

## ESTUDIO GENÉTICO DE ENFERMEDADES OCULARES (OphtalmoRef Global®) POR SECUENCIACIÓN MASIVA (NGS)

Nº Petición: 000

Cliente: -

Código análisis: 57450

Nombre paciente: xxx

Fecha nacimiento: 28/04/1998

Ref. Paciente: xxx

Sexo: Masculino

Tipo muestra: Sangre Total

Fecha recepción: DD/MM/AAAA

Fecha resultado: DD/MM/AAAA

**Información clínica facilitada:** Paciente de 21 años con miopatía mitocondrial diagnosticada en seguimiento. Ptosis palpebral bilateral continua junto a debilidad muscular ante los ejercicios. AF: tío de 20 años con debilidad muscular en estudio. Abuelo paterno ptosis palpebral y ceguera que atribuyen DMID.

### RESULTADO E INTERPRETACIÓN

**Se ha identificado la presencia en heterocigosis de una variante probablemente patogénica en el gen *POLG*.**

Adicionalmente se ha identificado la presencia en heterocigosis de una variante de significado clínico incierto (VSI) en el mismo gen (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 <sup>^</sup>
<i>POLG</i>	NM_002693.2:c.3139C>T p.(Arg1047Trp)	Heterocigosis	Autosómica Recesiva Autosómica Dominante	Probablemente Patogénica
<i>POLG</i>	NM_002693.2:c.803G>C p.(Gly268Ala)	Heterocigosis	Autosómica Recesiva Autosómica Dominante	VSI

\* Nomenclatura según HGVS v15.11

<sup>^</sup> Basada en las recomendaciones del American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG)

La variante **c.3139C>T p.(Arg1047Trp)** identificada en el gen *POLG* es un cambio tipo *missense* que predice una sustitución de un aminoácido Arginina por Triptófano en la posición 1047 de la proteína. Se encuentra descrita en las bases de datos HGMD (CM087768) como variante patogénica asociada al síndrome de Alpers y ClinVar (ID: 206548) como variante patogénica/probablemente patogénica/de significado clínico incierto. La variante está anotada en la base de datos dbSNP (rs181860632) y en la base de datos de frecuencia poblacional gnomAD (0.0046%). Los predictores bioinformáticos (SIFT, Mutation Taster y Polyphen-2) estiman que el cambio tendría un efecto patogénico. En la

bibliografía científica consultada la variante está reportada en pacientes afectados de neuropatía axonal que presentaban oftalmoplejía y ptosis, junto a otra variante patogénica (PMID: [19251978](#), [22189570](#), [18195149](#)).

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

La variante **c.803G>C p.(Gly268Ala)** identificada en el gen **POLG** es un cambio tipo *missense* que predice la sustitución de un aminoácido Glicina por Alanina en la posición 268 de la proteína, afectando a varios dominios funcionales. Se encuentra descrita en la base de datos HGMD (CM033442) como variante de significado clínico incierto y ClinVar (ID: 196354) como variante benigna, probablemente benigna y de significado clínico incierto, asociada a diferentes enfermedades relacionadas con **POLG**. La variante aparece anotada en la base de datos dbSNP (rs61752784) y en las bases de datos de frecuencia poblacional gnomAD (0,34%) con 4 homocigotos y 1000Genomes (0,3%). Los predictores bioinformáticos (SIFT, Polyphen-2 y MutationTaster) estiman que el cambio tiene un efecto patogénico. En la bibliografía científica ha sido reportada en pacientes afectados de oftalmoplejía externa y ptosis. Diferentes estudios funcionales muestran un incremento de la disfunción de la polimerasa, siendo éste incremento inferior al de variantes patogénicas conocidas en **POLG**; y también una disminución de la actividad exonucleasa. Algunos autores la clasifican como un modificador polimórfico o una variante ecogenética (PMID: [16940310](#), [21880868](#), [27987238](#)).

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

El gen **POLG** codifica para la proteína DNA polimerasa-gamma. Variantes patogénicas en el gen **POLG** (OMIM: [174763](#)) están asociadas a síndrome de depleción de ADN mitocondrial 4A (tipo Alpers) (OMIM: [203700](#)), síndrome de depleción de ADN mitocondrial 4B (tipo MNGIE) (OMIM: [613662](#)), a síndrome de ataxia mitocondrial recesiva (SANDO y SCAE) (OMIM: [607459](#)), con un patrón de herencia autosómica recesiva; a oftalmoplejía externa progresiva autosómica recesiva (OMIM: [258450](#)) y oftalmoplejía externa progresiva autosómica dominante (OMIM: [157640](#)).

## RECOMENDACIONES

Para establecer la cosegregación con la enfermedad y con ello la posible patogénicidad de una variante probablemente patogénica y de significado clínico incierto es necesario estudiarlas en los padres y/o en familiares afectados y no afectados. Habiéndose identificado dos variantes en el mismo gen, se recomienda específicamente el estudio de las variantes en los progenitores, puesto que permitiría confirmar si ambas variantes han sido heredadas y la configuración *cis* (las dos variantes en el mismo alelo) o *trans* (una variante en cada alelo). De confirmarse la configuración *trans*, en función de la correlación genotipo-fenotipo, se incrementaría la evidencia de la posible causalidad de estas variantes.

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](mailto: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, 1000 Genomes, 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 205,00x siendo > 20x en el 99,50% 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  $\geq 10$  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

ABCA4, ABCB6, ABCC6, ABCD1, ABHD12, ACBD5, ACO2, ACTB, ACVR1, ADAM9, ADAMTS18, ADAMTSL4, ADGRV1, ADIPOR1, AFG3L2, AGBL1, AGBL5, AGK, AHI1, AIPL1, ALDH1A3, ALMS1, AMACR, ANKS6, ANTXR1, AP3B1, ARHGEF18, ARL13B, ARL2BP, ARL6, ARMC9, ASB10, ATF6, ATOH7, ATXN7, AUH, B3GLCT, B9D1, B9D2, BBIP1, BBS1, BBS10, BBS12, BBS2, BBS4, BBS5, BBS7, BBS9, BCOR, BEST1, BFSP1, BFSP2, BLOC1S3, BLOC1S6, BMP4, BMP7, C10orf11, C12orf57, c12orf65, C19ORF12, C1QTNF5, C21orf2, C2CD3, C5orf42, C8orf37, CA4, CABP4, CACNA1F, CACNA2D4, CANT1, CAPN5, CAV1, CC2D2A, CDH23, CDH3, CDHR1, CEP104, CEP120, CEP164, CEP290, CEP41, CEP83, CERKL, CFH, CHD7, CHM, CHMP4B, CHN1, CHST6, CIB2, CISD2, CLDN19, CLN3, CLN5, CLN6, CLN8, CLPB, CLRN1, CNGA1, CNGA3, CNGB1, CNGB3, CNM4, COL11A1, COL11A2, COL17A1, COL18A1, COL2A1, COL4A1, COL4A3, COL4A4, COL4A5, COL5A1, COL8A2, COL9A1, COL9A2, COL9A3, CRB1, CRX, CRYAA, CRYAB, CRYBA1, CRYBA2, CRYBA4, CRYBB1, CRYBB2, CRYBB3, CRYGB, CRYGC, CRYGD, CRYGS, CSPP1, CTDP1, CTNNA1, CTNNA1, CTSD, CTSF, CYP1B1, CYP27A1, CYP4V2, DCN, DHDDS, DNAJC5, DNMT1, DTNBP1, EDN3, EDNRB, EFEMP1, ELOVL4, EPG5, EPHA2, ERCC1, ERCC2, ERCC5, ERCC6, EYA1, EYS, FAM126A, FAM161A, FBN1, FGFR1, FLVCR1, FOXC1, FOXE3, FOXL2, FRAS1, FREM1, FREM2, FRMD7, FSCN2, FTL, FYCO1, FZD4, GALK1, GALT, GCNT2, GDF3, GDF6, GFER, GIPC3, GJA1, GJA3, GJA8, GJB2, GJB6, GLI2, GLIS2, GNAT1, GNAT2, GNB3, GNPTG, GPR143, GPR179, GRIP1, GRK1, GRM6, GRN, GSN, GUCA1A, GUCA1B, GUCY2D, HARS, HCCS, HCN1, HESX1, HGSNAT, HK1, HMCN1, HMX1, HOXA1, HOXB1, HPS1, HPS3, HPS4, HPS5, HPS6, HSF4, IARS2, IDH3B, IFT140, IFT172, IFT27, IFT43, IFT81, IGBP1, IMPDH1, IMPG1, IMPG2, INPP5E, INVS, IQCB1, IRX5, ISPD, ITM2B, JAG1, JAM3, KCNJ13, KCNV2, KCTD7, KERA, KIAA0556, KIAA0586, KIF11, KIF21A, KIF7, KIZ, KLHL7, KRT12, KRT3, LAMA1, LCA5, LCAT, LEMD2, LEPREL1, LIM2, LMX1B, LOXHD1, LOXL1, LRAT, LRIT3, LRP5, LSS, LTBP2, LYST, LZTFL1, MAB21L2, MAF, MAK, MC1R, MERTK, MFN2, MFRP, MFSDB, MIP, MIR184, MITF, MKKS, MKS1, MLPH, MMACHC, MSMO1, MTPAP, MTPP, MVK, MYO5A, MYO7A, MYOC, NAA10, NDP, NDUFS1, NEK2, NEK8, NEUROD1, NGLY1, NHS, NMNAT1, NPHP1, NPHP3, NPHP4, NR2E3, NR2F1, NRL, NTF4, NYX, OAT, OCA2, OCRL, OFD1, OPA1, OPA3, OPN1SW, OPTN, OTX2, OVOL2, P3H2, PANK2, PAX2, PAX3, PAX6, PCARE, PCDH15, PCYT1A, PDE6A, PDE6B, PDE6C, PDE6D, PDE6G, PDE6H, PDZD7, PEX1, PEX10, PEX11B, PEX12, PEX13, PEX14, PEX16, PEX19, PEX2, PEX26, PEX3, PEX5, PEX6, PEX7, PGAP1, PGK1, PHOX2A, PHYH, PIGL, PIKFYVE, PITPNM3, PITX2, PITX3, PLA2G5, PLG, PLK4, PNPLA6, POC1B, POLG, POMGNT1, POMT1, PORCN, PPT1, PQBP1, PRCD, PRDM5, PRKCG, PROKR2, PROM1, PRPF3, PRPF31, PRPF4, PRPF6, PRPF8, PRPH2, PRPS1, PRSS56, PXDN, RAB18, RAB27A, RAB28, RAB3GAP1, RAB3GAP2, RARB, RAX, RAX2, RB1, RBP3, RBP4, RCBTB1, RD3, RDH11, RDH12, RDHS, RECQL4, REEP6, RGR, RGS9, RGS9BP, RHO, RIMS1, RLBP1, ROBO3, ROM1, RP1, RP1L1, RP2, RP9, RPE65, RPGR, RPGRIP1, RPGRIP1L, RRM2B, RS1, RTN4IP1, SAG, SALL2, SALL4, SBF2, SCN2A, SDCCAG8, SEMA3E, SEMA4A, SH3PXD2B, SHH, SIL1, SIPA1L3, SIX3, SIX6, SLC16A12, SLC24A1, SLC24A5, SLC25A46, SLC33A1, SLC38A8, SLC45A2, SLC4A11, SLC4A3, SLC4A4, SLC7A14, SMOC1, SNAI2, SNRNP200, SOX10, SOX2, SOX3, SOX5, SPATA7, SPG7, SRD5A3, STRA6, SUFU, TACSTD2, TBC1D20, TBK1, TCF4, TCTN1, TCTN2, TCTN3, TDRD7, TEAD1, TEK, TENM3, TFAP2A, TGFBI, TGIF1, TIMM8A, TIMP3, TMEM107, TMEM126A, TMEM138, TMEM216, TMEM231, TMEM237, TMEM67, TMEM98, TMPRSS4, TOPORS, TPP1, TRAF3IP1, TREX1, TRIM32, TRNT1, TRPM1, TSPAN12, TTC21B, TTC8, TTL5, TTPA, TTR, TUBB3, TUBGCP4, TUBGCP6, TULP1, TYR, TYRP1, UBIAD1, UCHL1, UNC119, UNC45B, USH1C, USH1G, USH2A, VAX1, VCAN, VHL, VIM, VPS13B, VSX1, VSX2, WDPCP, WDR19, WDR36, WFS1, WHRN, WRN, YAP1, ZEB1, ZIC2, ZNF408, ZNF423, ZNF469, ZNF513, ZNF644.

**Tabla 1. Listado de genes reportados y coberturas**

Gen	NM	10x %	Exón(es) con cobertura < 100%*
<i>POLG</i>	NM_002693	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.