

ESTUDIO GENÉTICO DE ENFERMEDADES DERMATOLÓGICAS (DermaRef Global®) POR SECUENCIACIÓN MASIVA (NGS)

Nº Petición: 000

Cliente: -

Código análisis: 17035

Nombre paciente: xxx

Fecha nacimiento: No consta

Ref. Paciente: xxx

Sexo: Masculino

Tipo muestra: Sangre EDTA

Fecha recepción: DD/MM/AAAA

Fecha resultado: DD/MM/AAAA

Información clínica facilitada: Paciente con historia personal de ampollas con predominio de fricción con traumatismo mínimo. En el momento de la exploración no se observa ampollas, cicatrices ni quistes de *millium*. Presenta discromía residual. No alteraciones odontológicas. AF: ascendientes sanos; 2 hermanos afectados en edad infantil; 2 hijos y 5 nietos sin afectación.

RESULTADO E INTERPRETACIÓN

Se ha identificado la presencia en heterocigosis de una variante patogénica en el gen *COL7A1* asociada a la Epidermolisis bullosa.

Adicionalmente, se ha identificado la presencia en heterocigosis de tres variantes de significado clínico incierto (VSI). (Ver Recomendaciones)

Listado completo de genes estudiados en Anexo 1. (Sección Metodología)

Listado de genes reportados y cobertura en Tabla 1. (Sección Metodología)

Gen	Variante*	Cigotidad	Herencia	Clasificación [^]
<i>COL7A1</i>	NM_000094.3: c.6527dup p.(Gly2177Trpfs*113)	Heterocigosis	Autosómica dominante Autosómica recesiva	Patogénica
<i>COL7A1</i>	NM_000094.3: c.6341G>A p.(Gly2114Asp)	Heterocigosis	Autosómica dominante Autosómica recesiva	VSI
<i>COL7A1</i>	NM_000094.3: c.4782+9A>T p.?	Heterocigosis	Autosómica dominante Autosómica recesiva	VSI

ITGA6	NM_000210.3: c.3001G>A NP_000201: p.(Val1001Met)	Heterocigosis	Autosómica recesiva	VSI
--------------	--	---------------	---------------------	------------

* Nomenclatura según HGVS v15.11

^ Basada en las recomendaciones del *American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG)*

La variante **c.6527dup p.(Gly2177Trpfs*113)** identificada en el gen **COL7A1** es una duplicación de 1 nucleótido que provoca un cambio del tipo *frameshift* que predice la substitución de un aminoácido Glicina por Triptófano en la posición 2177 de la proteína y debido al desplazamiento de la pauta de lectura provoca un codón de parada prematuro 113 aminoácidos después. Se encuentra descrita en las bases de datos HGMD (C1972584) y ClinVar (ID: 372345) como variante patogénica asociada a Epidermolisis bullosa distrófica. La variante aparece anotada en la base de datos dbSNP (rs768128088) y en la base de datos de frecuencia poblacional gnomAD (0,0068%). En la bibliografía científica ha sido reportada en afectos de epidermolisis bullosa distrófica recesiva, en homocigosis y heterocigosis compuesta con otra variante patogénica. Además, en estudios para futuras terapias se muestra que esta variante causa una deficiencia de expresión de la proteína. (PMID: [20920254](#), [23947675](#), [24577406](#), [27498345](#), [29272047](#)).

Basándonos en estos datos la variante se clasifica como **Variante Patogénica**.

La variante **c.6341G>A p.(Gly2114Asp)** identificada en el gen **COL7A1** es un cambio tipo *missense* que predice la substitución de un aminoácido Glicina por Ácido aspártico en la posición 2114 de la proteína, afectando a un dominio funcional. No se encuentra descrita en las bases de datos clínicas ni poblacionales ni en la bibliografía científica consultada. Los predictores bioinformáticos (Mutation Taster y Polyphen-2) estiman que el cambio tendría un efecto patogénico, sin embargo el predictor SIFT estima que el cambio tendría un efecto tolerado.

Basándonos en estos datos la variante se clasifica como **Variante de Significado clínico Incierto**.

La variante **c.4782+9A>T p.?** identificada en el gen **COL7A1** es un cambio situado en la posición +9 del sitio donador de *splicing*. Se encuentra descrita en la base de datos clínica ClinVar (ID:345844) como variante de significado clínico incierto. La variante aparece anotada en la base de datos dbSNP (rs369635501) y en la base de datos de frecuencia poblacional gnomAD (0,0088%). Los predictores bioinformáticos de *splicing* (NNSPLICE y MaxEnt) estiman que el cambio tendría un efecto tolerado. No se encuentra descrita en la bibliografía científica consultada.

Basándonos en estos datos la variante se clasifica como **Variante de Significado clínico Incierto**.

El gen **COL7A1** (OMIM: [120120](#)) está asociado a epidermolisis bullosa distrófica dominante (OMIM: [131750](#)), a epidermolisis bullosa distrófica recesiva (OMIM: [226600](#)) y a otros tipos de epidermolisis bullosa con patrón de herencia dominante y recesiva.

La variante **c.3001G>A p.(Val1001Met)** identificada en el gen **ITGA6** es un cambio tipo *missense* que predice la substitución de un aminoácido Valina por Metionina en la posición 1001 de la proteína. No se encuentra descrita en las bases de datos clínicas ni en la bibliografía científica consultada. La variante aparece anotada en la base de datos dbSNP (rs567133568) y en la base de datos de frecuencia poblacional gnomAD (0,088%). Los predictores bioinformáticos (SIFT, Mutation Taster y Polyphen-2) estiman que el cambio tendría un efecto patogénico.

Basándonos en estos datos la variante se clasifica como **Variante de Significado clínico Incierto**.

El gen **ITGA6** (OMIM:[147556](#)) está asociada a la epidermolisis bullosa juntural con atresia pilórica (OMIM:[226730](#)), entidad con patrón de herencia autosómico recesivo.

Dado el tipo de herencia autosómica recesiva de la enfermedad, son necesarias dos variantes patogénicas en configuración *trans* (una en cada alelo) para obtener una confirmación diagnóstica. Independientemente de la clasificación, la identificación de una única variante no podría explicar por sí sola la enfermedad estudiada. Por

consiguiente, los estudios de cosegregación con la enfermedad de una variante en un gen asociado a una herencia autosómica recesiva no son informativos, independientemente de la clasificación de la variante.

RECOMENDACIONES

El gen *COL7A1* puede tener un patrón de herencia autosómico dominante o autosómico recesivo. Ante el hallazgo de una variante patogénica en heterocigosis, se recomienda establecer la segregación de la variante patogénica y de las dos variantes de significado clínico incierto identificadas en el gen *COL7A1* en familiares de primer grado afectados y no afectados. Este estudio de segregación permitiría estudiar la posible patogenidad de las diferentes variantes de significado clínico incierto junto al patrón de herencia. La causalidad de las variantes deben ser interpretadas conjuntamente con la clínica del paciente y en función de su árbol familiar por un especialista.

El asesoramiento genético debe ser facilitado por el especialista que atiende al paciente. Si el facultativo necesita información adicional sobre los resultados o del asesoramiento genético, puede contactar con genetics@referencelaboratory.es

METODOLOGÍA EMPLEADA

Extracción de ADN y valoración cuantitativa y cualitativa de la muestra de ADN obtenida.

Captura y enriquecimiento de las regiones exónicas y de las zonas intrónicas flanqueantes de los genes contenidos en el panel de secuenciación REFLAB MedExome (Roche) con la tecnología Roche NimbleGen SeqCap EZ HyperCap Library™.

Secuenciación masiva con el secuenciador NextSeq™ (Illumina).

Identificación de las variantes de interés respecto del genoma de referencia (hg19) tras el filtrado según criterios de calidad específicos. Anotación de las variantes obtenidas con los programas bioinformáticos: Alamut Visual™ (Interactive Biosoftware), Ingenuity Variant Analysis™ (QIAGEN), Variant interpreter™ (Illumina) y VarAFT™. Las bases de datos de referencia utilizadas han sido las bases de datos poblacionales dbSNP, 1000genomes, EXAC y gnomAD, las bases de datos clínicas *Human Gene Mutation Database* (HGMD versión 2019.3), ClinVar y LOVD, y bases específicas de la enfermedad, si procede, y propias de Reference Laboratory Genetics. El análisis bioinformático para evaluar el posible impacto de las variantes de interés en la estructura y funcionalidad de la proteína se ha llevado a cabo con los programas bioinformáticos Mutation Taster, SIFT y PolyPhen-2. Estos análisis constituyen únicamente una herramienta predictiva, no probada experimentalmente.

La nomenclatura utilizada para definir las variantes sigue los criterios de la *Human Genome Variation Society* (HGVS) (<http://www.HGVS.org/varnomen>).

Clasificación de las variantes en base a las recomendaciones del *American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG) (Richards S. *et al.*, 2015). Únicamente se informan las variantes que en base a la información actual son consideradas variantes patogénicas, probablemente patogénicas o de significado clínico incierto. (El listado completo de variantes identificadas está disponible bajo petición).

La profundidad media de lectura obtenida ha sido de 117,3x siendo > 20x en el 98,4% de las regiones analizadas.

Las variantes INDEL reportadas son confirmadas mediante secuenciación Sanger.

LIMITACIONES: Los resultados obtenidos no excluyen variantes fuera de las regiones del genoma analizadas o anomalías genéticas no detectables por secuenciación masiva como grandes reordenamientos, grandes deleciones/duplicaciones (*Copy Number Variant* ;CNV), inserciones/deleciones de ≥ 10 nucleótidos, variantes en regiones repetitivas o con un alto porcentaje de CG y variantes en genes con pseudogenes con secuencias altamente homólogas.

No es posible descartar la presencia de variantes en otros genes no analizados.

Anexo 1. Listado de genes estudiados

AAGAB, ABCA12, ABCB6, ABCC9, ABHD5, ACD, ACTA2, ACVRL1, ADAM10, ADAM17, ADAR, AGPAT2, ALDH18A1, ALDH3A2, ALOX12B, ALOXE3, ANTXR1, AP1S1, AP3B1, APCDD1, AQP5, ARSE, ATP2A2, ATP2C1, ATP6V0A2, ATP7A, ATR, AXIN2, B4GALT7, BANF1, BLM, BLOC1S3, BLOC1S6, BRAF, BSCL2, C10ORF11, C1R, C1S, CARD14, CAST, CAV1, CAVIN1, CBL, CCBE1, CCM2, CDH3, CDSN, CECR1, CERS3, CLDN1, COL17A1, COL3A1, COL7A1, CSTA, CTC1, CTSC, CYP4F22, DCLRE1C, DDB2, DKC1, DLX3, DSC2, DSC3, DSG1, DSG4, DSP, DST, DTNBP1, DYNC2LI1, EBP, EDA, EDA2R, EDAR, EDARADD, EDN3, EDNRB, ELOVL4, ENG, ENPP1, EPG5, ERCC1, ERCC2, ERCC3, ERCC4, ERCC5, ERCC6, ERCC8, EVC, EVC2, EXPH5, FAT4, FBN1, FERMT1, FGF10, FGFR2, FGFR3, FLG, FLT4, FOXC2, GATA2, GDF2, GJA1, GJB2, GJB3, GJB4, GJB6, GJC2, GPR143, GRHL2, GTF2E2, GTF2H5, GUCY1A3, HOXC13, HPS1, HPS3, HPS4, HPS5, HPS6, HR, IFT122, IFT43, IFT52, IKBKG, ITGA3, ITGA6, ITGB4, JAG1, JUP, KANK2, KCNJ6, KCTD1, KIF11, KIT, KITLG, KRIT1, KRT1, KRT10, KRT14, KRT16, KRT17, KRT2, KRT5, KRT6A, KRT6B, KRT6C, KRT74, KRT81, KRT83, KRT85, KRT86, KRT9, LAMA3, LAMB3, LAMC2, LIPH, LIPN, LMNA, LOR, LPAR6, LRP6, LTBP3, LYST, LZTR1, MAP2K1, MBTPS2, MC1R, MITF, MLPH, MPLKIP, MSX1, MVK, MYO5A, NF1, NF2, NFKBIA, NHP2, NIPAL4, NOP10, NSDHL, OCA2, OFD1, PARN, PAX3, PAX9, PDCD10, PEX7, PHYH, PIEZO1, PIK3R1, PKP1, PLEC, PLIN1, PNPLA1, PNPLA2, POC1A, POFUT1, POGLUT1, POLD1, POLH, POMP, PORCN, PPARG, PSENEN, PSMB8, PTDSS1, PTEN, PTPN11, PVRL1, PVRL4, PYCR1, RAB27A, RAF1, RAG1, RAG2, RASA1, RECQL4, RHBDF2, RIN2, RNF213, RTEL1, SAMHD1, SERPINB7, SHOC2, SLC24A5, SLC27A4, SLC29A3, SLC45A2, SLURP1, SMAD4, SMARCAD1, SMARCB1, SNAP29, SNRPE, SOX10, SOX18, SPINK5, SPRED1, ST14, ST3GAL5, STK11, STS, SULT2B1, SUMF1, TERC, TERT, TGM1, TGM5, TINF2, TP63, TRPS1, TRPV3, TWIST2, TYR, TYR1, UBR1, USB1, UVSSA, VEGFC, VPS33B, WDR19, WDR35, WNT10A, WNT10B, WRAP53, WRN, XPA, XPC, ZMPSTE24.

Tabla 1. Listado de genes reportados y coberturas

Gen	NM	10x %	Exón(es) con cobertura < 100%*
COL7A1	NM_000094	100,00	-
ITGA6	NM_000210	100,00	-

*Debido a las limitaciones intrínsecas actuales de la tecnología de secuenciación masiva, algunos exones de los genes analizados pueden no ser suficientemente cubiertos. Si el facultativo especialista lo considera oportuno, es posible secuenciar aquellos exones con cobertura por debajo del 100% mediante el método de Sanger u otra técnica molecular alternativa.

NOTA IMPORTANTE

La información contenida en este informe está basada en el conocimiento científico actual y los resultados obtenidos a partir de la aplicación de la tecnología en este informe detallada. Debido a los avances continuos, la información documentada puede verse modificada en un futuro ante la aparición de nueva evidencia científica.

Los estudios genéticos/genómicos efectuados por Reference Laboratory S.A. están destinados exclusivamente a profesionales de la salud cualificados para su interpretación. Los resultados obtenidos no constituyen por sí mismos una consulta médica, diagnóstico o tratamiento, ni deben ser así interpretados. Sólo un profesional especializado puede interpretar correctamente los resultados y ofrecer un diagnóstico o prescribir un tratamiento a un paciente basándose en éstos. En consecuencia, ninguna información obtenida con nuestros estudios puede ser utilizada para sustituir el consejo y diagnóstico de un profesional especializado.

Fdo: Cristina Camprubí, PhD
Responsable de Diagnóstico y
Asesoramiento Genético
Nº de colegiación 21841-C
Colegio de Biólogos de Cataluña
Acreditada por la AEGH

Fdo: Irina Royo, MSc
Responsable de Genética
Molecular
Nº de colegiación 22078-C
Colegio de Biólogos de Cataluña

CLÁUSULA DE EXENCIÓN DE RESPONSABILIDAD: Reference Laboratory S.A. no se hace responsable del uso que haga el contratante de los resultados obtenidos mediante sus estudios, así como tampoco de las eventuales consecuencias perjudiciales derivadas de este uso, haciendo expresa reserva de ejercer las acciones legales oportunas en el supuesto de un uso indebido de los mismos.

El contratante de los estudios referidos anteriormente efectuados por Reference Laboratory S.A. no podrá modificar, reducir, ampliar o, en modo alguno, alterar el contenido del presente informe. Por lo tanto, el contratante exonera irrevocablemente a Reference Laboratory S.A. de cualquier responsabilidad o eventual consecuencia perjudicial derivada, directa o indirectamente, del incumplimiento de la presente obligación.