procedencia:** Hospital- Institución

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

---

**Resumen clínico:** paciente de sexo masculino de 21 años con sospecha diagnóstica de enfermedad autoinflamatoria, particularmente Fiebre Mediterránea Familiar (FMF).

---

**Tipo de muestras:** ADN

**Fecha de Informe:** XX/XX/2019

---

Proyecto  
Pampa

PROGRAMA ARGENTINO DE  
MEDICINA DE PRECISIÓN EN  
ENFERMEDADES AUTOINFLAMATORIAS

**BITGENIA**  
—  
TRANSCENDING  
GENOMICS



## Resultados

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

Se encontró la siguiente variante con **relevancia clínica**:

POSICIÓN	GEN	CAMBIO DE NUCLEÓTIDO	CAMBIO DE AMINOÁCIDO	EFEECTO	GENOTIPO	COB.	INFO EXTERNA	CLASIFICACIÓN CLÍNICA
1:247588067	NLRP3	C->T c.1316C>T	p.Ala439Val	Missense	HET	88/174	rs121908146	4
5	Patogénica	4	Probablemente patogénica	3	Variante de significado incierto (VUS)			

La variante NM\_001243133.1:c.1316C>T(p.Ala439Val) detectada en el gen **NLRP3** (OMIM: 606416) corresponde a un cambio de aminoácido que posee muy baja frecuencia poblacional (sin reporte en GnomAD, **PM2**) y predicción patogénica por DANN, GERP, dbNSFP.FATHMM, MetaLR, MetaSVM, MutationAssessor, MutationTaster, PROVEAN y SIFT (**PP3**).

Esta variante produce un cambio en la región codificante (ENST00000336119) del residuo Alanina 439 por Valina en la proteína, donde la mayoría de las mutaciones missense están reportadas como un mecanismo conocido del desarrollo de la enfermedad (**PP2**). La misma se ubica en el exón 3, dentro del dominio proteico de unión a nucleótidos NACHT (**PM1**) y se encuentra reportada en Infevers y ClinVar como patogénica (última entrada 4 de Junio del 2018), asociada al Síndrome inflamatorio frío familiar 1 (FCAS1, OMIM:120100), que típicamente se presenta con urticaria, conjuntivitis y artralgia<sup>123</sup>.

<sup>1</sup> Nguyen R. et. al. An unusual urticarial eruption: Familial cold autoinflammatory syndrome. *Australas J Dermatol.* 2015 Jun 26:e133-e136. doi: 10.1111/ajd.12361. Epub 2015 Jun 26.

<sup>2</sup> de Torre-Minguela, Carlos et al. "The NLRP3 and Pyrin Inflammasomes: Implications in the Pathophysiology of Autoinflammatory Diseases." *Frontiers in immunology* vol. 8 43. 27 Jan. 2017, doi:10.3389/fimmu.2017.00043.

<sup>3</sup> Tran, Tu-Anh. "Muckle-Wells syndrome: clinical perspectives." *Open access rheumatology : research and reviews* vol. 9 123-129. 11 Jul. 2017, doi:10.2147/OARRR.S114447.

Mutaciones en el gen NLRP3, especialmente dentro del dominio NACHT, están relacionadas con un grupo de síndromes de fiebres periódicas poco frecuentes de herencia autosómica dominante, conocidos como criopirinopatías, que abarcan un espectro de fenotipos caracterizados por una mayor liberación de interleuquina-1 $\beta$  con efectos proinflamatorios y pirogénicos locales y sistémicos, entre los que se encuentran CINCA/NOMID (OMIM:607115), Síndrome de Muckle-Wells (OMIM:191900) y FCAS (OMIM: 120100)<sup>4</sup>.

El gen NLRP3, perteneciente a la familia de receptores de tipo NOD, codifica para una proteína que forma parte del inflammasoma, un complejo multimérico involucrado en la inducción de respuestas inflamatorias innatas. El mismo consiste en la proteína NLRP3, que actúa como un sensor para la activación del inflammasoma, y una proteína asociada a la apoptosis ASC, que recluta pro-caspasa-1 a través de su dominio CARD. La Pro – caspasa-1 se convierte luego en caspasa-1 y, a su vez, escinde tanto la pro-IL-1 $\beta$  como la pro-IL-18 a sus formas activas. IL-1 $\beta$  y IL-18 promueven la inflamación al reclutar células inflamatorias adicionales. Por lo tanto, la señalización mediada por NLRP3 mantiene una inflamación estéril en el estado homeostático (en ausencia de triggers) y en diversas condiciones patológicas<sup>5</sup>.

A través del modelado tridimensional de la proteína codificada por el gen NLRP3, se ha demostrado que mutaciones en el exón 3 pueden afectar la unión a nucleótidos y la oligomerización de las proteínas que forman parte del inflammasoma, produciendo la disfunción de este complejo multiproteico<sup>6</sup>.

La variante se clasifica como **probablemente patogénica**, de acuerdo a las recomendaciones del ACMG (**criterio: 2 PM y  $\geq$ 2PP**)<sup>7</sup>.

---

<sup>4</sup> Sarrabay et. al, Diagnosis of cryopyrin-associated periodic syndrome: challenges, recommendations and emerging concepts. Expert Rev. Clin. Immunol. Early online, 1–9 (2015)

<sup>5</sup> Amna Abderrazak et. al, NLRP3 inflammasome: From a danger signal sensor to a regulatory node of oxidative stress and inflammatory diseases. Review Article. Redox Biology Volume 4, April 2015, Pages 296-307. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.01.008>

<sup>6</sup> Neven B, Callebaut I, Prieur AM, et al. Molecular basis of the spectral expression of CIAS1 mutations associated with phagocytic cell-mediated autoinflammatory disorders CINCA/NOMID, MWS, and FCU. Blood 2004;103:2809-15

<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.

## Interpretación Biológica y Clínica

Los resultados del presente análisis sugieren que la variante encontrada en el gen **NLRP3** deberá ser evaluada en profundidad por el profesional médico responsable del caso, dado que existe evidencia bibliográfica de la asociación entre esta variante y la sintomatología presentada por el paciente.

En base a estos resultados, se sugiere entonces:

i) Profundizar en la correlación fenotípica de la paciente y lo reportado en la literatura para la variante encontrada.

**ii) Validar la variante encontrada por secuenciación de Sanger en el trío (paciente y ambos padres) y realizar el análisis de segregación familiar de la misma.**

iii) Proporcionar asesoramiento genético adecuado.

.....

*Es importante mencionar que además de la variante mencionada 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.*

## Anexo I- Estrategia de priorización de variantes

<p><b>Panel de Enfermedades Autoinflamatorias</b></p>	<p>ACP5, ADAM17, ADAR1, ADGRE2, AGBL3, AP1S3, CARD14, CECR1, COPA, DDX58, DNASE2, HOIL-1L, IFIH1, IL10RA, IL10RB, IL1RN, IL36RN, LPIN2, MEFV, MVK, NCSTN, NLRC4, NLRP1, NLRP12, NLRP3, NLRP7, NOD2, OTULIN, OSMR, PLCG2, POLA1, POMP, PSMA3, PSMB4, PSMB8, PSMB9, PSTPIP1, RBCK1, RIG1, RNASEH2A, RNASEH2B, RNASEH2C, RNF31, SAMHD1, SHARPIN, SH3BP2, SLC29A3, TMEM173, TNFAIP3, TNFRSF1A, TNFRSF11A, TREX1, USP18, WDR1.</p>
<p><b>Panel de Enfermedades Autoinflamatorias extendido</b> 8</p>	<p>ACP5, ACTA2, ADA2, ADAM17, ADAR, AICDA, AP1S3, AP3B1, APOA1, APOA2, APOA4, APOC3, APOE, B2M, BMPR2, BTK, C1QA, C1QB, C1QC, C1R, C2, C3, C4A, C5, C6, C7, C8A, C8B, C9, CARD14, CASP10, CASP8, CBL, CBS, CD40LG, CFH, CFHR5, CFI, CFP, COL3A1, COL4A1, COL5A1, COL5A2, COL7A1, CORO1A, CST3, CTC1, CTPS1, CYBA, CYBB, DCLRE1C, DNASE1, DNASE1L3, DNASE2, DOCK8, ELN, FAS, FASLG, FBN1, FBN2, FERMT1, FGA, FOXP3, G6PC3, GLA, GSN, GUCY1A1, GUCY1A3, GUCY2C, HFE, HPS1, HPS4, HPS6, HTRA1, ICOS, IFNGR1, IFNGR2, IKBKG, IL10, IL10RA, IL10RB, IL1RN, IL2RA, IL36RN, ITGB2, LPIN2, LRBA, LYN, LYST, LYZ, MAGT1, MASP2, MBL2, MEFV, MVK, MYH11, MYLK, NCF1, NCF2, NCF4, NF1, NLRC4, NLRP12, NLRP3, NLRP6, NLRP7, NOD2, NOTCH1, NOTCH3, NRAS, PIK3CD, PIK3R1, PLCG2, PLOD1, POMP, PRF1, PRKCD, PRKG1, PSMA3, PSMB4, PSMB8, PSMB9, PSTPIP1, PTEN, PYCARD, RAB27A, RBCK1, RET, RHOD, RNASEH2A, RNASEH2B, RNASEH2C, RNF213, SAA1, SAA2, SAA4, SAMHD1, SERPING1, SH2D1A, SH3BP2, SKI, SKIV2L, SLC29A3, SLC2A10, SLC37A4, SMAD3, SMAD4, STK4, STX11, STXBP2, TGFB2, TGFBR1, TGFBR2, TMEM173, TNFAIP3, TNFRSF11A, TNFRSF1A, TRAP1, TREX1, TRNT1, TTC37, TTR, UNC13D, VPS13B, WAS, WDR1, XIAP.</p>

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 tengan una predicción bioinformática de alto impacto funcional.

<sup>8</sup> Omoyinmi, Egun et al. "Clinical impact of a targeted next-generation sequencing gene panel for autoinflammation and vasculitis" PLoS one vol. 12,7 e0181874. 27 Jul. 2017, doi:10.1371/journal.pone.0181874

## Anexo II- Estadística General

Paciente	
Library Prep Kit	Agilent Sure Select V6
Reference	GRCh37
#Variants	105103
#Known variants	102130
dbSNP ratio	0.99
Het/Hom ratio	1.54
Ti/Tv ratio	2.31
Missense/Silent	1.05
Avg.coverage	42
#Genes	18085

## 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 V6 (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.

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.**