

Panel de genes asociados con Enfermedades Autoinflamatorias

BITGENIA
TRANSCENDING
GENOMICS

PMP6-00

Análisis de Panel de genes asociados con Enfermedades Autoinflamatorias por NGS

PAMPA 6

Profesional Solicitante: Sexo: Masculino

Muestra: Sangre periférica

Código:

Institución:

Fecha:

Realizado por:

Indicación del estudio:

Se solicita panel de genes asociados con Enfermedades Autoinflamatorias.

Estudio realizado: Secuenciación de exoma y posterior análisis de variantes priorizadas en el panel de genes detallado en la [Tabla 1](#).



RESULTADOS

Se informa una variante **Patogénica** en el gen **MVK** asociado con Síndrome Hiper-IgD, de herencia autosómica recesiva, entre otras patologías.

MVK NM_000431.4							
POSICIÓN	CAMBIO DE NUCLEÓTIDO	CAMBIO EN LA PROTEÍNA	EFECTO	GENOTIPO	PROF.	INFO EXTERNA	CLASIFICACIÓN ACMG
12:109596515	G>A c.1129G>A	(p.Val377Ile)	Missense Variant	HET	45/101	rs28934897 ClinVar ¹	5

5 Patogénica **4** Probablemente Patogénica **3** Significado incierto (VUS)

Detalles de la variante

La variante c.1129G>A - p.(Val377Ile), detectada en heterocigosis en el gen **MVK** (OMIM: 251170), corresponde a la sustitución de una G por una A en la región codificante (NM_000431.4) del exón número 11, generando el cambio del residuo Valina de la posición 377 por Isoleucina de la proteína resultante.

Interpretación Biológica y Clínica

NM_000431.4:c.1129G>A - p.(Val377Ile)

- Esta variante posee frecuencia poblacional alta en la base de datos de GnomAD^{2, 3 y 4}, con un homocigota reportado en GnomAD v3.1.2. La frecuencia de dicha variante se vería afectada por un efecto fundador⁵. Adicionalmente, se ha

¹ https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/11929/?new_evidence=true

² https://gnomad.broadinstitute.org/variant/12-109596515-G-A?dataset=gnomad_r3

³ https://gnomad.broadinstitute.org/variant/12-110034320-G-A?dataset=gnomad_r2.1

⁴ <https://gnomad.broadinstitute.org/variant/12-110034320-G-A?dataset=exac>

⁵ Boursier, G., Rittore, C., Milhavet, F., Cuisset, L., & Touitou, I. (2021). Mevalonate Kinase-Associated Diseases: Hunting for Phenotype-Genotype Correlation. *Journal of clinical medicine*, 10(8), 1552. <https://doi.org/10.3390/jcm10081552>

propuesto que la variante en estudio presenta penetrancia reducida⁶. Por otro lado, ha sido encontrada en el 90% de pacientes con Hiper-IgD⁷.

- Presenta predicción de significado incierto basada en el meta-predictor REVEL (score= 0.547).
- Dicha variante ha presentado cosegregación con la enfermedad en múltiples miembros de una familia afectada en un gen establecido como causal de patología⁸ (**PP1**).
- El fenotipo del paciente es altamente específico para una enfermedad con una única etiología genética⁸ (**PP4**).
- Dicha variante ha sido hallada en individuos con Síndrome Hiper-IgD, además de en múltiples ocurrencias en homocigosis, acompañada de las siguientes variantes patogénicas/ probablemente patogénicas en *trans* (entre otras)^{9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 y 16} (**PM3_VeryStrong**):

- NM_000431.4:c.59A>C - p.(His20Pro)¹⁷

⁶Houten SM, van Woerden CS, Wijburg FA, Wanders RJ, Waterham HR. Carrier frequency of the V377I (1129G>A) MVK mutation, associated with Hyper-IgD and periodic fever syndrome, in the Netherlands. *Eur J Hum Genet.* 2003 Feb;11(2):196-200. doi: 10.1038/sj.ejhg.5200933. PMID: 12634869.

⁷Messer, L., Alsaleh, G., Georgel, P., Carapito, R., Waterham, H. R., Dali-Youcef, N., Bahram, S., & Sibilia, J. (2016). Homozygosity for the V377I mutation in mevalonate kinase causes distinct clinical phenotypes in two sibs with hyperimmunoglobulinaemia D and periodic fever syndrome (HIDS). *RMD open*, 2(1), e000196. <https://doi.org/10.1136/rmdopen-2015-000196>

⁸Lawrence, A., Hol, F., Aggarwal, A., & Drenth, J. P. (2006). Hyperimmunoglobulinaemia D syndrome in India: report of two siblings with a novel mutation. *Annals of the rheumatic diseases*, 65(12), 1674-1676. <https://doi.org/10.1136/ard.2006.054494>

⁹Munoz, M. A., Jurczyk, J., Simon, A., Hissaria, P., Arts, R. J. W., Coman, D., Boros, C., Mehr, S., & Rogers, M. J. (2019). Defective Protein Prenylation in a Spectrum of Patients With Mevalonate Kinase Deficiency. *Frontiers in immunology*, 10, 1900. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01900>

¹⁰Durel, C. A., Aouba, A., Bienvenu, B., Deshayes, S., Coppéré, B., Gombert, B., Acquaviva-Bourdain, C., Hachulla, E., Lecomte, F., Touitou, I., Ninet, J., Philit, J. B., Messer, L., Brouillard, M., Girard-Madoux, M. H., Moutschen, M., Raison-Peyron, N., Hutin, P., Duffau, P., Trolliet, P., ... Hot, A. (2016). Observational Study of a French and Belgian Multicenter Cohort of 23 Patients Diagnosed in Adulthood With Mevalonate Kinase Deficiency. *Medicine*, 95(11), e3027. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000003027>

¹¹Thors, V. S., Vastert, S. J., Wulfraat, N., van Royen, A., Frenkel, J., de Sain-van der Velden, M., & de Koning, T. J. (2014). Periodic Fever in MVK Deficiency: A Patient Initially Diagnosed With Incomplete Kawasaki Disease. *PEDIATRICS*, 133(2), e461-e465. doi:10.1542/peds.2012-1372 10.1542/peds.2012-1372

¹²Parvaneh, N., Ziaee, V., Moradinejad, M.-H., & Touitou, I. (2013). Intermittent Neutropenia as an Early Feature of Mild Mevalonate Kinase Deficiency. *Journal of Clinical Immunology*, 34(1), 123-126. doi:10.1007/s10875-013-9955-5 10.1007/s10875-013-9955-5

¹³Lainka, E., Neudorf, U., Lohse, P., Timmann, C., Bielak, M., Stojanov, S., ... Niehues, T. (2011). Incidence and clinical features of hyperimmunoglobulinemia D and periodic fever syndrome (HIDS) and spectrum of mevalonate kinase (MVK) mutations in German children. *Rheumatology International*, 32(10), 3253-3260. doi:10.1007/s00296-011-2180-8

¹⁴D'Osualdo, A., Picco, P., Caroli, F., Gattorno, M., Giacchino, R., Fortini, P., ... Ceccherini, I. (2004). MVK mutations and associated clinical features in Italian patients affected with autoinflammatory disorders and recurrent fever. *European Journal of Human Genetics*, 13(3), 314-320. doi:10.1038/sj.ejhg.5201323

¹⁵Houten, S. M., van Woerden, C. S., Wijburg, F. A., Wanders, R. J. A., & Waterham, H. R. (2003). Carrier frequency of the V377I (1129G>A) MVK mutation, associated with Hyper-IgD and periodic fever syndrome, in the Netherlands. *European Journal of Human Genetics*, 11(2), 196-200. doi:10.1038/sj.ejhg.5200933

¹⁶Cuisset, L., Drenth, J. P., Simon, A., Vincent, M. F., van der Velde Visser, S., ... Delpech, M. (2001). Molecular analysis of MVK mutations and enzymatic activity in hyper-IgD and periodic fever syndrome. *European Journal of Human Genetics*, 9(4), 260-266. doi:10.1038/sj.ejhg.5200614

¹⁷[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/11931/?oq=%22NM_000431.4:c.59A%3EC%22%5Bvarname%5D&m=NM_000431.4\(MVK\):c.59A%3EC%20\(p.His20Pro\)](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/11931/?oq=%22NM_000431.4:c.59A%3EC%22%5Bvarname%5D&m=NM_000431.4(MVK):c.59A%3EC%20(p.His20Pro))

- NM_000431.4:c.803T>C - p.(Ile268Thr)¹⁸
- NM_000431.4:c.976G>A - p.(Gly326Arg)¹⁹
- Estudios funcionales han demostrado que esta variante *missense* afecta la función MVK reduciendo su actividad enzimática y disminuyendo la expresión de proteínas en las personas afectadas, lo que indica que esta variante probablemente afecte la estabilidad y la función de las proteínas²⁰.
- Se encuentra reportada en ClinVar²¹ con conflictos de interpretación (24 entradas patogénicas, 2 probablemente patogénicas y 2 de significado incierto), en LOVD²² con conflictos de interpretación (5 entradas patogénicas, 1 probablemente patogénicas y 2 de significado incierto), en Infevers²³ como patogénica validada y en la literatura científica asociada a Hiper-IgD.

El gen **MVK** se encuentra localizado en la banda cromosómica 12q24.11 y codifica para la mevalonato-quinasa. Dicha enzima convierte al ácido mevalónico en mevalonato-5-fosfato. Esta conversión es el segundo paso de una vía que produce colesterol. El colesterol se convierte posteriormente en hormonas esteroideas y ácidos biliares. La mevalonato quinasa también tiene un rol en otras funciones celulares, como el crecimiento celular, la diferenciación celular, la formación del citoesqueleto, la expresión génica, la síntesis y modificación de las proteínas²⁴.

Variantes bialélicas en este gen- a diferencia del presente caso- se encuentran asociadas al Síndrome Hiper-IgD (AR; MIM: 260920; HIDS) y a la Aciduria Mevalónica (AR; MIM: 610377). Por otro lado, variantes monoalélicas se han asociado a Poroqueratosis 3 de múltiples tipos (AD; MIM: 175900). Por un lado, el Síndrome Hiper-IgD es un trastorno autosómico recesivo, raro y aparentemente monogénico, que se caracteriza por episodios recurrentes de fiebre acompañados de linfadenopatía, malestar abdominal, afectación articular y lesiones cutáneas. Todos los pacientes tienen valores elevados de IgD en suero (>100 U/ml) y las crisis de HIDS se asocian a una intensa reacción de fase aguda. Por otro lado, la Aciduria Mevalónica se caracteriza por diversos grados de severidad clínica como consecuencia de la deficiencia de la enzima mevalonato quinasa. Los pacientes más gravemente afectados

¹⁸[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/11932/?oq=%22NM_000431.4:c.803T%3EC%22%5Bvarname%5D&m=N M_000431.4\(MVK\):c.803T%3EC%20\(p.Ile268Thr\)](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/11932/?oq=%22NM_000431.4:c.803T%3EC%22%5Bvarname%5D&m=N M_000431.4(MVK):c.803T%3EC%20(p.Ile268Thr))

¹⁹[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/97639/?oq=mvk\[gene\]+AND+g326r\[varname\]+&m=N M_000431.4\(MVK \):c.976G%3EA%20\(p.Gly326Arg\)](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/97639/?oq=mvk[gene]+AND+g326r[varname]+&m=N M_000431.4(MVK):c.976G%3EA%20(p.Gly326Arg))

²⁰ Houten, S. M., Kuis, W., Duran, M., de Koning, T. J., van Royen-Kerkhof, A., Romeijn, G. J., ... Poll-The, B. T. (1999). Mutations in MVK, encoding mevalonate kinase, cause hyperimmunoglobulinemia D and periodic fever syndrome. *Nature Genetics*, 22(2), 175–177. doi:10.1038/9691

²¹ https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/11929/?new_evidence=true

²²https://databases.lovd.nl/shared/variants/MVK?search_position_c_start=1129&search_position_c_start_intron=&search_position_c_end=1129&search_position_c_end_intron=&search_vot_clean_dna_change=%3D%22c.1129G%3EA%22&search_transcriptid=00000071

²³ https://infevers.umai-montpellier.fr/web/detail_mutation.php

²⁴ Buhaescu I, Izzedine H. Mevalonate pathway: a review of clinical and therapeutical implications. *Clin Biochem*. 2007 Jun;40(9-10):575-84. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2007.03.016. Epub 2007 Mar 31. PMID: 17467679.

presentan un profundo retraso del desarrollo, rasgos dismórficos, cataratas, hepatoesplenomegalia, linfadenopatía y anemia, así como diarrea y malabsorción y muerte en la infancia. Los pacientes menos gravemente afectados presentaban retraso psicomotor, hipotonía, miopatía y ataxia. Todos los pacientes presentan crisis recurrentes que consisten en fiebre, linfadenopatía, aumento del tamaño del hígado y el bazo, artralgia, edema y una erupción morbiliforme^{25, 26}.

Al día de la fecha y de acuerdo con las recomendaciones y guías del ACMG²⁷ y las actualizaciones de ClinGen SVI²⁸, la variante se clasifica como **Patogénica** (criterios: **1 PVS y 2 PP**).

Cabe destacar que la variante no presenta la cigosidad adecuada, ya que se encuentra asociadas a rasgos de herencia autosómica recesiva.

²⁵ OMIM Entry - # 260920 - HYPER-IgD SYNDROME; HIDS

²⁶ OMIM Entry - # 610377 - MEVALONIC ACIDURIA; MEVA

²⁷ 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.

²⁸ Sequence Variant Interpretation - ClinGen | Clinical Genome Resource

Variante posiblemente relevante:

Se informa la siguiente variante que podría resultar clínicamente relevante para la paciente o para el asesoramiento genético. **Cabe destacar que se trata de una variante que, al día de la fecha, presenta información insuficiente para establecer su impacto en el fenotipo y no coincide con la sospecha clínica.** La acumulación de evidencia adicional podría confirmar o descartar su potencial patogenicidad.

POSICIÓN	GEN	CAMBIO DE NUCLEÓTIDO/ PROTEÍNA	EFEECTO	FENOTIPO ASOCIADO (PATRÓN DE HERENCIA)	INFO EXTERNA	GENO-TIPO	PROF.	CLASIFICACIÓN
7:93101802	SAMD9 NM_017654.4	c.4299del p.(Leu1434*)	<i>Nonsense Variant</i>	-Síndrome de MIRAGE (AD; MIM: 617053) -Síndrome de monosomía 7, mielodisplasia y leucemia 2 (AD; MIM: 619041) -Calcinosis tumoral y normofosfatemia familiar (AR; MIM: 610455)	rs1365970571	HET	30/67	3

5 Patogénica **4** Probablemente Patogénica **3** Significado incierto (VUS)

CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS

Los hallazgos descritos previamente, que resultan del análisis realizado, sugieren que la variante identificada en el gen **MVK** podría resultar clínicamente relevante para el paciente, dado que existe evidencia que asocia su impacto molecular con el fenotipo clínicamente descrito.

En base a estos resultados, se sugiere entonces:

- I. Profundizar en la correlación fenotípica del paciente y lo reportado en la literatura para variantes en el gen encontrado.
- II. Confirmar la variante por Sanger en el paciente y realizar análisis de segregación familiar de la misma.
- III. Proporcionar asesoramiento genético adecuado.
- IV. En caso de ser necesario, considerar la posibilidad de realizar ensayos funcionales complementarios para poder profundizar la interpretación sobre la variante reportada.

PANEL DE GENES Y PRIORIZACIÓN

Tabla 1. Panel de genes asociados con Enfermedades Autoinflamatorias²⁹.

ACP5, **ACTB**, ADAM17, ADAR, ADGRE2, AGBL3, AIRE, ALPI, AP1S3, ARPC1B, BACH2, CARD14, CDC42, CEBPE, CECR1, COPA, CTLA4, DDX58, DNASE2, EGFR, ELF4, F12, FAS, FERMT1, FOXP3, IFIH1, IL10RA, IL10RB, IL1RN, IL2RA, IL36RN, ISG15, ITCH, JAK1, KLRC4, LACC1, LPIN2, LRBA, LSM11, MEFV, MVK, MYD88, NCKAP1L, NCSTN, NFAT5, NLRC4, NLRP1, NLRP12, NLRP3, NLRP6, NLRP7, NOD2, OSMR, OTULIN, PEPD, PLCG2, POLA1, POMP, PSMA3, PSMB4, PSMB8, PSMB9, PSMG2, PSTPIP1, RBCK1, RELA, RIPK1, RNASEH2A, RNASEH2B, RNASEH2C, RNF31, RPA1, SAMD9, SAMD9L, SAMHD1, SASH3, SH3BP2, SHARPIN, SLC29A3, SOCS1, STAT2, STAT3, STAT4, STIM1, SYK, TBK1, TET2, TLR7, TMEM173, TNFAIP3, TNFRSF11A, TNFRSF1A, TOM1, TPP2, TRAP1, TREX1, TRNT1, UBA1, **USP18**, WDR1, **XIAP**, ZNF1.

OBJETIVO DEL ESTUDIO

- Este estudio es adecuado para enfermedades con patrón de herencia mendeliano (monogénicas) con alta asociación fenotipo-genotipo.
- Se estudiarán aquellos genes incluidos en la solicitud médica.
- Se informarán exclusivamente variantes genéticas de relevancia clínica. En caso de no encontrar variantes que cumplan con estas condiciones el informe será “negativo”.

METODOLOGÍA

Preparación de la muestra

Se realizó la obtención de ADN genómico, a partir de la muestra remitida. Luego de superar satisfactoriamente los controles de calidad, se procedió a realizar la preparación de la Biblioteca, siguiendo el protocolo basado en enriquecimiento por captura (*Library construction*, kit Twist Exome Refseq Plus Mito).

Secuenciación

Posteriormente se procedió a realizar la secuenciación por Síntesis *paired-end* utilizando la plataforma *NovaSeq Sequencing System* (Illumina).

²⁹ El porcentaje especificado entre paréntesis corresponde a la cobertura real de las regiones codificantes capturadas por el kit Twist Exome Refseq Plus Mito. Solo se aclaran coberturas menores al 100%.

Los genes resaltados en negrita poseen algún/os exones que presentan un alto porcentaje de identidad (> 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.

Más información en: <https://www.bitgenia.com/wp-content/uploads/2020/04/cuadro-pseudogenes-B02.pdf>

Procesamiento de datos

El procedimiento de Mapeo, Alineamiento y llamado de variantes fue realizado utilizando el genoma humano de referencia GRCh38, mediante un 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 mediante el software B-platform.

Las variantes se identificaron siguiendo las recomendaciones de nomenclatura de la HGVS³⁰. La interpretación del impacto de las mismas se realizó en el contexto del transcrito clínicamente relevante (MANE SELECT).

El análisis se enfocó en la secuencia codificante de dichos transcritos, 20pb flanqueantes a los extremos de los exones (sobre los intrones) y otras regiones genómicas específicas que se hayan demostrado que son causantes de enfermedad al momento del diseño del ensayo. Promotores, regiones no traducidas (UTR) y demás regiones no codificantes no fueron analizadas.

Teniendo en cuenta el diagnóstico clínico y el modelo de enfermedad propuesto (ver documentos de historia clínica) se priorizaron variantes utilizando la información disponible en bases de datos (como GnomAD, ClinVar, OMIM, PubMed, LOVD, dbSNP, NCBI Genome, RefSeqGene, entre otros).

Las variantes priorizadas fueron clasificadas según la guía internacional de ACMG/AMP.

Es importante mencionar que además de las variantes informadas anteriormente, se analizaron todas aquellas que cumplían con los criterios de búsqueda en el panel de genes listado anteriormente, y se pudo verificar que NO se encontraron variantes adicionales de alto impacto (stop prematuro, cambios del marco de lectura, etc.), de impacto moderado (cambios no sinónimos) y/o de muy baja (o nula) frecuencia que puedan explicar el fenotipo patológico. Las demás variantes corresponden a variantes de alta frecuencia poblacional, 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.

³⁰ <https://varnomen.hgvs.org/>

HGVS Recommendations for the Description of Sequence Variants: 2016 Update

LIMITACIONES

- En virtud de las limitaciones metodológicas en el presente estudio no se puede analizar el 100% del exoma. Por lo tanto, existe la posibilidad de la presencia de variante/s que esté/n causando la afección del paciente que no se detecte/n con este ensayo.
- El informe se genera en base a la información disponible al día de la fecha en bases de datos biológicas y publicaciones científicas. Por lo tanto, podría existir una variante actualmente no relacionada al fenotipo del paciente, que en el futuro, podría reclasificarse como causante de la enfermedad.
- Este estudio no está optimizado para detectar rearrreglos estructurales balanceados (inversiones, translocaciones, etc.).
- Este estudio no está optimizado para detectar trastornos genéticos causados por la expansión de trinucleótidos o variantes que se encuentren en regiones de alta complejidad de secuencia (STRs, duplicaciones segmentarias, etc.).
- Este estudio puede no ser concluyente si las variantes se presentan en mosaicos germinales ó se encuentran restringidas a un tejido específico.
- Las variantes halladas en este estudio no han sido confirmadas mediante un método alternativo.

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

De conformidad con Ley 25.326 de "Protección de Datos Personales", Bitgenia garantiza la seguridad y confidencialidad de la información utilizada para el análisis del presente informe.

Tabla 2	
Library Prep Kit	Twist Exome Refseq Plus Mito
Referencia	
Variantes	
Variantes Conocidas	
Prop. dbSNP	
Het/Hom Ratio	
Ti/Tv Ratio	
Prof. Promedio	
Genes	
(%)Q20	

Tabla 2

Proporción dbSNP: Porcentaje de variantes reportadas en dbSNP

Het/Hom Ratio: Relación entre el número de variantes heterocigotas y número de variantes homocigotas

Ti/Tv Ratio: Relación entre la tasa de transición de SNVs que pasan los filtros de calidad dividida por la tasa de transversión de SNVs que pasan los filtros de calidad. Las transiciones son intercambios de purinas (A, G) o de pirimidinas (C, T). Transversiones son intercambios entre bases de purina y pirimidina (por ejemplo, A a T).

(%)Q20: Proporción de bases que tienen un phred quality score superior a 20. Es un parámetro indicativo de la calidad del llamado de las variantes. Es una medida de la certeza del llamado de bases (Base call accuracy).