



# TRACKING ON POMPE

## Bases de Genética en la práctica clínica

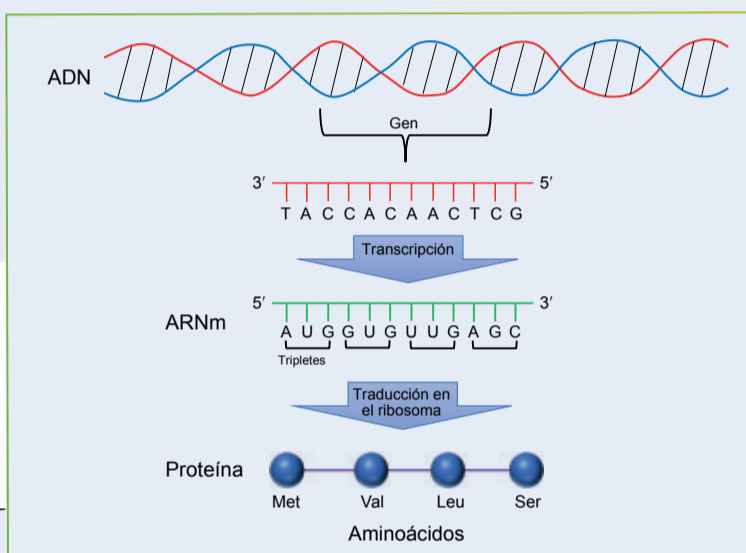
**DR. RAÚL JUNTAS MORALES**

Unidad de Enfermedades Neuromusculares del Hospital Universitario Vall d'Hebron, Barcelona  
Jefe del Grupo de Sistema Nervioso Periférico del VHIR

### BASES DE GENÉTICA

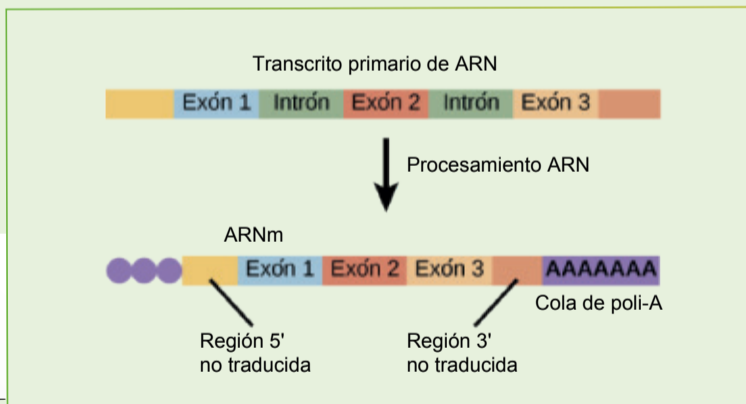
Los ácidos nucleicos (ADN y ARN) están formados por subunidades llamadas nucleótidos.

- La **transcripción** es el proceso de copia de la secuencia de ADN a ARNm.
- La **traducción** es la formación de una proteína a partir del ARNm en el ribosoma.



- Un **tripleto de nucleótidos** da lugar a un **aminoácido**
- **Codón de inicio:** AUG
- **Codón Stop:** ATC / AUG

→ **Splicing:** procesamiento del ARN primario para dar lugar al ARNm que se va a traducir a proteína; consiste en eliminar los intrones (regiones no codificantes) y unir los exones (regiones codificantes).



- Todos los intrones comienzan por **GT (donor splice site)** y terminan por **AG (acceptor splice site)**.

### TIPOS DE MUTACIONES

**COPY NUMBER VARIATION (CNV)**

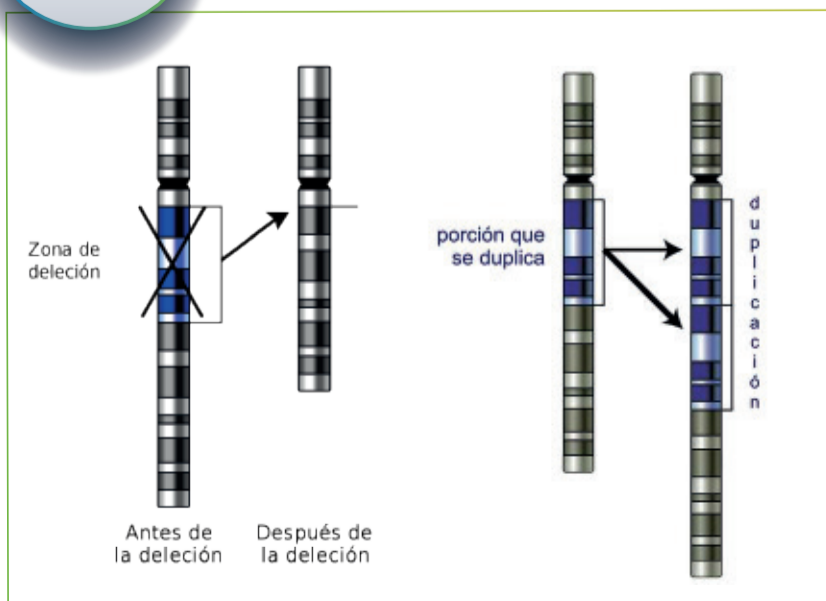
**>1 KB**

● **Opciones:**

**Deleciones o duplicaciones de todo un gen**

Ejemplo: Enfermedad de Charcot Marie Tooth tipo 1

**Deleciones o duplicaciones de ≥1 exón**



## DELECCIONES O INSERCIONES EN FASE

- 3 Del o Ins de 3 bases
- Se mantiene el cuadro de lectura
- Consecuencias variables en función de la proteína:
  - Ningún impacto
  - Estructura modificada → proteína no funcional

## FRAMESHIFT

- Del o Ins no en fase (3 bases o múltiplo de 3)
- Del o Ins de 1, 2 bases, o que no sea múltiplo de 3
- Acaba produciendo un codón stop prematuro

## SUSTITUCIONES

### MUTACIONES POR SUSTITUCIÓN

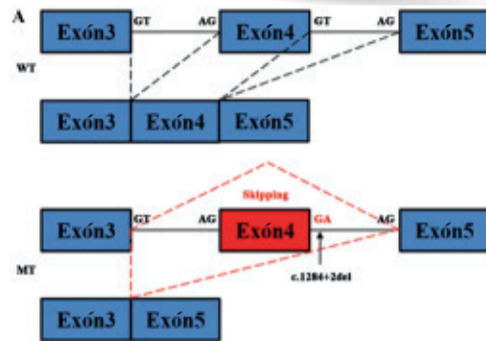
	Sin mutación	Silenciosa	Nonsense	Missense
ADN	TTC	TTT	ATC	TCC TGC
ARNm	AAG	AAA	UAG	ACG ACG
Proteína	Lys	Lys	Codón Stop	Arg Thr

Normalmente no son patógenos, pero a veces sí porque pueden crear un nuevo sitio de *splicing*

Proteína truncada o de tamaño disminuido

Proteína de tamaño normal pero se puede alterar su función

## MUTACIONES DE SPLICING



**Resultado:**  
Proteína truncada, suele ser patógeno

## MUTACIONES EN REGIONES INTRÓNICAS



Probablemente más frecuentes de lo que se conoce

Pueden alterar el *splicing*



## MÉTODO DE ANÁLISIS ACTUAL: NGS

**Next Generation Sequencing (NGS)** permite secuenciar de una sola vez el conjunto de las regiones de interés de varios genes (incluso de los de gran tamaño).

### SE PUEDE APLICAR A:

#### PANEL DE GENES

#### EXOMA ENTERO: WES

#### GENOMA: WGS



Más rápido, permite un mejor conocimiento del gen

Se pueden asociar nuevos genes a un fenotipo, mejor eficacia diagnóstica

Mejor cobertura, nuevos genes



No detecta variantes intrónicas profundas, nuevos genes, hay que ponerlo al día periódicamente

No detecta variantes intrónicas profundas

Muy caro, no accesible por el momento

## RECOMENDACIONES PARA LA INTERPRETACIÓN DE VARIANTES<sup>1</sup>

### BASES DE DATOS POBLACIONALES



- Frecuencia alelo >5%: benigno
- Frecuencia variante demasiado alta comparado con la frecuencia de la enfermedad: benigno
- Variante ausente en las bases de datos: criterio de patogenicidad**

### NATURALEZA DEL GEN



- Variante truncada: criterio de patogenicidad**
- Importante: conocer tipo de mutaciones descritas en un gen
- Verificar siempre el impacto sobre el *splicing* (HSF)

### BASES DE DATOS DE PACIENTES



- Variante ya descrita: criterio de patogenicidad +++**
- Variante patógena descrita cerca del de interés: *hot spot mutacional del gen*

### PREDICCIONES BIOINFORMÁTICAS (*In silico*)



- Atribuyen un *score* y una clasificación en función de la probabilidad de que la variante sea patógena
- Score pLI: gen intolerante a la pérdida de función si pLI>0,9**

### SEGREGACIÓN FAMILIAR



- La variante co-segrega con la patología en varios pacientes de la misma familia: **criterio muy importante**
- Variante de novo (ausente en los padres): criterio de patogenicidad**
- Variabilidad intrafamiliar +++:** reevaluación fenotipo

### DATOS BIBLIOGRÁFICOS



- Variante descrita en bibliografía: criterio de patogenicidad**
- Muy importante: actualizar bibliografía**

## CLASIFICACIÓN DE VARIANTES EN EL INFORME GENÉTICO

CLASE 1	Benigno
CLASE 2	Probablemente benigno
CLASE 3	Variante de significado incierto: VUS
CLASE 4	Probablemente patógeno
CLASE 5	Patógeno

## ¿CÓMO ENCONTRAR NUEVAS ASOCIACIONES GENOTIPO-FENOTIPO?



## REGISTRO DE VARIANTES ASOCIADAS A LA ENFERMEDAD DE POMPE<sup>2</sup>

- Hasta 2018, se describieron **más de 400 variantes consideradas patógenas del gen GAA**.
- Existen numerosas variantes **benignas o de significado incierto (VUS)**.

**ESTUDIO:** Análisis del Registro de la Enfermedad de Pompe en 1079 pacientes de 26 países distintos<sup>1</sup>

**Grupo A:** <12 meses con Pompe  
**Grupo B:** >12 meses y <12 años con Pompe  
**Grupo C:** >12 años con Pompe

**GRUPO A**  
**Variante c.2560C>T:** la más frecuente en América y una de las más frecuentes en Europa y Asia  
**Variante c.1935C>A:** la segunda más frecuente, en particular en Asia

**GRUPOS B Y C**  
**Variante c.-32-13T>G:** es la más frecuente en Europa y en América

**Variantes c.525del y c.2481+102\_2646+31del** no son específicas del grupo

- Cualquier **variante homocigoto del grupo A** se asocia a un fenotipo muy severo.
- **Variantes homocigotas de los grupos B y C** son específicas de grupo, excepto la más común, c.-13-32T>G, que se asocia a muchos fenotipos diferentes.
- **Hay 110 (10,1%) pacientes en el registro con un solo variante** y considerados enfermedad de Pompe porque la clínica y la actividad enzimática son compatibles. Probablemente el segundo variante no se detecte con las técnicas habituales.

En caso de sospecha de enfermedad de Pompe, solicitar el kit de DBS en el correo: [ES-GNZ-Departamento-Medico@sanofi.com](mailto:ES-GNZ-Departamento-Medico@sanofi.com) o al delegado de Sanofi Genzyme de la zona.



**ADN:** ácido desoxirribonucleico; **ARN:** ácido ribonucleico; **ARNm:** ARN mensajero; **A:** adenina; **T:** timina; **U:** uracilo; **C:** citosina; **G:** guanina; **Met:** metionina; **Val:** valina; **Leu:** leucina; **Ser:** serina; **Lys:** lisina; **Arg:** arginina; **Thr:** treonina; **CNV:** Copy Number Variation; **Del:** delección; **Ins:** inserción; **NGS:** Next Generation Sequencing; **HSF:** Human Splicing Finder; **pLI:** probabilidad de ser intolerante a la pérdida de función; **RM:** resonancia magnética; **ADNc:** ADN complementario; **GAA:** alfa-glucosidasa ácida; **VUS:** variantes de significado incierto.

### REFERENCIAS:

1. Richards S, 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. Genetics in medicine. 2015;17(5):405-423. 2. Reuser AJJ, et al. GAA variants and phenotypes among 1,079 patients with Pompe disease: Data from the Pompe Registry. Hum Mutat. 2019;40(11):2146-2164.