

ESTUDIO GENÉTICO DEL SISTEMA DE COMPLEMENTO POR SECUENCIACIÓN MASIVA (NGS)

Nº Petición:	000		
Cliente:	-		
Código análisis:	26075		
Nombre paciente:	xxx		
Fecha nacimiento:	08/09/1962	Ref. Paciente:	xxx
Sexo:	Masculino	Tipo muestra:	Sangre Total
Fecha recepción:	DD/MM/AAAA	Fecha resultado:	DD/MM/AAAA

Información clínica facilitada: Paciente de 56 años con deterioro de la función renal, pérdida de peso, presión arterial alta, epistaxis, tendencia al sangrado sin haber presentado alteraciones de coagulación ni de plaquetas. Enfermedad renal crónica secundaria a probable uropatía obstructiva crónica, pielonefritis crónica. Litiasis coraliforme bilateral, hipertensión arterial, anemia normocítica normocrómica, precisó transfusión de hemoderivados. Bacteriemia y hematuria post cistoscopia. Epistaxis y úlcera rectal.

RESULTADO E INTERPRETACIÓN

Se ha identificado la presencia en heterocigosis de una variante probablemente patogénica en el gen **ADAMTS13** (ver Recomendaciones).

Listado completo de genes estudiados y cobertura en Tabla 1 (Sección Metodología)

Gen	Variante*	Cigotidad	Herencia	Clasificación [^]
ADAMTS13	NM_139025.4:c.1370C>T p.(Pro457Leu)	Heterocigoto	Autosómica Recesiva	Probablemente Patogénica

* Nomenclatura según HGVS v15.11

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

La variante **c.1370C>T p.(Pro457Leu)** en el gen **ADAMTS13** es un cambio de tipo *missense* que predice la substitución de un aminoácido Prolina por Leucina en la posición 457 de la proteína. Se encuentra reportada en la base de datos ClinVar (365546) como variante probablemente patogénica asociada a síndrome Upshaw-Schulman y en HGMD (CM030771) como variante patogénica asociada a púrpura trombótica trombocitopénica. Aparece anotada en las bases de datos de frecuencia poblacional dbSNP (rs36220240) y gnomAD (0,22%). Todos los predictores bioinformáticos (SIFT, Mutation Taster y Polyphen-2) estiman que el cambio tendría un efecto patogénico. Aparece reportada en diferentes artículos de pacientes con Púrpura trombótica trombocitopénica (OMIM: [17187257](#)) y existen estudios *in vitro* que detectan una

disminución de la actividad y expresión de la proteína cuando la variante está presente en heterocigosis (PMID: [17627784](#), [28866379](#)).

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

Variantes en el gen *ADAMTS13* (OMIM:[604134](#)) han sido asociadas a Púrpura trombótica trombocitopénica familiar con un patrón de herencia autosómico recesivo (OMIM:[274150](#)).

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. Sin embargo, en la bibliografía científica existen estudios *in vitro* en los que se detecta una disminución de la actividad y expresión de la proteína también cuando la variante está presente en heterocigosis. En el caso de este paciente, se realizó la determinación de la actividad en plasma de la proteína ADAMTS-13 obteniendo un resultado del 35%, por tanto, por debajo del rango de normalidad. Esto podría incrementar la evidencia de una posible disminución en la actividad de la proteína causada por la variante identificada.

Adicionalmente, la cobertura obtenida en la muestra analizada para los genes *CFHR1* y *CFHR3* ha sido inferior a la habitual (100% a 10x). La falta de cobertura en ciertas regiones de los genes podría ser debida a una delección.

La delección completa de los genes *CFHR1* y *CFHR3* se encuentra asociada a Síndrome Hemolítico Urémico atípico y ha sido descrita múltiples veces como un factor de susceptibilidad a este síndrome siendo mas común en los afectos que en los controles (alrededor de 3-4 veces más frecuente en afectos).

RECOMENDACIONES

Considerando la interpretación de los resultados obtenidos, se recomienda completar el estudio mediante el análisis de *Copy Number Variant*; CNV (código 25231) de los genes que forman parte del panel. Este estudio permitirá investigar la posible:

- presencia de una CNV en el gen *ADAMTS13* en heterocigosis compuesta con la variante c.1370C>T p.(Pro457Leu) que podría asociarse al patrón de herencia autosómico recesivo
- delección completa de los genes *CFHR1* y *CFHR3*
- presencia de CNV en otros genes

y con ello alcanzar una confirmación molecular y diagnóstica concluyente.

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 2019.1), 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 128,20x siendo > 20x en el 98,00% de las regiones analizadas.

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.

Tabla 1. GENES ESTUDIADOS Y COBERTURA

Gen	NM	10x %	Exón(es) con cobertura < 100%*
ADAMTS13	NM_139025	100,00	-
C3	NM_000064	100,00	-
CD46	NM_002389	100,00	-
CFB	NM_001710	100,00	-
CFH	NM_000186	100,00	-
CFHR1	NM_002113	100,00	-
CFHR2	NM_005666	100,00	-
CFHR3	NM_021023	100,00	-
CFHR4	NM_001201551	100,00	-
CFHR5	NM_030787	100,00	-
CFI	NM_000204	100,00	-
CFP	NM_002621	100,00	-
DGKE	NM_003647	100,00	-
THBD	NM_000361	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.