

# Herramientas ómicas en el diagnóstico de enfermedades ultra-huérfanas: Síndrome de haploinsuficiencia MED13L

[Omics tools in the diagnosis of ultra-orphan ultra-orphan diseases: MED13L haploinsufficiency syndrome]

Isabela Vergara-Sanint<sup>1</sup>, María Carolina Falla-Martínez<sup>1</sup>, Lina Johana Moreno-Giraldo<sup>1,2,3</sup>

1) Universidad Libre Seccional, Grupo de Investigación en Pediatría GRINPED, Cali, Colombia;

2) Programa Enfermedades Huérfanas, Clínica Nueva de Cali, Colombia; 3) Universidad Libre Cali, Colombia ;

Correspondencia: Isabela Vergara-Sanint / Email: isabelaversan@gmail.com

**Recibido:** 12 de enero de 2023

**Aceptado:** 27 de febrero de 2023

**Publicado:** 30 de abril de 2023

**Palabras clave:** Síndrome MED13L, variantes, tecnologías de última generación, análisis bioinformático.

**Keywords:** MED13L syndrome, variants, new generation technologies, bioinformatic analysis.

**Aspectos bioéticos:** Los autores declaran no tener conflictos de interés asociados a este manuscrito y obtención de consentimiento informado de los pacientes. Este trabajo fue aprobado por el comité de ética institucional.

**Financiamiento:** Los autores declaran no haber recibido financiamiento externo asociado a este trabajo.

**Reproducción:** Artículo de acceso libre para uso personal e individual. Sujeto a derechos de reproducción.

**Datos:** Los datos crudos anonimizados serán compartidos a solicitud por el autor correspondiente.

**DOI:** 10.37980/im.journal.rspp.20232142

## Resumen

**Introducción:** Las tecnologías de nueva generación han permitido un avance en el diagnóstico y abordaje de enfermedades genéticas ultra-huérfanas ofreciendo mayores posibilidades en tratamiento y consejería genética a las familias. El síndrome de MED13L afecta la proteína MED13L, importante en el desarrollo temprano del corazón, células nerviosas del cerebro y estructuras de la cara. Sus variantes pueden ser las causantes del síndrome de retraso del desarrollo y dismorfia facial con o sin defectos cardíacos. **Presentación de caso:** Paciente de 4 años, historia de hipotonía generalizada, retraso global del neurodesarrollo, discapacidad cognitiva y rasgos dismórficos, dada la complejidad clínica se realizó secuenciación del exoma clínico completo con análisis de ADN mitocondrial y variación en el número de copias (CNV) con detección de alteración del Gen MED13L variante c.2965C>G (p.Pro989Ala), significado clínico incierto, con posterior implementación de tecnologías de última generación, y reclasificación de la variante a patogénica a través del análisis bioinformático, lo cual permitió llegar al origen específico de la patología. **Conclusiones:** Se resalta la importancia del uso de tecnologías de última generación y herramientas bioinformáticas en el diagnóstico específico de las enfermedades complejas. Las nuevas tecnologías actúan como una herramienta de ayuda para instaurar un protocolo dirigido, un asesoramiento genético y así evaluar el riesgo de heredabilidad, pronóstico y perspectivas terapéuticas de las patologías genéticas ultra-huérfanas.

## Abstract

**Introduction:** New generation technologies have allowed an advance in the diagnosis and approach of ultra-orphan genetic diseases, to offer greater possibilities in treatment and genetic counseling to families. MED13L syndrome affects the MED13L protein, which is important in early development of the heart, nerve cells in the brain, and structures of the face. Its variants can be the cause of developmental delay syndrome and facial dysmorphism with or without heart defects. **Case presentation:** 4-year-old patient with history of generalized hypotonia, global neurodevelopmental delay, cognitive disability and dysmorphic features, given the clinical complexity a complete clinical exome sequencing was performed with analysis of mitochondrial DNA and copy number variation (CNV) with detection of alteration of the MED13L gene variant c.2965C>G (p.Pro989Ala), uncertain clinical significance, with subsequent implementation of new generation technologies and reclassification of significance to pathogenic variant through bioinformatic analysis, which allowed reaching the a specific origin of the pathology. **Conclusions:** The importance of the use of new generation technologies and bioinformatic tools in the specific diagnosis of complex diseases is highlighted. New technologies act as a tool to help establish a targeted protocol, genetic counseling and thus assess the risk of heritability, prognosis, and therapeutic perspectives of ultra-orphan diseases.

## Introducción

El avance en las tecnologías de nueva generación para estudio de las enfermedades genéticas ha permitido abarcar una amplia gama de diagnósticos que permiten un mejor abordaje en estas entidades para así ofrecer mayores posibilidades en tratamiento y consejería genética a las familias [1].

Si bien la definición de enfermedad huérfana varía de acuerdo con la tasa de prevalencia poblacional, en Colombia, según Artículo 140 de la Ley 1438 de 2011, se definen las enfermedades huérfanas como: "aquellas crónicamente debilitantes, graves, que amenazan la vida y con una prevalencia menor de 1 por cada 5.000 personas, comprenden, las enfermedades raras, las ultra- huérfanas y olvidadas" y las ultra- huérfanas con una prevalencia de 0.1-9 por cada 100.000 personas [2]. Dada su baja prevalencia, constituyen enfermedades de alto costo para los diferentes sistemas de salud y surge la necesidad de metodologías diagnósticas cada vez más complejas para lograr establecer una mayor precisión en intervenciones, tratamientos, etc.

La secuenciación completa del exoma es útil en los pacientes que padecen enfermedades con gran heterogeneidad genética o que presenten un fenotipo complejo donde la clínica no es lo suficientemente característica de una variante o de uno o varios genes específicos, por lo que se ha propuesto como primera prueba diagnóstica en trastornos del neurodesarrollo [3].

Las variantes heterocigotas en el gen MED13L que resultan en una pérdida de la función y con menor frecuencia, variantes sin sentido que afectan la proteína MED13L son causas de discapacidad intelectual asociada a rasgos faciales característicos con o sin defectos cardíacos [4].

Se presenta caso de síndrome de MED13L en un paciente con hipotonía generalizada, retraso global del neurodesarrollo, discapacidad cognitiva y rasgos dismórficos en quien dada la complejidad clínica se realizó secuenciación del exoma clínico completo con análisis de ADN mitocondrial y variación en el número de copias (CNV) con detección de alteración del Gen MED13L variante c.2965C>G (p.Pro989Ala), tipo de variante sin sentido, heterocigosis, significado clínico incierto, que dada la

complejidad del cuadro sin diagnóstico específico, se realizó el uso de tecnologías de última generación, con posterior implementación de tecnologías de última generación, y reclasificación de la significancia de la variante a patogénica a través del análisis bioinformático, lo cual permitió establecer la correlación fenotipo-endotipo-genotipo, las cuales permitieron llegar al origen específico de la patología.

## Caso clínico

Paciente masculino de 4 años de edad, madre de 25 años, nacido a las 42 semanas de gestación, producto del primer embarazo, con peso de 3710 gr y talla de 52 cm, adecuados para la edad gestacional, padres no consanguíneos, con diagnóstico clínico y paraclínico de hipotonía congénita, hipotiroidismo congénito, alteración del neurodesarrollo con hitos asociados a sostén cefálico a los 4 meses, sedestación a los 6 meses, se giró hacia ambos lados a los 7 meses pero con posterior retroceso en la ganancia de estos hitos. Adicionalmente con historia a la edad de 2 años de cardiomegalia y pericarditis idiopática que requirió pericardiocentesis el 06.03.2019 con cultivo de líquido pericárdico de la misma fecha negativo y con ecocardiograma de control que evidenció resolución, sin alteraciones cardíacas estructurales o funcionales, además de infección de vías urinarias recurrente por *Escherichia coli* con patrón de resistencia betalactamasa de espectro extendido y desnutrición proteico -calórica.

Al examen físico en el momento de la valoración se encontró un paciente con peso de 17kg, talla de 100cm y perímetro cefálico de 52 cm, con interpretación de acuerdo a las tablas de crecimiento de la Organización Mundial de la Salud (OMS) con Peso para la edad normal con Z score de -0.12, Talla para la edad con riesgo de talla baja con Z score de -1.46, Peso para la talla normal con Z score de 1.37 y Perímetro cefálico normal con Z score de 1.5; retraso global de neurodesarrollo, boca de carpa con filtrum nasal corto, hipotonía generalizada, control cefálico parcial, se giraba hacia ambos lados, boca arriba y boca abajo, control del tronco no cuadrúpedo, reflejos osteotendinosos ++/++++, sin espasticidad y con escaso lenguaje verbal. Resonancia magnética nuclear cerebral sin

Tabla 1. Resultados de análisis bioinformático mediante uso de software de predicción.

Cambio Proteico	Provean	Mutation Taster	UMD- Predictor	POLYPHEN	HSF	SIFT
p.Pro989Ala	Patogénica	Patogénica	Patogénica	Benigna	Patogénica	Patogénica

alteraciones y con potenciales evocados visuales anormales por latencia bilateral prolongada y diferencia interocular significativa.

Con estudios de aminoácidos en sangre por Cromatografía líquida desnaturalizante de alto rendimiento (HPLC) se diagnosticó una hiperfenilalaninemia 115µM/L (valores de referencia 30-80 µM/L) con función renal y hepática conservada con estado metabólico consistente en acidosis metabólica compensada e hiperlactatemia leve en 2.57mmol/L, con resto de paraclínicos en rangos de normalidad por lo que se solicitó estudio molecular de genes para fenilalaninemia con resultado que no reportó variantes patogénicas. Ante la importancia de un diagnóstico específico en un paciente con manifestaciones clínicas complejas, sin antecedentes familiares de relevancia, se solicitó el estudio más costo-efectivo consistente en un Exoma clínico mediante tecnología de secuenciación de nueva generación (NGS) + análisis de deleciones y duplicaciones (CNV) y análisis de ADN mitocondrial el cual arrojó los siguientes resultados: Gen MED13L variante c.2965C>G (p.Pro989Ala), tipo de variante sin sentido, heterocigosis, significado clínico incierto. Referencia rs751953837. MED13L (OMIM\*608771) asociado con el síndrome de retraso del desarrollo y dismorfia facial con o sin defectos cardíacos (MIM # 616789).

Posteriormente, mediante un análisis bioinformático mediante tecnología IN SÍLICO y búsqueda en bases de datos mundiales asociadas a enfermedades genéticas afines, no se encontró la variante en, Clinvar pero se ha reportado en el buscador Varsome y a través de la utilización de los diversos software de predicción: de exones como : Exac, Provean, OMIM, Orphanet, SIFT (Sorting Intolerant From Tolerant), Polyphen, Mutation Taster, UMD- Predictor, Exome Variant Server, LOVD e intrones como Human Splicing Finder, Human Genome Variation Society, Alamut® Visual 2.4 y GeneSplicer, se llega a la conclusión de determinar que la variante posee una significancia clínica patogénica, ver tabla 1 y figura 1.

Análisis	Resultado
MutationTaster dbNSFP v4.2	Disease causing
PROVEAN dbNSFP v4.2	Damaging
SIFT dbNSFP 4.2	Damaging

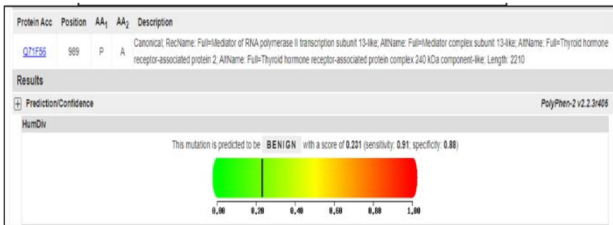


Figura 1. Resultados de análisis bioinformático mediante uso de software de predicción

Discusión

Los trastornos del neurodesarrollo, la discapacidad intelectual y anomalías congénitas comprenden más de 3000 entidades clínicas diferentes y abarcan un grupo heterogéneo de condiciones que impactan el desarrollo cerebral y las funciones de la vida diaria [5,6]. Estas, en conjunto con otras enfermedades genéticas complejas, permanecen desconocidas a pesar de las ayudas diagnósticas extensas. La falta de un diagnóstico específico conlleva a una limitación en el suministro de un tratamiento dirigido y dificultades para llevar a cabo un adecuado asesoramiento genético a las familias [1].

La secuenciación genómica con el uso paralelo de técnicas de secuenciación de nueva generación, ofrecen una alternativa importante para identificar nuevas bases genéticas de las enfermedades ya que mejoran las oportunidades de obtener un diagnóstico molecular para este tipo de entidades [5,7].

Los modelos computacionales para el análisis de los mecanismos de expresión génica (bioinformática) son una disciplina científica emergente en las ciencias biomédicas en las que se

implica el uso de ciencias informáticas para recopilar, almacenar y diseminar datos e información biológicos como secuencias de ADN, aminoácidos, proteínas, estructuras tridimensionales, interacciones génicas y vías metabólicas y anotaciones sobre esas secuencias [8]. Con estas tecnologías es posible analizar las variantes encontradas en las enfermedades, secuencia y estructura de los genes identificados, características de los genes implicados en enfermedades conocidas, redes de regulación génica como también las interacciones proteína-proteína, que permite establecer un diagnóstico específico y así un tratamiento dirigido, establecer pronóstico, seguimiento y consejería genética a la familia [9].

El gen MED13L codifica para la subunidad del complejo mediador mayor que funciona con factores de transcripción de ADN y de ARN polimerasa II y desempeña un papel en varias vías de señalización química intracelulares y está involucrada en el desarrollo temprano del corazón, células nerviosas del cerebro y estructuras de la cara [8]. Está localizado en el cromosoma 12 y se compone de 31 exones y 310kb. En cuanto a la genética molecular se considera el causante del síndrome de retraso del desarrollo y dismorfia facial con o sin defectos cardíacos (MIM # 616789), de herencia autosómica dominante [8]. Los fenotipos del síndrome de MED13L son variables y pueden ir desde dimorfismos severos, retraso global del desarrollo y cardiopatías congénitas complejas, otros pacientes no muestran un fenotipo cardíaco reconocible [10].

La discapacidad cognitiva relacionada al MED13L, es causada por deleciones completas del gen o por variantes intragénicas de pérdida de la función [7,11]. Las variantes de sin sentido, como la del caso en mención, han sido reportadas en un número limitado de pacientes. Mathiesen et al, 2019 de un total de 69 pacientes revisados con variantes patogénicas o probablemente patogénicas de Novo del MED13L, 12 pacientes fueron variantes sin sentido y 4 más no descritas en este artículo por falta de información acerca del fenotipo. En el caso de nuestro paciente y como en los casos descritos, hay retraso del neurodesarrollo, discapacidad intelectual y retraso en el lenguaje, al igual que la hipotonía (vista en el 70% de los pacientes). Nuestro paciente tenía anomalías oftalmológicas que también fueron descritas en el 33% de los casos en mención. El análisis 8 de estos pacientes fue realizado con microarray cromosómico, secuenciación de exoma trío y simple y secuenciación de Sanger [7].

En el contexto de nuestro paciente el diagnóstico se realizó mediante una secuenciación exómica clínica completa con CNV el cual determinó una variante inicialmente clasificada como de significado incierto, con posterior reclasificación a través de la bioinformática clínica mediante búsqueda en bases de datos (biobancos) y software de predicción de tecnología in silico por medio de la cual se estableció la correlación fenotipo-endotipo-genotipo. Enfermedades ultra-huérfanas e importancia del uso de esta herramienta en ellas.

## Conclusión

Nuestros hallazgos nos conducen a resaltar la importancia del uso de tecnologías de última generación como lo es el exoma clínico completo y herramientas bioinformáticas en el diagnóstico específico de las enfermedades complejas, en nuestro caso, un síndrome de MED13L cuyo estudio inicial nos indicó una variante de significado incierto, pero al realizar una análisis de mayor profundidad con las tecnologías de bioinformática, se encontró la variante como patogénica, explicando la relación fenotipo-endotipo-genotipo de nuestro paciente. De esta manera, las nuevas tecnologías actúan como una herramienta de ayuda para instaurar un protocolo dirigido, un asesoramiento genético y así evaluar el riesgo de heredabilidad, pronóstico y perspectivas terapéuticas de las patologías genéticas complejas.

## Referencias

- [1] Kanzi AM, San JE, Chimukangara B, Wilkinson E, Fish M, Ramsuran V, de Oliveira T. Next Generation Sequencing and Bioinformatics Analysis of Family Genetic Inheritance. *Front Genet.* 2020 Oct 23; 11:544162. doi: 10.3389/fgene.2020.544162. PMID: 33193618; PMCID: PMC7649788.
- [2] Franco-Giraldo Á. La última reforma del sistema general de seguridad social en salud Colombiano [The latest reform of the Colombian healthcare-related social security system]. *Rev Salud Publica (Bogota).* 2012 Oct;14(5):865-77. Spanish. PMID: 24652365.
- [3] Rubio S, Pacheco-Orozco RA, Gómez AM, Perdomo S, García-Ribledo R. Secuenciación de nueva generación (NGS) de ADN: presente y futuro en la práctica clínica. *Universitas médica* 2020; 61(2): 1-15. doi: 10.11144/Javeriana.umed61-2.sngs.

- [4] Dawidziuk M, Kutkowska-Kazmierczak A, Gawlinksi P et al. The MED13L haploinsufficiency syndrome associated with de novo nonsense variant (P. GLN1981\*). *J Mother Child.* 2021 Apr 30;24(3):32-36. doi: 10.34763/jmotherandchild.20202403. 2021.d-20-00003. PMID: 33930262; PMCID: PMC8258838.
- [5] Nambot S, Thevenon J, Kuentz P et al. Clinical whole-exome sequencing for the diagnosis of rare disorders with congenital anomalies and/or intellectual disability: substantial interest of prospective annual reanalysis. *Genet Med.* 2018 Jun;20(6):645-654. doi: 10.1038/gim.2017.162. Epub 2017 Nov 2. PMID: 29095811.
- [6] Srivastava S, Love-Nichols JA, Dies KA et al. Meta-analysis and multidisciplinary consensus statement: exome sequencing is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with neurodevelopmental disorders. *Genet Med.* 2019 Nov;21(11):2413-2421. doi: 10.1038/s41436-019-0554-6. Epub 2019 Jun 11. Erratum in: *Genet Med.* 2020 Oct;22(10):1731-1732. PMID: 31182824; PMCID: PMC6831729.
- [7] Topping PM, Larsen J, Brasch-Andersen C et al. Is MED13L-related intellectual disability a recognizable syndrome? *Eur J Med Genet.* 2019 Feb;62(2):129-136. doi: 10.1016/j.ejmg.2018.06.014. Epub 2018 Jun 27. PMID: 29959045. Mediator complex subunit 13-Like; MED13L. <https://www.omim.org/entry/608771>
- [8] Orlov YL, Baranova AV, Tatarinova TV. Bioinformatics Methods in Medical Genetics and Genomics. *Int J Mol Sci.* 2020 Aug 28;21(17):6224. doi: 10.3390/ijms21176224. PMID: 32872128; PMCID: PMC7504073.
- [9] Adegbola A, Musante L, Callewaert B et al. Redefining the MED13L syndrome. *Eur J Hum Genet.* 2015 Oct;23(10):1308-17. doi: 10.1038/ejhg.2015.26. Epub 2015 Mar 11. PMID: 25758992; PMCID: PMC4592099.
- [10] Smol T, Petit F, Piton A et al. MED13L-related intellectual disability: involvement of missense variants and delineation of the phenotype. *Neurogenetics.* 2018 May;19(2):93-103. doi: 10.1007/s10048-018-0541-0. Epub 2018 Mar 6. PMID: 29511999.