

TARJETA GENÉTICA DE UTILIDAD CLÍNICA

Tarjeta genética de utilidad clínica para: complejo de
esclerosis tuberosa (TSC1, TSC2)

Karin Mayer*, 1, Christa Fonatsch2, Katharina Wimmer3, Ans MW van den Ouweland4 y
Anneke JA Maat-Kievit4

Revista Europea de Genética Humana (2014) 22, doi:10.1038/ejhg.2013.129; publicado en línea el 12 de junio de 2013

1. CARACTERÍSTICAS DE LA ENFERMEDAD

1.1 Nombre de la enfermedad (sinónimos)

Complejo de esclerosis tuberosa (TSC), enfermedad de Bourneville-Pringle.

1.2 OMIM# de la enfermedad 191100,
613254.

1.3 Nombre de los genes o segmentos de ADN/cromosomas analizados TSC1, TSC2.

1.4 OMIM# del gen(es) 605284,
191092.

1.5 Espectro mutacional Mutaciones

sin sentido, sin sentido y en el sitio de empalme; inserciones, deleciones, reordenamientos
genómicos, microdeleciones, diferencias intragénicas de dosis genética/cambios en el número
de copias (duplicaciones o deleciones de uno o más exones).

Actualmente, se conocen más de 450 mutaciones patógenas diferentes para TSC1 y más
de 1300 para TSC2, respectivamente. La gran mayoría (80%) de las mutaciones de TSC1 son
truncantes, incluyendo mutaciones de desplazamiento del marco de lectura, mutaciones sin
sentido y mutaciones de empalme. Los cambios de sentido erróneo representan el 17% y las
grandes deleciones genómicas son poco frecuentes (3%). Las mutaciones truncantes (65%)
también son el tipo de mutación más común en el gen TSC2. A diferencia del gen TSC1, las
mutaciones de sentido erróneo (26%) y las grandes deleciones genómicas (6%) son mucho
más frecuentes. Las mutaciones publicadas en la literatura y las mutaciones presentadas sin
publicación están disponibles en la base de datos de esclerosis tuberosa.¹

1.6 Métodos analíticos Para la

detección de mutaciones puntuales y pequeñas inserciones/deleciones: análisis completo de
todas las regiones codificantes y secuencias de intrones vecinas (sitios de empalme) en el
ADN genómico, mediante análisis de secuencia u otras técnicas con una sensibilidad
comparable al análisis de secuencia.

Para la detección de deleciones y duplicaciones intragénicas con diferencias de dosis
génica: análisis de ambos genes, por ejemplo, mediante MLPA (amplificación de sonda
dependiente de ligación múltiple) o PCR cuantitativa.

Para la detección de reordenamientos cromosómicos, se pueden realizar análisis de
oligonucleótidos y matrices de SNP. Una excepción son las microdeleciones, en particular el
síndrome de genes contiguos TSC2/PKD1, que pueden detectarse mediante hibridación in situ
con fluorescencia (FISH).²

También se pueden utilizar enfoques de secuenciación de próxima generación.

1.7 Validación analítica: Análisis

de secuencia bidireccional u otros métodos con una sensibilidad comparable a la del análisis
de secuencia; confirmación de los resultados mediante una segunda extracción de ADN o un
segundo método; confirmación de deleciones cromosómicas intragénicas o mayores mediante
un segundo método, por ejemplo, PCR cuantitativa, PCR de largo alcance y FISH. Las
variantes de significado incierto deben investigarse con mayor profundidad, al menos mediante
análisis in silico y, si es posible, mediante análisis de segregación. En algunos casos
(especialmente para algunas variantes de sentido erróneo y de sitio de empalme), puede que
aún no esté claro si estas variantes son patógenas o variantes neutras raras.

Se pueden utilizar pruebas funcionales para ayudar a resolver si es probable que estas
variantes causen enfermedades.³ Las variantes intrónicas, los cambios sin sentido y los
cambios sinónimos que se sospecha que afectan el empalme del ARN deben verificarse
investigando una muestra de ARN, aplicando RT-PCR, por ejemplo.

1.8 Frecuencia estimada de la enfermedad (incidencia al nacer ("prevalencia al nacer") o
prevalencia poblacional)

Se estima que la incidencia al nacer es de 1:6000.⁴ Las cifras de prevalencia varían de 0,7 a
3,8 por 100 000 habitantes en el Reino Unido⁵ suponiendo que no hay diferencias en otros
grupos étnicos.

1.9 En su caso, prevalencia en el grupo étnico investigado

Persona

No aplicable.

1.10 Configuración de diagnóstico

	Sí	No.
A. Diagnóstico (diferencial) B.	2	&
Pruebas predictivas C.	2	&
Evaluación de riesgos en familiares	2	&
D. Prenatal	2	&

1Centro de Genética Humana y Diagnóstico de Laboratorio, Departamento de Genética Molecular, Dr. Klein, Dr. Rost y colegas, Martinsried, Alemania; 2Consejo Universitario,
Universidad Médica de Innsbruck, Innsbruck, Viena, Austria; 3División de Genética Humana, Departamento de Genética Médica, Farmacología Molecular y Clínica, Universidad
Médica de Innsbruck, Innsbruck, Austria; 4Departamento de Genética Clínica, Centro Médico Erasmus, Róterdam, Países Bajos
*Correspondencia: Dr. K Mayer, Centro de Genética Humana y Diagnóstico de Laboratorio, Departamento de Genética Molecular, Dr. Klein, Dr. Rost y colegas, Calle Lochhamer
29, D-82152 Martinsried, Alemania. Tel.: +49 89 895578 0; Fax: +49 89 895578 780; Correo electrónico: Karin.Mayer@medizinische-genetik.de



Comentario:

Las pruebas genéticas prenatales, que incluyen el análisis de corpúsculos polares y las pruebas genéticas preimplantacionales, están disponibles para familias con una causa genética conocida de CET. Advertencia: si se presenta mosaicismo (germinal)⁶ en uno de los progenitores de un paciente si ambos dan negativo en la prueba de la mutación constitutiva, se debe ofrecer la realización de pruebas prenatales para nuevos embarazos y la posibilidad de realizar pruebas a otros hermanos del paciente.

2. CARACTERÍSTICAS DE LA PRUEBA

Genotipo o enfermedad A: Verdaderos positivos		C: Falso negativo	
B: Falsos positivos		D: Verdadero negativo	
Presente	Ausente		
Prueba			
Positivo A	B	Sensibilidad:	$A/(A + C)$
		Especificidad:	$D/(D + B)$
C negativo	D	Valor predictivo positivo:	$A/(A + B)$
		Valor predictivo negativo:	$D/(C + D)$

2.1 Sensibilidad analítica (proporción

de pruebas positivas si el genotipo está presente)

Suponiendo una prevalencia del 90 % para mutaciones puntuales y de hasta el 10 % para deleciones/duplicaciones intragénicas, microdeleciones y reordenamientos, se detectarán mutaciones de la línea germinal en el 80-85 % de los casos⁷ si ambos genes se analizan mediante múltiples métodos, incluyendo un cribado de deleciones/duplicaciones. Las mutaciones de empalme raras localizadas en la profundidad de los intrones o las mutaciones que afectan la expresión del ARNm (por ejemplo, en las regiones promotoras) no se detectan con los diagnósticos actuales basados en ADN, pero si se pueden identificar con métodos basados en ARN⁸. Otras mutaciones no detectadas por métodos diagnósticos rutinarios, como la secuenciación de Sanger y la MLPA, se pueden identificar mediante la aplicación de enfoques de secuenciación de nueva generación^{9,10}.

2.2 Especificidad analítica

(proporción de pruebas negativas si el genotipo no está presente)

Casi el 100%.

2.3 Sensibilidad clínica

(proporción de pruebas positivas si la enfermedad está presente)

La sensibilidad clínica puede depender de factores variables como la edad o los antecedentes familiares o de investigaciones clínicas incompletas realizadas. En tales casos se debe hacer una declaración de carácter general, aunque la cuantificación sólo pueda hacerse caso por caso.

La sensibilidad clínica alcanza el 70-85% si se cumplen los criterios diagnósticos de Roach¹¹ (correspondientes a 'TSC definitivo'), dependiendo de la aplicación de uno o más métodos analíticos.¹²⁻¹⁵ Debido a la expresividad clínica variable, se esperan sensibilidades más bajas en los fenotipos correspondientes a 'TSC probable' y 'TSC posible'.

2.4 Especificidad clínica

(proporción de pruebas negativas si la enfermedad no está presente)

La especificidad clínica puede depender de factores variables como la edad o los antecedentes familiares o el número de investigaciones clínicas realizadas. En tales casos se debe hacer una declaración de carácter general, aunque la cuantificación sólo pueda hacerse caso por caso.

La especificidad clínica es posiblemente del 100%.

2.5 Valor predictivo clínico positivo (riesgo a lo largo

de la vida de desarrollar la enfermedad si la prueba es positiva)

Dado que la penetrancia es de casi el 100%, el valor predictivo clínico es del 100%. Sin

embargo, la expresividad clínica puede ser muy variable.¹⁶

2.6 Valor predictivo clínico negativo (probabilidad de

no desarrollar la enfermedad si la prueba es negativa)

Suponga que existe un mayor riesgo en función de los antecedentes familiares de una persona no afectada. persona. Puede ser necesario considerar la heterogeneidad alélica y del locus.

Se había examinado el caso índice de esa familia: si se identifica la mutación patogénica en el paciente índice y el resultado es negativo en otro miembro de la familia, entonces el valor predictivo clínico para ese miembro de la familia es casi del 100%.

El caso índice de esa familia no se había sometido a la prueba: 85 %. Esta pregunta surge en niños que aún no presentan síntomas clínicos o en adultos con síntomas clínicos mínimos, por lo que el diagnóstico no puede realizarse únicamente con criterios clínicos.

3. UTILIDAD CLÍNICA 3.1

Diagnóstico (diferencial): La persona examinada está clínicamente afectada (Se debe responder si en 1.10 se marcó 'A')

3.1.1 ¿Se puede realizar un diagnóstico mediante otro método que no sea una prueba genética?

No & (continuar con 3.1.4)

Sí 2

Clínicamente	2
Imágenes	2
Endoscopia	&
Bioquímica	&
Electrofisiología	&

Otro (por favor describa) A través de investigaciones clínicas y de imágenes, se ha Se puede realizar un diagnóstico definitivo de CET si se cumplen los criterios diagnósticos. El diagnóstico puede ser «probable» o «posible», debido a la expresividad variable de los signos clínicos, la edad temprana o Mosaicismo. En este último caso, se puede llegar al diagnóstico si se dispone de ADN para la prueba de CET del tejido en cuestión, en caso de mosaicismo segmentario o somático, mediante cirugía o biopsia. Incluso con manifestaciones clínicas leves (p. ej., solo angiomiolipoma [LMA] renal o tubérculos corticales en el cerebro), el diagnóstico de CET requiere la detección de una mutación causal.¹⁷⁻¹⁹ Si los criterios diagnósticos de CET no son definitivos en un progenitor u otro familiar de primer grado de una persona afectada con una mutación de CET identificada, el análisis de mutaciones puede confirmar el diagnóstico y orientar el asesoramiento genético.

3.1.2 Describir la carga que suponen los métodos diagnósticos alternativos para el paciente. Los métodos

diagnósticos alternativos no suponen una carga adicional para el paciente. Cuando se sospecha CET en un paciente, se requieren estudios clínicos y de imagen completos para comprender su estado clínico y orientar el seguimiento posterior. Debido a la variabilidad de la CET, se requieren estudios de diferentes sistemas orgánicos, como una exploración neurológica, una resonancia magnética cerebral, una exploración cardiológica, una ecografía cardíaca, una exploración oftalmológica, una exploración dermatológica y una ecografía o tomografía computarizada abdominal.^{18,19}

Existe una carga extra para los familiares que quieren conocer su riesgo

En ausencia de una mutación TSC1 o TSC2 en el paciente, los padres u otros familiares de primer grado del paciente deben someterse al protocolo de investigación mencionado para descartar o confirmar el diagnóstico en la medida de lo posible. Solo en aproximadamente un tercio de los casos, las pruebas clínicas de los padres definen el estado clínico y el seguimiento del progenitor afectado. Además, no se pueden ofrecer pruebas genéticas prenatales ni preimplantacionales en ausencia de una mutación. Si bien se requiere sangre para una prueba de ADN, esta resulta menos incómoda y requiere menos tiempo para los familiares. Advertencia: mosaicismo (germinal).

Durante el diagnóstico inicial, así como tras la confirmación molecular del diagnóstico clínico, se requieren estudios clínicos y de imagen a intervalos regulares. La duración de estos intervalos depende de los hallazgos clínicos.

3.1.3 ¿Cómo se puede evaluar la relación coste-eficacia de los métodos de diagnóstico alternativos?

Los autores suponen que es más barato excluir a los familiares en riesgo mediante una prueba de ADN que utilizando el protocolo completo de investigación clínica.

3.1.4 ¿El resultado de una prueba genética influirá en el manejo de la enfermedad?

No &	
Si 2	
Terapia (por favor describa)	Se cree que la terapia con inhibidores de mTOR (rapamicina y certican) es más eficaz si se altera la transducción de señales.20,21 Este es aparentemente el caso de una mutación TSC1 o TSC2. Las mujeres con una mutación TSC2 tienen una Mayor riesgo de desarrollar linfangioleiomiomatosis (LAM). Por lo tanto, se recomienda precaución al implementar anticonceptivos hormonales.22 Las correlaciones
Pronóstico (por favor describa)	genotipo-fenotipo están evolucionando progresivamente.14,15,23 Las diferentes manifestaciones orgánicas, según el gen TSC involucrado, requieren un seguimiento diferente. Por lo tanto, una LAM pulmonar solo se presenta en mujeres con una mutación TSC2. Aunque existe una variación considerable, en general, las personas con una mutación TSC2
	Las personas con una mutación TSC2/PKD1 tienen un pronóstico más grave que quienes presentan una mutación TSC1. Las personas con una delección contigua de TSC2/PKD1 son propensas a desarrollar enfermedad renal terminal (ESRD) a una edad temprana. Algunos estudios indican que algunas mutaciones de sentido erróneo de TSC2...
	Las mutaciones se asocian con una enfermedad algo más leve. fenotipo clínico.24 El
Gerencia (por favor describa)	seguimiento interdisciplinario regular se adapta a las manifestaciones clínicas particulares. La duración del seguimiento interdisciplinario La valvulopatía depende de los hallazgos clínicos. Se recomienda la integración en una clínica multidisciplinaria de TSC.

3.2 Entorno predictivo: La persona examinada no está afectada clínicamente, pero tiene un mayor riesgo según sus antecedentes familiares (se debe responder si en 1.10 se marcó 'B')

3.2.1 ¿El resultado de una prueba genética influirá en el estilo de vida y la prevención?

Si el resultado de la prueba es positivo (por favor describa):

Se requieren estudios de seguimiento específicos de los sistemas orgánicos potencialmente involucrados en la CET a intervalos regulares. La duración de estos intervalos depende de los hallazgos clínicos y del protocolo. El diagnóstico temprano puede permitir el inicio temprano del tratamiento y/o la vigilancia.

Las opciones de tratamiento pueden afectar el estilo de vida. Se pueden ofrecer pruebas genéticas prenatales o preimplantacionales debido al riesgo del 50 % para el feto/embrión.

Si el resultado de la prueba es negativo (por favor, descríbalos):

No se requieren estudios de control si se ha descartado una mutación familiar. En caso de molestias o síntomas asociados a la CET, se considera útil la exploración clínica. Se pueden ofrecer pruebas prenatales debido al riesgo de mosaico germinal del 1-2% en el feto.

3.2.2 ¿Qué opciones en términos de estilo de vida y prevención tiene una persona en riesgo si no se ha realizado una prueba genética (por favor describa)?

Seguimiento interdisciplinario regular de los sistemas de órganos potencialmente involucrados en la CET.

3.3 Evaluación del riesgo genético en familiares de una persona enferma (Se debe responder si en el punto 1.10 se marcó 'C')

3.3.1 ¿El resultado de una prueba genética resuelve la situación genética de esa familia?

Sí, en la mayoría de los casos, aunque no se puede excluir el mosaicismo en los padres.

3.3.2 ¿Puede una prueba genética en el paciente índice salvar pruebas genéticas o de otro tipo en miembros de la familia?

No.

3.3.3 ¿Un resultado positivo de una prueba genética en el paciente índice permite realizar una prueba predictiva en un miembro de la familia?

Sí.

3.4 Diagnóstico prenatal (Se debe responder si en 1.10 se marcó 'D')

3.4.1 ¿Un resultado positivo de una prueba genética en el paciente índice permite realizar un diagnóstico prenatal?

Sí, si uno de los padres es portador de la mutación o si un hermano es portador de la mutación en caso de mosaicismo de la línea germinal de uno de los padres.

4. SI CORRESPONDE, CONSECUENCIAS ADICIONALES DE LAS PRUEBAS. Por favor, asuma que el resultado de una prueba genética no tiene consecuencias médicas inmediatas. ¿Existe alguna evidencia de que una prueba genética sea, no obstante, útil para el paciente o sus familiares? (Por favor, descríbalas).

Sí. El diagnóstico genético contribuye significativamente a la clasificación de la enfermedad si los criterios diagnósticos por sí solos no son suficientes para asegurar el diagnóstico clínico. Debido a una actualización de los criterios diagnósticos, la identificación de una mutación genética de TSC1 o TSC2 en el ADN de tejido normal es suficiente para realizar un diagnóstico definitivo de CET.²⁵ Un diagnóstico definitivo es un prerrequisito para el pronóstico clínico, el tratamiento específico y la aceptación legal como persona con discapacidad grave. Para muchos pacientes, el diagnóstico genético definitivo de CET proporciona certeza, pone fin a una odisea diagnóstica y permite un asesoramiento genético preciso para los pacientes y sus familiares. Finalmente, el diagnóstico correcto de CET permite encontrar la organización de pacientes adecuada.

INCOMPATIBILIDAD

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

AGRADECIMIENTOS Este trabajo fue apoyado por EuroGentest2 (Unidad 2: 'Pruebas genéticas como parte de la atención médica'), una Acción de Coordinación bajo el 7PM (Número de acuerdo de subvención 261469), y la Sociedad Europea de Genética Humana.



1 Base de datos de esclerosis tuberosa: http://chromium.liacs.nl/LOVD2/TSC/home.php?select_db=TSC1 , http://chromium.liacs.nl/LOVD2/TSC/home.php?select_db=TSC2 2 Brook-Carter PT, Peral B, Ward CJ et al: Delección de los genes TSC2 y PKD1 asociada con la enfermedad renal poliquística infantil grave: un síndrome de genes contiguos. *Nat Genet* 1994; 8: 328.

3 Hoogveen-Westerveld M, Wentink M, van den Heuvel D et al: Evaluación funcional de variantes en los genes TSC1 y TSC2 identificados en individuos con complejo de esclerosis tuberosa. *Hum Mutat* 2011; 32: 424–435.

4 Osborne JP, Fryer A, Webb D: Epidemiología de la esclerosis tuberosa. *Ann NY Acad Sci* 1991; 615: 125–127.

5 O'Callaghan FJ, Shiell AW, Osborne JP, Martyn CN: Prevalencia de la esclerosis tuberosa Estimado mediante análisis de captura y recaptura. *Lancet* 1998; 351: 1490.

6 Roberts PS, Dabora S, Thiele EA, Franz DN, Jozwiak S, Kwiatkowski DJ: El mosaicismo somático es raro en padres no afectados de pacientes con esclerosis tuberosa esporádica. *J Med Genet* 2004;41:e69.

7 Kwiatkowski DJ: Complejo de esclerosis tuberosa. Genes, características clínicas y terapéutica, en: Kwiatkowski, Holets Whittemore, Thiele (eds.), 2010; cap. II.4, págs. 29–57.

8 Mayer K, Ballhausen W, Rott HD: El cribado de mutaciones de las regiones codificantes completas de los genes TSC1 y TSC2 mediante la prueba de truncamiento de proteínas (PTT) identifica defectos de empalme frecuentes. *Hum Mutat* 1999; 14: 401–411.

9 Qin W, Kozłowski P, Taillon BE et al.: La secuenciación ultraprofunda detecta una baja tasa de mutaciones en mosaico en el complejo de esclerosis tuberosa. *Hum Genet* 2010; 127: 573–582.

10 Mayer K, Wagner C, Scholz M, Datter S, Vogl I, Rost I: Diferentes enfoques de secuenciación de próxima generación detectan mutaciones en mosaico y mutaciones intrónicas profundas en el complejo de esclerosis tuberosa; Resumen P11.132 *Eur J Hum Genet* 2012; 20 (Supp1): 287.

11 Roach ES, Gomez MR, Northrup H: Conferencia de consenso sobre el complejo de esclerosis tuberosa: criterios de diagnóstico clínico revisados. *J Child Neurol* 1998; 13: 624–628.

12 Jones AC, Shyamsundar MM, Thomas MW et al: Análisis exhaustivo de mutaciones de TSC1 y TSC2 y correlaciones fenotípicas en 150 familias con esclerosis tuberosa. *Am J Hum Genet* 1999;64: 1305–1315.

13 Dabora SL, Jozwiak S, Franz DN et al.: El análisis mutacional en una cohorte de 224 pacientes con esclerosis tuberosa indica una mayor gravedad de la enfermedad por TSC2, en comparación con la enfermedad por TSC1, en múltiples órganos. *Am J Hum Genet* 2001; 68: 64–80.

14 Sancak O, Nellist M, Goedbloed M et al: Análisis mutacional de los genes TSC1 y TSC2 en un entorno de diagnóstico: correlaciones genotipo-fenotipo y comparación de

Técnicas diagnósticas de ADN en el complejo de esclerosis tuberosa. *Eur J Hum Genet* 2005; 13: 731–741.

15 Au KS, Williams AT, Roach ES et al: Correlación genotipo/fenotipo en 325 personas remitidas para diagnóstico de complejo de esclerosis tuberosa en los Estados Unidos. *Genet Med* 2007;9:88–100.

16 Lyczkowski DA, Conant KD, Pulsifer MB et al: Variabilidad fenotípica intrafamiliar en el complejo de esclerosis tuberosa. *J Child Neurol* 2007; 22: 1348–1355.

17 Crino PB, Aronica E, Baltuch G, Nathanson KL: Inactivación bialélica del gen TSC en el complejo de esclerosis tuberosa. *Neurología* 2010; 74: 1716–1723.

Curatolo P, Jo'z'wiak S, Nabbout R: Reunión de consenso del TSC sobre SEGA y el manejo de la epilepsia. Manejo de la epilepsia asociada al complejo de esclerosis tuberosa (TSC): recomendaciones clínicas. *Eur J Paediatr Neurol* 2012; 16: 582–586.

19 Yates JR, Maclean C, Higgins JN et al: Grupo de estudio de esclerosis tuberosa 2000. Estudio de Esclerosis Tuberosa 2000: presentación, evaluaciones iniciales e implicaciones para el diagnóstico y el tratamiento. *Arch Dis Child* 2011; 96: 1020–1025.

20 Franz DN, Belousova E, Sparagana S et al: Eficacia y seguridad de everolimus para astrocitomas de células gigantes subependimarios asociados con el complejo de esclerosis tuberosa (EXIST-1): un ensayo de fase 3 multicéntrico, aleatorizado y controlado con placebo. *Lancet* 2013; 381: 125–132.

21 Bissler JJ, Kingswood JC, Radzikowska E et al: Everolimus para el angiomiolipoma asociado al complejo de esclerosis tuberosa o linfangioleiomiomatosis esporádica (EXIST-2): un ensayo multicéntrico, aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo. *Lancet* 2013; S0140–S6736: 61767–66176.

22 Yu J, Henske EP: Activación de mTOR, linfangiogénesis y supervivencia celular mediada por estrógenos: la "tormenta perfecta" de factores prometastáticos en la patogénesis de LAM. *Lymphat Res Biol* 2010; 8: 43–49.

23 van Eeghen AM, Black ME, Pulsifer MB, Kwiatkowski DJ, Thiele EA: Genotipo y fenotipo cognitivo de pacientes con complejo de esclerosis tuberosa. *Eur J Hum Genet* 2012; 20: 510–515.

24 van Eeghen AM, Nellist M, van Eeghen EE, Thiele EA: Las mutaciones de sentido erróneo en el gen TSC2 central se asocian con un menor riesgo de espasmos infantiles. *Epilepsy Res* 2012; 103: 83–87.

25 Conferencia de Consenso Clínico de TSC, Washington, DC, 14-15 de junio de 2012 (personal comunicación).