

Diagnóstico de trastorno de la glicosilación. Un ejemplo de la aplicación en la práctica clínica de técnicas de secuenciación masiva

Glikosilazioaren nahasmenduaren diagnostikoa. Sekuentziazio masiboko teknikak praktika klinikoan aplikatzearen adibide bat

A. Castro Quiroga, M. Amores Torres, M. Mendizabal Díez, A. Ilundain López de Munain

Servicio de Pediatría. Hospital Universitario de Navarra.

LABURPENA

Sarrera: Genomikak hobekuntza nabarmenak dakartza oso gutxitan gertatzen diren gaixotasun genetikoaren diagnostikoan.

Entzefalopatiagatik aztertzen ari zen jaioberri baten kasua aurkeztzen da. Sekuentziazio masiboko teknikak "NGS" aplikatuta, diagnostiko zehatza eta oso goiztiarra lortu zen.

Behaketa klinikoa: 40 ordurekin ospitaleratutako jaioberria, hipogluzemia eta bradikardiarekin lotutako entzefalopatia dela eta. Ospitaleratu eta lehenengo asteetan hobekuntza neurologiko eskasa aurkeztu du. Azterlanaren barruan, NGS egiten da, eta glikosilazioaren akats batean inplikaturako aldaera genetiko bat detektatzen da, patogeniko gisa sailkatua, eta 32 egun dituelarik diagnostikatzen da.

Eztabaida:

- Glikosilazioaren nahasmenduak glikanoen sintesirako akats genetikoek eragiten dituzte, adierazpen klinikoaren aldakortasunak eta deskribatutako azpimota ugariak oso zaila egiten dute haien diagnostikoa.
- NGS bezalako tekniken garapenak aldaera genomikoak detektatzeko ahalmena du proba bakar baten bidez. Praktika klinikoan ezartzeak zehaztasun handiagoa ematen du paziente konplexuak aztertzeko orduan, baina gaur egun erabilera mugatua du, kostu handia baitu.

Hitz gakoak: Genomika; Sekuentziazio masiboko teknikak (NGS); Entzefalopatia, glikosilazioa.

RESUMEN

Introducción: La genómica aporta sustanciales mejoras en el diagnóstico de enfermedades genéticas muy poco frecuentes.

Se presenta el caso de un recién nacido estudiado por encefalopatía que con la aplicación de técnicas de secuenciación masiva "NGS" se consiguió un diagnóstico certero y muy precoz.

Observación clínica: Recién nacido (RN) a término ingresado a las 40 horas de vida por cuadro de encefalopatía asociado a hipoglucemia y bradicardia. Durante las primeras semanas de ingreso presenta escasa mejoría neu-

rológica. Dentro del estudio, se realiza NGS detectándose una variante genética clasificada como patogénica implicada en un defecto de la glicosilación siendo diagnosticado a los 32 días de vida.

Discusión:

- Los trastornos de la glicosilación están causados por defectos genéticos en la síntesis de los glicanos, la variabilidad en su expresión clínica y los numerosos subtipos descritos hacen muy difícil su diagnóstico.
- El desarrollo de técnicas como NGS, tienen el potencial de detectar variantes genómicas mediante una única prueba. Su implementación en la práctica clínica permite mayor precisión en el abordaje de pacientes complejos pero, su uso actual es limitado debido a su elevado coste.

Palabras clave: Genómica; Técnicas de secuenciación masiva (NGS); Encefalopatía; glicosilación.

INTRODUCCIÓN

Los adelantos producidos en la genómica han acarreado importantes avances en el conocimiento de numerosas enfermedades. En el ámbito clínico, el desarrollo de técnicas de secuenciación masiva "NGS", está permitiendo el diagnóstico postnatal y prenatal de enfermedades genéticas en ocasiones muy poco frecuentes⁽¹⁾.

La secuenciación masiva paralela, también conocida como secuenciación masiva de segunda generación "NGS", brinda la capacidad de secuenciar a gran escala, con versatilidad (puede analizar genomas completos o paneles reducidos de genes). Dichas técnicas combinadas con avances en la bioinformática permiten analizar los datos genómicos de forma eficaz⁽²⁾.

Por otro lado, los trastornos de la glicosilación (CDG) son un grupo de enfermedades metabólicas con una expresión clínica muy heterogénea. Hasta la fecha, se han descrito más de 150 tipos de CDG^(3,4). Se trata de trastornos muy raros. Las clases de CDG que afectan a la N-glicosilación son el grupo más común dentro de su infrecuencia⁽⁴⁾. Los defectos enzi-

máticos desencadenan anomalías en la formación de diversos glicolípidos y glicoproteínas lo que explica la gran variedad en lo que a la expresión clínica se refiere⁽⁵⁾.

La escasa incidencia unida a la variabilidad en la expresión clínica ya mencionada dificultan mucho su diagnóstico. En el momento en el que se sospecha un trastorno de la N-glicosilación, el *screening* bioquímico inicial se realiza mediante el estudio isoelectrico o espectrométrico de las isoformas de la transferrina⁽⁶⁾.

A continuación, presentamos el caso de un RN estudiado por encefalopatía que con la aplicación de técnicas de NGS se consiguió un diagnóstico definitivo en un corto plazo de tiempo.

OBSERVACIÓN CLÍNICA

Presentamos el caso de un recién nacido a término (40+3 semanas de edad gestacional) y peso adecuado 2.990 g (p10). Como antecedentes perinatales no destaca nada relevante salvo madre con PCR positiva para SARS-CoV-2. Había tenido un embarazo controlado sin datos de interés, padres no consanguíneos. Nace mediante cesárea urgente por riesgo de pérdida del bienestar fetal. Al nacimiento precisa ventilación con presión positiva intermitente durante 3 minutos. APGAR 5/9 y un estado postreanimación bueno. PCR para SARS-CoV-2 negativa. Serologías del embarazo negativas. pH de cordón umbilical no realizados. No precisa ingreso inicialmente permitiendo cuidados de rutina y traslado a la unidad maternal con su madre. A las 40 horas de vida ingresa en la unidad de neonatología por un cuadro de encefalopatía asociado a hipoglucemia y bradicardia sinusal.

Al ingreso destaca tendencia al sueño, hipocinesia e hipertonia de extremidades. Se realiza electroencefalograma integrado por amplitud presentando un patrón continuo con ciclos vigilia-sueño sin crisis eléctricas. En análisis sanguíneos realizados al ingreso se objetivan coagulopatía de ambas vías que se trata con vitamina K y trombopenia que precisa transfusión. Así mismo, debido a la clínica que presenta se inicia tratamiento empírico con antibioterapia de amplio espectro y Aci-

clovir que se mantienen hasta negatividad de pruebas microbiológicas (Hemocultivo, PCR de CMV, VHS, VVZ, cultivos en sangre y LCR, urocultivo y serología de toxoplasma).

Tras estabilización inicial, en los días sucesivos de ingreso, comienza a destacar un marcado patrón hipocinético de movimientos que además son escasos, así como importantes problemas de succión-deglución precisando alimentación por sonda nasogástrica (SNG). Además, presenta intolerancia digestiva en relación con reflujo gastroesofágico, con cierta mejoría tras inicio de fórmula hipercalórica hidrolizada y tratamiento farmacológico.

Durante su ingreso se realiza estudio extenso: Ecocardiograma sin alteraciones estructurales ni funcionales. Función renal conservada sin alteraciones iónicas. Ecografía trasfontanelar normal, Resonancia magnética (RM) craneal: hematoma subdural frontal y temporal izquierdos. Fondo de ojo, Potenciales evocados visuales (PEV), electromiograma (EMG), electroneurograma (ENG), estudio metabólico y tándem masas normales. En potenciales evocados auditivos se objetiva hipoacusia retrococlear. Se realiza estudio genético con aCGH que no es concluyente por lo que se realiza NGS detectándose una variante genética en homocigosis en el gen ALG1 (c.605A>G p.Asp-202Gly), clasificada como variante patogénica que genera un defecto de la glicosilación ALG1 a los 32 días de vida cuadrando con la clínica que presentaba el paciente.

Se consigue alta domiciliaria los 36 días de vida de vida con asistencia domiciliaria (SNG de alimentación y monitorización pulsioximétrica continua). A los 2 meses de vida reingresa por crisis convulsivas (episodios de rigidez con cianosis, de corta duración y periodicidad frecuente) de difícil control con varios ingresos en unidad de cuidados intensivos pediátricos falleciendo finalmente a los 2 meses y medio de vida.

DISCUSIÓN

Los trastornos de la glicosilación están causados por defectos genéticos en la síntesis de los glicanos, la variabilidad en su expresión

clínica y los numerosos subtipos descritos hacen muy difícil su diagnóstico. Como ya se ha mencionado, el abordaje inicial implica el estudio isoelectrico o espectrométrico de las isoformas de la transferrina⁽⁶⁾. A día de hoy los perfiles anómalos de transferrina justifican el cribado genético con paneles de genes CDG dirigidos o secuenciación genómica para identificar variantes patogénicas en genes asociados a CDG⁽⁶⁾.

Los defectos de la glicosilación ALG-1 presentan un patrón de transmisión autosómico recesivo. Se trata de un tipo poco común de CDG con pocos casos descritos y, a pesar de ello, mucha variabilidad en las mutaciones genéticas conocidas, muchas de ellas relacionadas con una supervivencia inferior a 2 años⁽⁴⁾.

Dentro de los múltiples tipos de CDG son contadas las excepciones para las que se dispone de un tratamiento que mejore en cierta medida el pronóstico (CDG-Ib, CDG-IIc), de forma que para la gran mayoría no se dispone de opciones terapéuticas eficaces al margen de las medidas sintomáticas (rehabilitación, fisioterapia, estimulación temprana, abordaje nutricional, etc.)⁽⁷⁾.

El desarrollo de técnicas como NGS, tienen el potencial de detectar variantes genómicas mediante una única prueba. Su implementación en la práctica clínica permitiría una mayor precisión en el abordaje de pacientes complejos pero su uso actual es limitado por su elevado coste. A pesar de lo expuesto hay que mencionar que tiene sus limitaciones, y no necesariamente sustituye a técnicas tradicionalmente establecidas. La información genómica que se aporta desde la secuenciación masiva paralela es complementaria a la de otras técnicas, sobre todo en patologías complejas⁽³⁾.

En relación con el caso expuesto, las técnicas de NGS se realizaron previo al análisis espectrométrico de las isoformas de la transferrina dado que el paciente se incluyó en un proyecto que justificaba la realización de las técnicas de NGS, realizándose posteriormente el análisis de las isoformas de la transferrina. Esta circunstancia ha propiciado, sin duda, el rápido diagnóstico.

Por tanto, se podría plantear la posibilidad de realizar las técnicas de NGS en fases más iniciales del proceso diagnóstico utilizando otras pruebas complementarias de forma más dirigida y con la intención de confirmación del diagnóstico genético. La disminución de los costes del proceso así como su estandarización podrían permitir en los próximos años un importante salto en la eficacia y rapidez diagnóstica de este tipo de enfermedades infrecuentes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Behjati S, Tarpey PS. What is next generation sequencing? *Arch Dis Child Educ Pract Ed*. 2013; 98(6): 236-8.
2. Jauk F. Next-Generation Sequencing (NGS): basic concepts and applications. Volumen 23 Número Extraordinario XXIV Congreso Argentino de Hematología: 21-38 Octubre 2019.
3. Verheijen J, Tahata S, Kozicz T, Witters P, Morava E. Therapeutic approaches in congenital disorders of glycosylation (CDG) involving N-linked glycosylation: an update. *Genet Med* 2020; 22(2): 268-79.
4. Ng BG, Shiryayev SA, Rymen D, Eklund EA, Raymond K, Kircher M. ALG1-CDG: Clinical and molecular characterization of 39 unreported patients. *Hum Mutat*. 2016; 37(7): 653-60.
5. Rohlfing A-K, Rust S, Reunert J, Tirre M, Du Chesne I, Wemhoff S, et al. ALG1-CDG: a new case with early fatal outcome. *Gene* 2014; 534(2): 345-51.
6. Deschamps E M, Miña A, Diéguez MA. Isoformas de la transferrina: Utilidad clínica de su determinación. *Rev Diagn Biol*. 2003; 52(1): 35-9.
7. Pascual-Castroviejo I. Congenital disorders of glycosilation syndromes. *DevMed Child Neurol*. 2002; 44: 357-8.