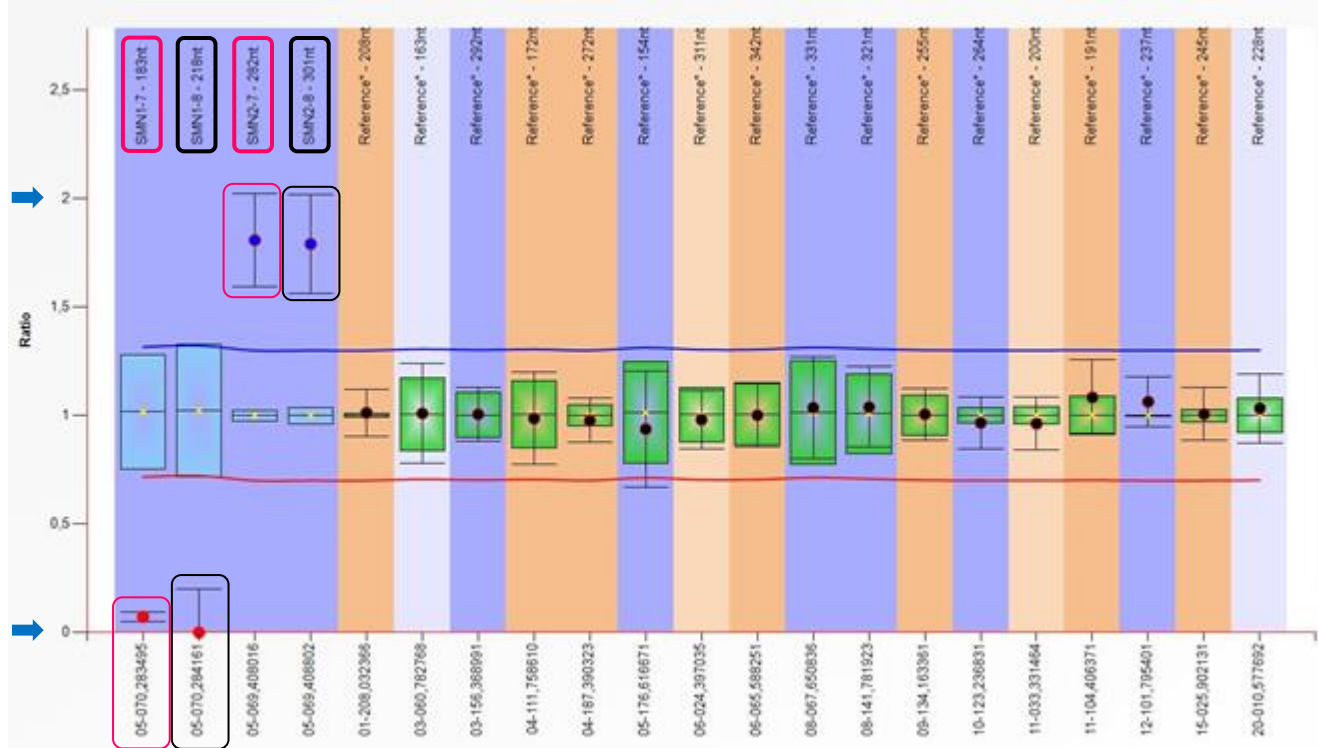


IMPORTANCIA DEL DIAGNÓSTICO MOLECULAR RÁPIDO PARA ENFERMEDADES GENÉTICAS CON TRATAMIENTO

IMPORTANCE OF RAPID MOLECULAR DIAGNOSIS FOR GENETIC DISEASES WITH TREATMENT



Autores

Irene Ma^a Pérez Lucendo¹
 Virginia Moreno Moral²
 Antonio Martínez Peinado²

Filiación

¹Servicio de Análisis Clínicos.
 Hospital General Universitario
 de Ciudad Real
²Sección de Biología Molecular,
 U.G.C de Análisis Clínicos.
 Hospital Universitario Reina
 Sofía, Córdoba

Fecha de publicación

30 septiembre 2019

Páginas

Páginas 11-14

Figura 1. Resultado del MLPA para la muestra del ADN analizada del caso índice. Se observa una delección en homocigosis (exones 7 y 8) del gen SMN1 (0 copias), así como 4 copias para el gen SMN2, por lo que se confirma la sospecha diagnóstica.

Figure 1. Result of MLPA of the patient's DNA with suspected AME type I. A homozygous deletion (exons 7 and 8) is observed of SMN1 gene (0 copies), as well as four copies for the SMN2 gene. Thus, the diagnostic suspicion is confirmed.

Se presenta el diagnóstico de la Atrofia Muscular Espinal (AME) realizado en el laboratorio de Genética Molecular mediante estudio de MLPA (Multiplex ligation-dependente probe amplification) con la Salsa P060-B2 (MRC-Holland®, Netherlands), además existe la Salsa P021 como confirmatoria(1). Esta técnica nos permite conocer el número de copias de los genes de la supervivencia de la neurona motriz (*SMN1* y *SMN2*) de una manera rápida y fiable (sensibilidad 95% y especificidad 100%). Es un método diagnóstico muy interesante puesto que existe un tratamiento específico para AME-I y II. El fármaco Spirinza®(2) consiste en un oligonucleótido antisentido que bloquea la región del intrón 7 del gen *SMN2* facilitando la activación del exón 7 del *SMN2* en el ARNm del *SMN2*, generando una proteína funcional.

AME es una enfermedad neuromuscular causada por la degeneración de las neuronas motoras alfa de médula espinal, presenta una herencia autosómica recesiva, con una incidencia estimada de 1/6.000-1/10.0000 nacimientos, y una frecuencia de portadores de 1/40-1/60(3). La proteína de supervivencia de las neuronas motoras (SMN), que participa en el movimiento normal de los músculos y el control de extremidades, abdomen, cabeza y cuello, está codificada por dos genes localizados en el cromosoma 5q13.2, *SMN1* y *SMN2*. El gen *SMN1* se transcribe produciendo una proteína SMN estable, mientras que el gen *SMN2* difiere en el nucleótido c.840 C>T provocando un sitio nuevo de *splicing* y, por tanto, origina una pequeña cantidad de proteína SMN inestable que no contiene el exón 7(4)(5). El 95-99% de los pacientes de AME carecen de ambas copias del gen *SMN1* debido a una delección en homocigosis o una conversión génica de *SMN1* en *SMN2*.

Esta enfermedad se clasifica según un documento de Consenso de Normas publicado en

It is presented the diagnosis of Spinal Muscular Atrophy (AME in Spanish language) performed in the Molecular Genetics laboratory by means of an MLPA study (Multiplex Ligations Probe Amplification) by SALSA MLPA-P060-B2 (MRC-Holland®, Netherlands), furthermore SALSA MLPA-P021 is used to confirm the diagnosis(1). This method allows us to know the copy number of the survival genes of the motor neuron (*SMN1* and *SMN2*) in a fast and reliable way (95% sensitivity and 100% specificity). At present this diagnostic method is important due to the fact that there is a new treatment for SMA type I and II. The drug Spirinza®(2) consists of an antisense oligonucleotide that blocks the region of intron 7 of the *SMN2* gene, this facilitates the activation of exon 7 of *SMN2* in the mRNA of *SMN2*, generating a functional protein.

AME is a neuromuscular disease that is caused by the degeneration of alpha spinal cord motor neurons. It presents an autosomal recessive pattern of inheritance and it has been estimated that the annual incidence of 1/6.000 to 1/10.000 births and a carrier frequency of 1/40 – 1/60 individuals(3). SMN protein is encoded by two genes located on chromosome 5q13.2 (*SMN1* and *SMN2*) and involves in the normal movement of muscles and control of limbs, abdomen, head and neck. The *SMN1* gene produces a stable SMN protein, whereas the *SMN2* gene differs from *SMN1* at nucleotide c.840 C>T, this fact generates a new splicing site, and therefore a small proportion of unstable SMN protein that does not contain the exon 7 is created(4)(5). 95-99% of AME patients lack both copies of the *SMN1* gene due to a deletion in homozygosis or a gene conversion of *SMN1* in *SMN2*.

According to a Consensus of Standards document published in “*Journal of Child Neurology*”(6), AME is classified by the time the symptoms, the muscle activity achieved, and the

“*Journal of Child Neurology*” (6) en subtipos en función del momento de aparición de síntomas, máxima actividad muscular conseguida y supervivencia del paciente: AME-I (edad de inicio: 0-6 meses, nunca se sienta de forma independiente), AME-II (7-18 meses, no camina de forma independiente), AME-III y AME-IV.

survival gained by the patient into 4 subtypes: AME-I (age of onset: 0-6months, never sit independently), AME-II, AME-III and AME-IV.

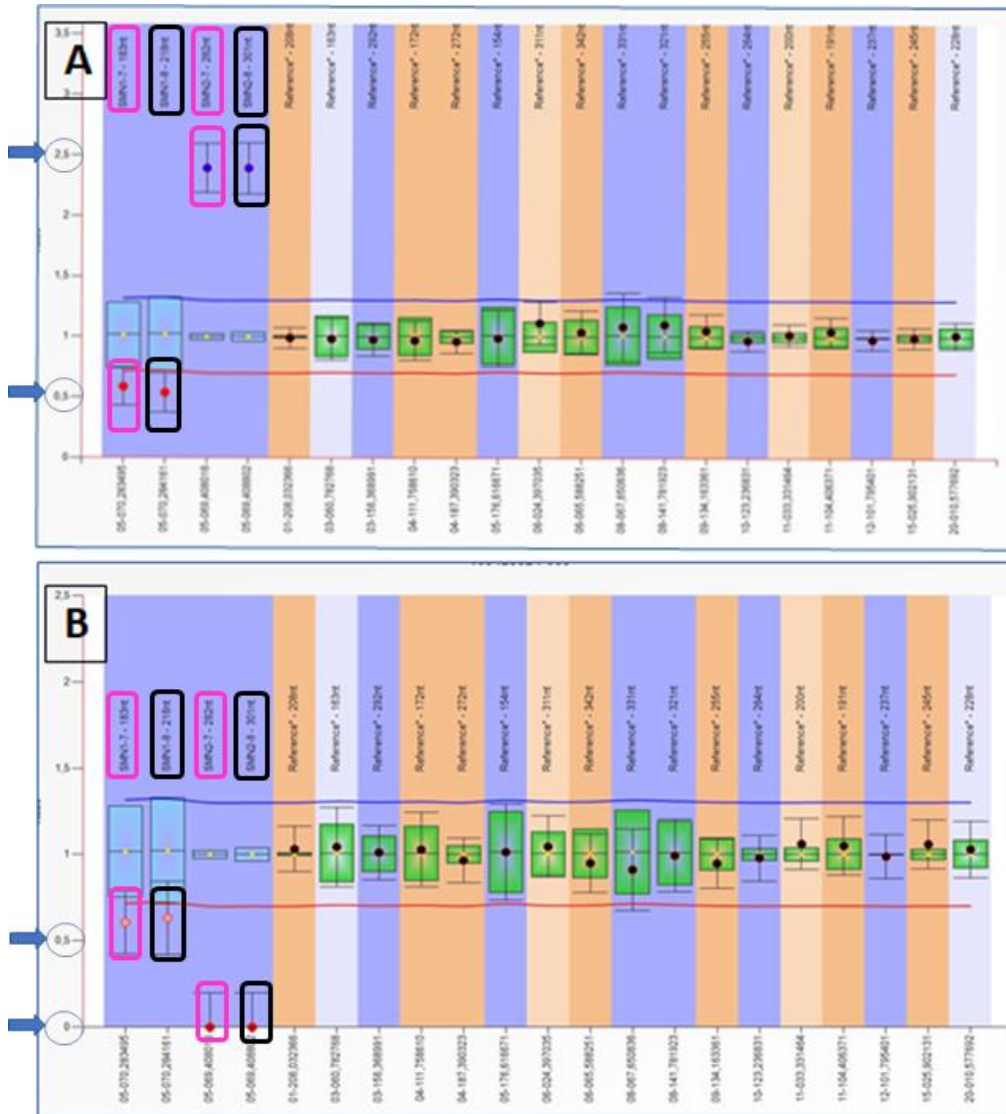


Figura 2. Resultado del MLPA del análisis del ADN de los progenitores, se observa en la figura A y B (ADN materno y paterno respectivamente) la pérdida del 50% de la dosis génica en los exones 7 y 8 del gen *SMN1*. Además, la figura A refleja una ganancia de dosis génica similar al del probando que confirmaría la herencia materna.

Figure 2. Result of the MLPA of the DNA analysis of both parents. Figure A (maternal DNA) reflects the 50% loss of gene dose in exons 7 and 8 of *SMN1* gene and gene dose gain similar to patient, therefore, maternal inheritance is confirmed. Figure B (paternal DNA) indicates 50% loss of gene dose in exons 7 and 8 of the *SMN1* gene.

Presentamos el caso de una niña de 4 meses con hipotonía y retraso madurativo, cribado metabólico normal y electromiografía con resultado compatible con AME. Se solicitó estudio genético para

We present the case of a female (4 months old) who presented hypotonia, developmental delay, normal metabolic screening and electromyography with a result compatible with SMA. The pediatrician requested the genetic diagnosis to confirm the disease

confirmar la enfermedad e iniciar el tratamiento intratecal.

El estudio de AME tipo I mediante MLPA resultó un método rápido y fiable para la confirmación del diagnóstico, identificación de portadores y poder iniciar el tratamiento de forma precoz.

and start the intrathecal treatment.

The study of AME type I through MLPA proved a quick and reliable way of confirming the diagnosis, specific treatment and identification of carriers.

Bibliografía/References:

1. Rashnonejad A, Onay H, Atik T, Atan Sahin O, Gokben S, Tekgul H, et al. Molecular Genetic Analysis of Survival Motor Neuron Gene in 460 Turkish Cases with Suspicious Spinal Muscular Atrophy Disease. *Iran J child Neurol.* 2016;10(4):30-5.
2. Spinraza | European Medicines Agency [Internet]. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/spinraza>
3. Fundación Atrofia Muscular Espinal España - FundAME [Internet]. [cited 2019 Mar 29]. Available from: <http://www.fundame.net/>
4. Ar Rochmah M, Awano H, Awaya T, Harahap NIF, Morisada N, Bouike Y, et al. Spinal muscular atrophy carriers with two SMN1 copies. *Brain Dev.* 2017;39(10):851-60.
5. Arnold WD, Kassar D, Kissel JT. Spinal muscular atrophy: Diagnosis and management in a new therapeutic era. *Muscle Nerve.* 2015;51(2):157-67.
6. Sproule DM, Punyanitya M, Shen W, Dashnaw S, Martens B, Montgomery M, et al. Muscle Volume Estimation by Magnetic Resonance Imaging in Spinal Muscular Atrophy. *J Child Neurol.* 2011;26(3):309-17.