

# Estudio Computacional de la Dinámica Funcional en la Expresión Omica para la Enfermedad de Krabbe

Andres Reinaldo Chacon Prada

Estudiante - EBI TOOLS - MBC - Universidad de los Andes. Bogotá. Colombia.

## Resumen

La enfermedad de Krabbe, es una leucodistrofia autosómica recesiva. En su etio - fisio - patología, se menciona, que es resultante de una deficiencia de galactocerebrosido Beta - galactosidasa. Está encima es requerida en la ruta catabólica de la formación de ceramida y galactosa, se conoce que el compuesto citotóxico resultante de más de 200 mutaciones en este gen GALC, ubicado en el cromosoma 14 en la posición q24.3-q32.1, es la galactosilesfingosina, la cual causa daño en los oligodendrocitos. Se observa su aparición y rápida evolución, entre los 3 y 6 meses de edad, y es de carácter mortal, la supervivencia, por encima de los 2 años de edad, es muy poco frecuente se referencia en un 15 %. En este trabajo se usaron herramientas del Ebi Instituto de Bioinformática Europeo para la búsqueda y análisis de datos biológicos, esto con miras a generar una mejor comprensión de la enfermedad de Krabbe.

Esta búsqueda y el uso de herramientas, están planteadas en tres escalas, la primera es genómica, la segunda es proteómica y la tercera es metabolómica, por lo cual se usarán varias de las herramientas EBI propuestas en este curso, y algunas otras más que se irán anexando en el camino.

## Palabras Clave

Leukodystrophy, Globoid Cell, Krabbe Disease, Atypical, due to Saposin [A] Deficiency, Galactocerebrosidase Deficiencies.

## Introducción

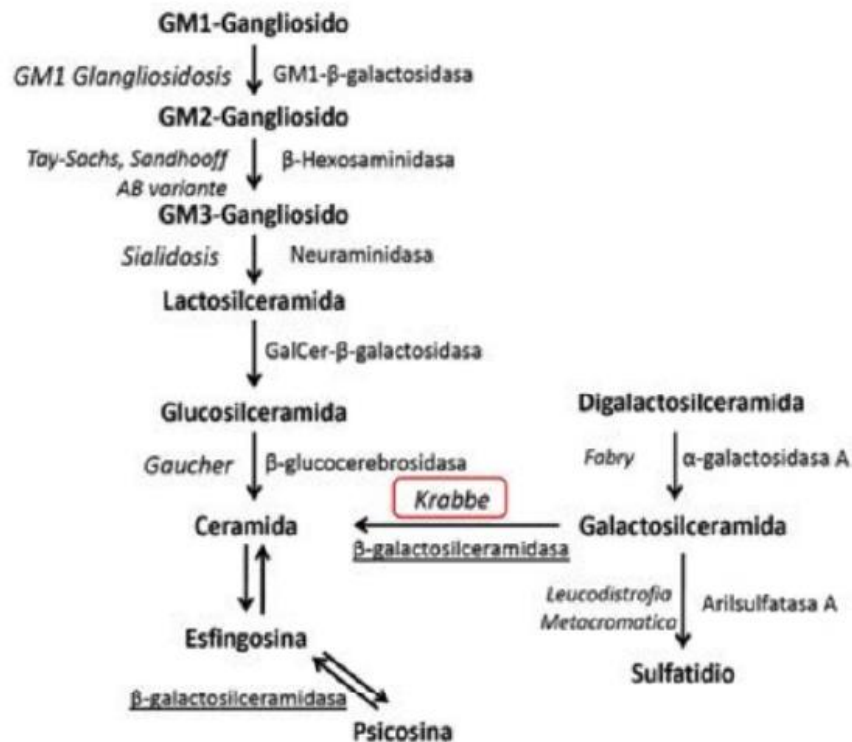
La connotación de enfermedad desatendida o huérfana varía de país a país, en Colombia, es aquella enfermedad crónica, debilitante, grave, que amenaza la vida y con una prevalencia (la medida de todos los individuos afectados por una enfermedad dentro de un periodo particular de tiempo) menor de 1 por cada 5.000 personas, comprenden, las enfermedades raras, las ultras huérfanas y olvidadas, esto según la (Ley 1392 de 2010/Ley 1438 de 2011)”(MINSALUD 2011). La evolución clínica de los pacientes cursa con, signos motores, entre ellos rigidez y debilidad muscular, esto es muy grave, ya que las dificultades para la alimentación y respiración incrementan gradualmente.

También se observa pérdida de la capa mielínica en el encéfalo, oligodendrocitos en el sistema nervioso central, esto, se conoce como la característica única en su diagnóstico, la agregación de macrófagos ingurgitados, que se conocen como células globoides, en el parénquima y alrededor de los vasos sanguíneos. (Robbins y Cortan 2010). Es por esto que no realizamos la siguiente pregunta, ¿Cómo se relaciona la delección de 30 kb ubicada en la parte media del intrón 10 (IVS10), en la expresión genómica, proteómica y metabolómica, de la enfermedad de Krabbe? Esta pregunta es importante en el desarrollo de nuevas terapias que involucren áreas como la biología molecular, biología celular, biología computacional, biología sintética, entre otras, pues sabemos que esta leucodistrofia es un trastorno grave, que genera destrucción de la materia blanca, lo cual desencadena en la pérdida progresiva de capacidades mentales y físicas. No existen tratamientos al día de hoy, se han propuesto tratamientos experimentales tales como el trasplante de sangre de cordón umbilical en estado presintomático. (Khanal et al 2024).

En la figura uno, se muestra la ruta metabólica de degradación de esfingolípidos, acá, podemos observar en que paso catabólico ocurre la enfermedad de Krabbe, se puede observar, como el paso de galactosilceramida a ceramida, es mediado por la enzima Beta - galactosilceramidasa, la cual falla en su función, es importante recalcar que esta enzima participa en dos pasos metabólicos uno es entre esfingosina a psicossina y la segunda, que es en donde se ubica la patología.

Según la investigadora Lina García, investigadora del centro de bioquímica de la Universidad de los Andes, CIBI, la epidemiología de la enfermedad, no tiene referentes en Colombia y en Latinoamérica es pobre, el sub diagnóstico también es una característica presente en Latinoamérica, para Europa, se encuentra que es de 1:100.000 recién nacidos. (García y Uribe) 2017) La falta de tratamientos de calidad y de fácil acceso, para la enfermedad de Krabbe en Colombia, Latinoamérica y el mundo, la hace un blanco perfecto de investigación, la comprensión de las dinámicas moleculares entre la expresión genómica, proteómica y metabolómica de algunas zonas intrónicas mutadas en esta enfermedad y su relación en tiempo real con la dinámica celular, permitirá desarrollar nuevas vías de abordar el tratamiento de la enfermedad. La disfunción en el almacenamiento lisosomal, se caracteriza por la acumulación de intermediarios metabólicos en este organelo. En este caso, la leucodistrofia de células globoides conduce a la pérdida progresiva de la mielina y

otros esfingolípidos terminales. En la fisiopatología se propone que su surgimiento se da por la acumulación del metabolito psicossina, que es neurotóxico.



**Figure 1.** Ruta metabólica de Degradación de Esfingolípidos. Tomado de Garcia y Uribe 2017[1].

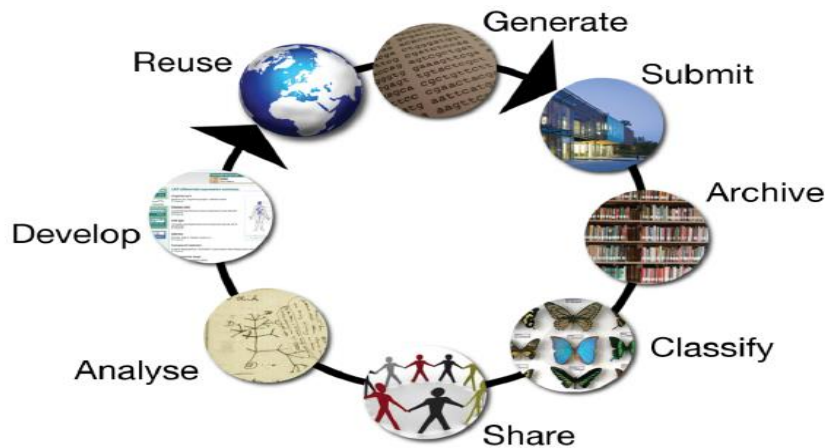
A continuación, se muestra lo trabajado para la entrega 1, Fair Principles y ENA, para asegurarnos que los principios justos sean implementados correctamente, se plantean tareas para cada esfera de estos principios, plasmados en la figura número 2.

**Generate:** La información generada para el gen GALC y sus variaciones, será indexada por medio de sus diferentes IDs, en la tabla, Identificadores de genes y sus variaciones, la cual estará disponible en la entrega 6 en el repositorio de GitHub.

**Submit:** los datos generados para resolver la pregunta problema, no serán sometidos a ninguna base de datos.

**Archive, Share and Reuse:** se ha dispuesto de un repositorio en GitHub, para garantizar el libre acceso a los datos generados.

**Analyze:** Las herramientas utilizadas para resolver la pregunta problema son las planteadas por el director del proyecto, estas pertenecen en su totalidad al EBI



**Figure 2.** Metodología para manejo de datos publicos. Tomado de EBI - Using publicly available data. 2024[1].

La metodología FAIR, fue seleccionada, para garantizar el buen manejo de datos públicos, La metodología escogida para el manejo de datos públicos en esta investigación, es la recomendada por EBI y el Biotechnology and Biological Sciences Research Council (BBSRC).

## Metodología

Para llevar a cabo el estudio computacional de la dinámica funcional en la expresión omica para la enfermedad de Krabbe, se propone la integración de las herramientas utilizadas en la clase de EBI TOOLS, para estudiar la genómica funcional, la proteómica y la metabolómica, de la dinámica de 1 gene principal GALC, con más de 200 mutaciones relacionadas, las mutaciones a estudiar son las relacionadas con el espacio de 30 kb ubicada en la parte media del intrón 10 (IVS10).

Las herramientas serán integradas en cada entrega, esto según lo estudiado en clase.

## ENA

### European Nucleotide Archive ENA

- Encontrar todas las secuencias y anotaciones disponibles para un gen de interés.
- Utilizar la similitud de la secuencia, para buscar datos (incluidos datos sin procesar sin ensamblar) y descubrir lo que se sabe, sobre su nueva secuencia.

### Sequence: L23116.1

Homo sapiens galactocerebrosidase (GALC) mRNA, complete cds.

### Sequence: AH003226.2

Homo sapiens galactocerebrosidase (GALC) gene, complete cds.

<b>Organism:</b>	Homo sapiens (human)	<b>Organism:</b>	Homo sapiens (human)
<b>Accession:</b>	L23116	<b>Accession:</b>	AH003226
<b>Mol Type:</b>	mRNA	<b>Mol Type:</b>	genomic DNA

Accession	Description/Title
<a href="#">AJ937538</a>	Guillardia theta partial mRNA for glutamate- ammonia ligase precursor (galc gene)
<a href="#">L23116</a>	Homo sapiens galactocerebrosidase (GALC) mRNA, complete cds.
<a href="#">AH003226</a>	Homo sapiens galactocerebrosidase (GALC) gene, complete cds.
<a href="#">AH005573</a>	Mus musculus galactocerebrosidase (GALC) gene, complete cds.

La herramienta ENA nos ha permitido acceder a los cds completos de mRNA y el gen GALC, en donde podemos ubicar clara y concisamente la zona intronica, que es causante del 45% del desencadenamiento temprano de la enfermedad, en los pacientes evaluados, podemos observar, los Números de accesoión, "L23116 para mRNA y AH003226 para el gen GALC".

```

ID      AH003226; SV 2; linear; genomic DNA; STD; HUM; 7007 BP.
XX
AC      AH003226; L38544-L38559;
XX
DT      03-AUG-2016 (Rel. 129, Created)
DT      03-AUG-2016 (Rel. 129, Last updated, Version 1)
XX
DE      Homo sapiens galactocerebrosidase (GALC) gene, complete cds.
XX
KW      galactocerebrosidase.
XX
OS      Homo sapiens (human)
OC      Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Mammalia;
OC      Eutheria; Euarchontoglires; Primates; Haplorrhini; Catarrhini; Hominidae;
OC      Homo.
XX
RN      [1]
RP      1-7007
RX      DOI; 10.1016/0888-7543(95)80230-J.
RX      PUBMED; 7601472.
RA      Luzi P., Rafi M.A., Wenger D.A.;
RT      "Structure and organization of the human galactocerebrosidase (GALC) gene";
  
```

Podemos acceder a L23116, y su última versión actualizada en 2016, esta nos muestra los cds completos para la estructura y organización el gen GALC, para la enzima Galactocerebrocidase, que en su disfunción provoca la patología celular en lisosoma de los oligodendrocitos, lo cual esta estrechamente relacionado con la enfermedad de KRABBE.

FH	Key	Location/Qualifiers
FH		
FT	source	1..7007
FT		/organism="Homo sapiens"
FT		/mol_type="genomic DNA"
FT		/sex="male"
FT		/dev_stage="adult"
FT		/cell_type="lymphocyte"
FT		/note="(vector lambda dash)"
FT		/db_xref="taxon:9606"
FT	regulatory	1
FT	exon	3081..3208
FT		/gene="GALC"
FT		/number=10
FT		/note="G00-119-970"
FT	intron	order(3209..3228,3329..3347)
FT		/gene="GALC"
FT		/number=10
FT		/note="intron 10 is about 12.0k"
FT	gap	3229..3328
FT		/estimated_length=unknown

Podemos acceder a la zona intronica numero 10 y establecer precisamente sus cordenadas cromosomicas, 3209 -3347 y su secuencia.

nnnnnnnnnn	nnnnnnnnnn	nnnnnnnnnn	nnnnnnnnnn	nnnnnnnnnn	nnnnnnnnnn	3060
aactttctgt	ttttctatag	ctcataccac	tcagtttact	caacctggct	ggtattacct	3120
gaagacagtt	ggccatttag	agaaaggagg	aagctacgta	gctctgactg	atggcttagg	3180
gaacctcacc	atcatcattg	aaaccatggg	aaacttttgt	tggttgctann	nnnnnnnnnn	3240
nnnnnnnnnn	nnnnnnnnnn	nnnnnnnnnn	nnnnnnnnnn	nnnnnnnnnn	nnnnnnnnnn	3300
nnnnnnnnnn	nnnnnnnnnn	nnnnnnnnnn	nnnnnnnnnn	nnnnnnnnnn	nnnnnnnnnn	3360

Para los 16 intrones y 17 exones reportados para el gen GALC, la zona del intrón numero 10 se muestra en la secuencia anterior, el reporte no tiene varias bases, esto es un problema, por que no se conocen que bases son el genotipo intronico, y por lo tanto es imposible conocer los SNPs patológicos relacionados para la zona

intronica numero 10, esto para el cds del gen GALC en linfocitos humanos, secuencia L23116.

```
ID   D86181; SV 2; linear; genomic DNA; STD; HUM; 12627 BP.
XX
AC   D86181; D84232-D84234; D84266-D84269; D84363-D84369; D84393;
XX
DT   20-FEB-1998 (Rel. 54, Created)
DT   14-NOV-2006 (Rel. 89, Last updated, Version 5)
XX
DE   Homo sapiens GALC gene for galactocerebrosidase, complete cds.
...
FT   intron           7366..>7540
FT                   /number=10
FT   gap              7541..7640
FT                   /estimated_length=unknown
FT   intron           <7641..7759
FT                   /number=10
FT   exon             7760..7849
FT                   /product="galactocerebrosidase"
```

Para dar solución a este problema se consultaron otros cds de GALC para Homo sapiens, este cds con ID D86181, reporta lo siguiente, zona 7366 – 7540 para la primera región del intrón 10 de GALC, zona 7641 – 7759, segunda región del intrón.

cctggctggt	attacctgaa	gacagttggc	catttagaga	aaggaggaag	ctacgtagct	7320
ctgactgatg	gcttagggaa	cctcaccatc	atcattgaaa	ccatggtaaa	cttttgttgt	7380
tgctattgga	ttaactcact	tctttactat	tggaaaaata	aaatataaaa	ctgaataactt	7440
ttgttttaca	tgtaaataca	taagcataca	gacagatgcc	aagatcttat	ggctttcatt	7500
taaaaaattt	tagccatgag	tcgtaaaaca	tagcacacaa	nnnnnnnnnn	nnnnnnnnnn	7560
nnnnnnnnnn	nnnnnnnnnn	nnnnnnnnnn	nnnnnnnnnn	nnnnnnnnnn	nnnnnnnnnn	7620
nnnnnnnnnn	nnnnnnnnnn	catatttggt	atctagtata	tgtaaatttc	tgtaaatctt	7680
gggcattaac	tattgaactt	tttttcccct	aaggtagctt	atacatcatt	tggataatgt	7740
atgtgatttt	ttttttcaga	gtcataaaca	ttctaagtgc	atacgccat	ttcttcctta	7800

Podemos observar que también en este cds reportado para el 2006, se observa un gap considerable en la zona intronica.

## Acceso Programático ENA

```
• curl -X 'GET' \
• 'https://www.ebi.ac.uk/ena/browser/api/text/AH003226%20?download=true&lineLimit=0&annotationOnly=false' \
• -H 'accept: text/plain'
```

```
• https://www.ebi.ac.uk/ena/browser/api/text/AH003226%20?download=true&lineLimit=1000&annotationOnly=false
```

## Ensembl

El genoma humano utilizado fue Human (GRCh38.p14), la búsqueda se dio sobre el Loci asociado con la actividad enzimática de Galactosylceramidase. A continuación, se muestran las actividades que se realizaron con Ensembl.

- Ubicación cromosómica y ubicación en hebra del gen
- Identificar los transcritos alternativos
- Identificar las variantes SNV
- Explorar la filogenética y la homología

Ontologías [GO]

- Ontología Genética [GO]
- Ontología Fenotípica de Mamíferos [MPO]

## Análisis de Resultados Ensembl

Gene: GALC Jobs ▼

**Gene: GALC** ENSG00000054983

Description galactosylceramidase [Source:HGNC Symbol;Acc:[HGNC:4115](#)]

Location [Chromosome 14: 87,837,820-87,993,665](#) reverse strand.  
GRCh38:CM000676.2

About this gene This gene has 16 transcripts ([splice variants](#)), [227 orthologues](#) and is associated with [5 phenotypes](#).





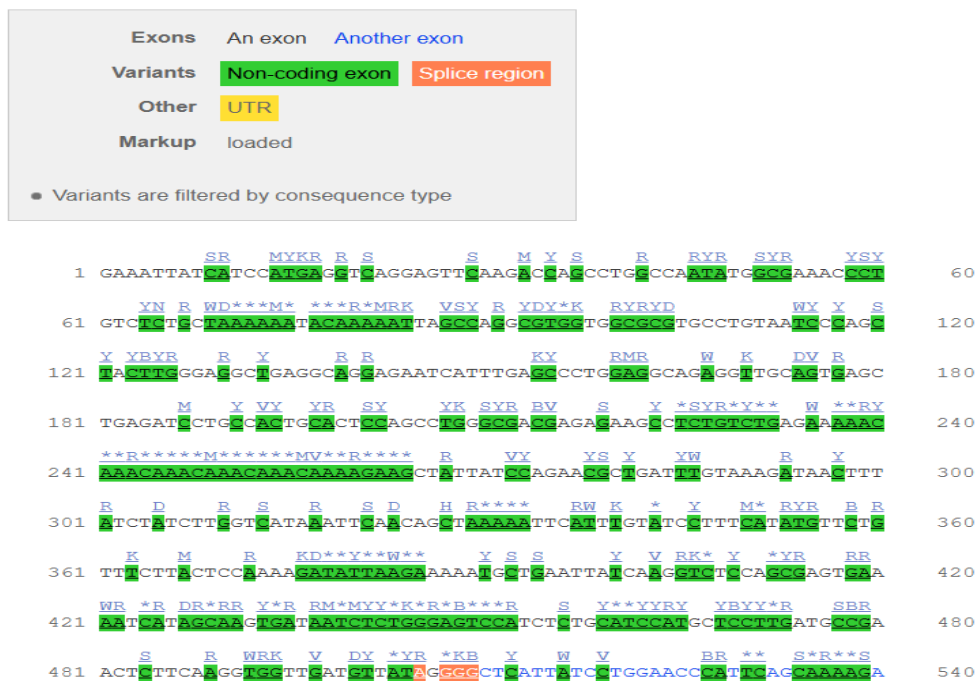
### Análisis:

Transcript: ENST00000477716.3 GALC-205

Description	galactosylceramidase [Source:HGNC Symbol;Acc: <a href="#">HGNC:4115</a> ]
Location	<a href="#">Chromosome 14: 87,968,393-87,976,864</a> reverse strand.
About this transcript	This transcript has <a href="#">2 exons</a> , is associated with <a href="#">3528 variant alleles</a> and maps to <a href="#">57 oligo probes</a> .
Gene	This transcript is a product of gene <a href="#">ENSG00000054983.17</a> <a href="#">Show transcript table</a>

## cDNA sequence ?

Podemos observar las regiones intrónicas y analizar su composición y sus variantes filtradas por su tipo de consecuencia, por ejemplo, las zonas no codificantes y los UTRs, también la región en donde se a identificado el splincng.



Podemos observar el locus en el cromosoma 14, y es importante resaltar lo siguiente, su ubicación se da en una región rica en cromatina abierta, es la zona con más promotores, con características regulatorias, en el loci, lo cual nos muestra que su fisiopatología se relaciona específicamente con el control regulatorio transcriptómico, que, con la propia expresión proteica, como podría esperarse.

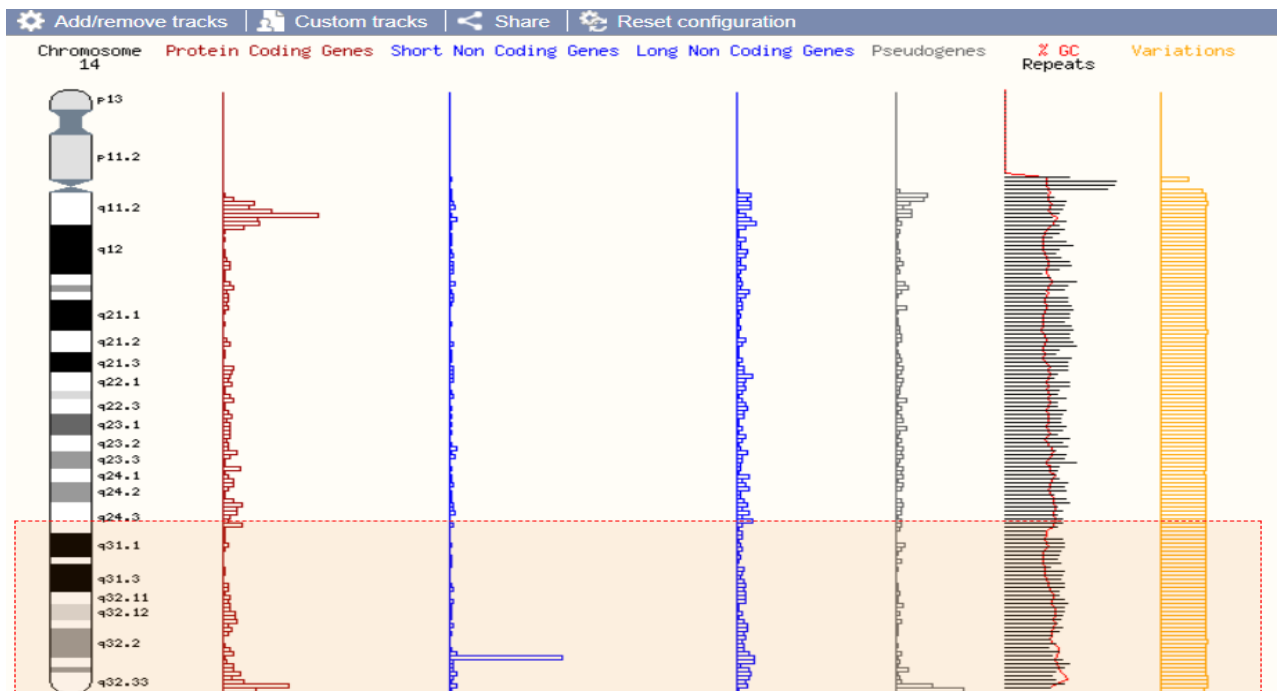


Figura 4. Representación grafica de algunas características de codificación y variabilidad del gen GALC asociado con la enfermedad de Krabbe.

En la figura numero 4 podemos observar lo siguiente, la zona en donde se ubica el gen, q31.1 es una zona con poca codificación de proteínas, con poca o nula presencia de genes cortos de codificación, con presencia de genes largos no codificantes, con poca presencia de seudogenes, altas repeticiones CG y variaciones en una alta proporción.

El cromosoma tiene 107.043.718 bps, 822 genes codificantes, 982 genes no codificantes, entre los cuales se tiene, 237 genes pequeños no codificantes, 666 genes largos no codificantes, 79 Misc genes, 530 seudogenes y 34.079.352 variantes pequeñas.

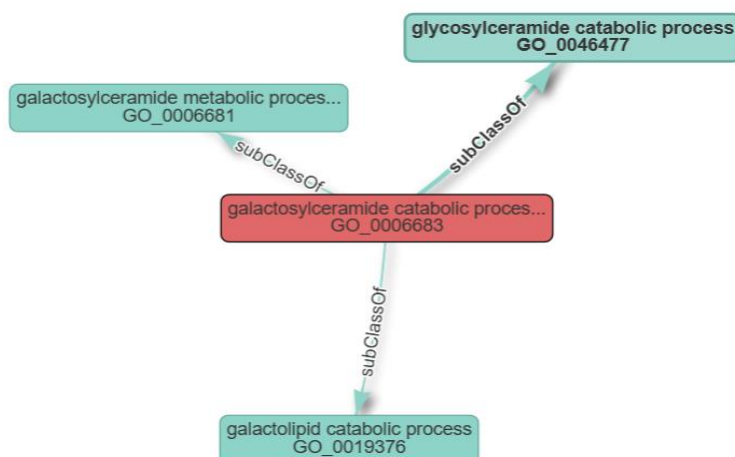
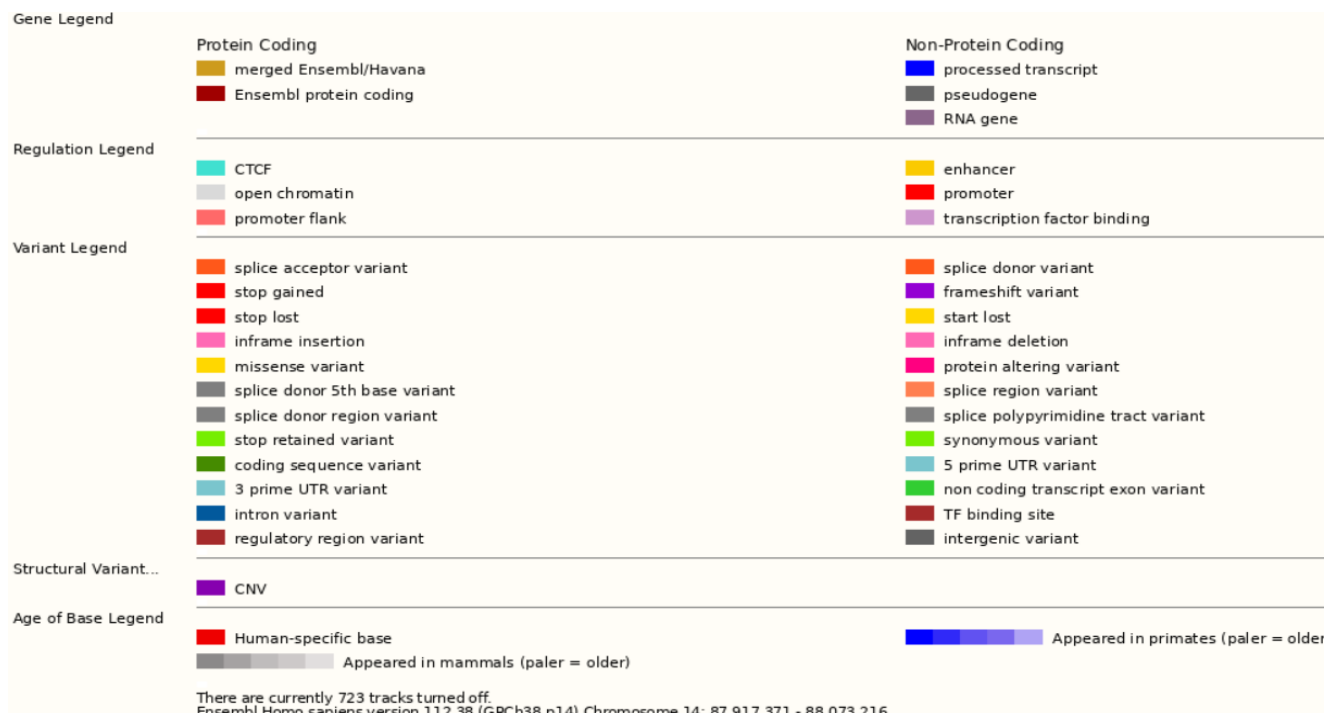




Figura 5. Información detallada de la ubicación cromosómica asociada con la enfermedad de Krabbe.

En la figura numero 5 podemos observar la ubicación precisa de los SNPs e indels presentes en la región. Los factores de transcripción se ubican en la zona 87.10 – 87.12, también es muy importante resaltar que en las direcciones cromosómicas que se encuentran antes de la zona de anclaje del transcriptor, se pueden observar varias zonas de amplificación con SNPs.

Los polimorfismos sencillos de un nucleótido aparecen a lo largo de zonas de cromatina abierta específicas para humanos, el numero de GERPs es de 91, estos son importantes para estudios de evolución.



En la figura número 6, se observa la genómica comparativa entre el cromosoma 14 de humanos y el cromosoma 12 y 14 de ratones, se puede analizar que, dos pequeñas zonas de cromosoma humano 20M y 50M – 60 M, se encuentran representadas en 4 zonas del cromosoma 14 de ratones, la gran mayoría del cromosoma 14 de humanos, está ubicada analógicamente en el cromosoma 12 de ratones, entre 40 M y 11.50 M.

#### Synteny between Human chromosome 14 and Mouse

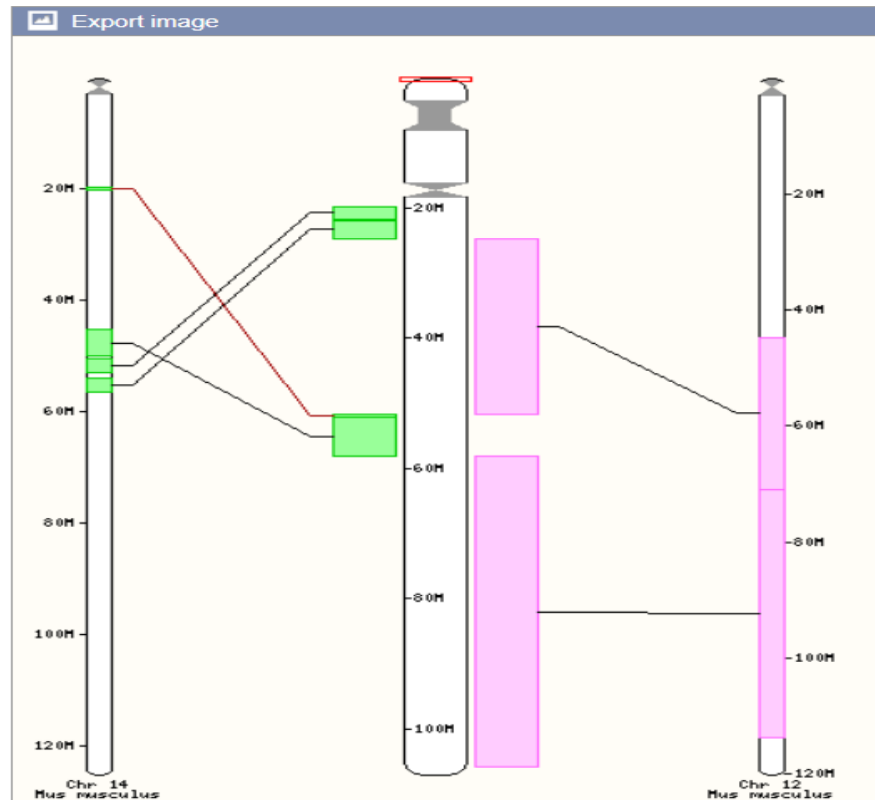


Figura 6. Comparación del Cromosoma 14, con el cromosoma 12 y 14 de Mus Musculus.

En la figura numero 7 podemos encontrar un análisis espacial de las zonas codificadoras de proteínas y de las que no, las codificaciones de proteínas fueron realizadas por Havana en amarillo y Ensembl rojo, es importante resaltar que la zona es alta en secuencias no codificantes, como genes RNA.

Lo anterior cobra vital importancia, cuando se requiere desarrollar un tratamiento para la enfermedad de Krabbe, pues la fisiopatología, no solo puede responder a una mutación en los genes que codifican proteínas, también puede responder a mutaciones en zonas no codificadoras de proteínas, como lo son las zonas codificadoras de genes de RNA. Es por esto que las enfermedades con mutaciones multialelicas y multigenicas, no solo responden a mutaciones en su estructura, también son altamente dependientes en mutaciones en los factores de transcripción y RNAs relacionados.

Figura 7. Zonas codificadoras de genes RNA – proteínas y pseudogenes.

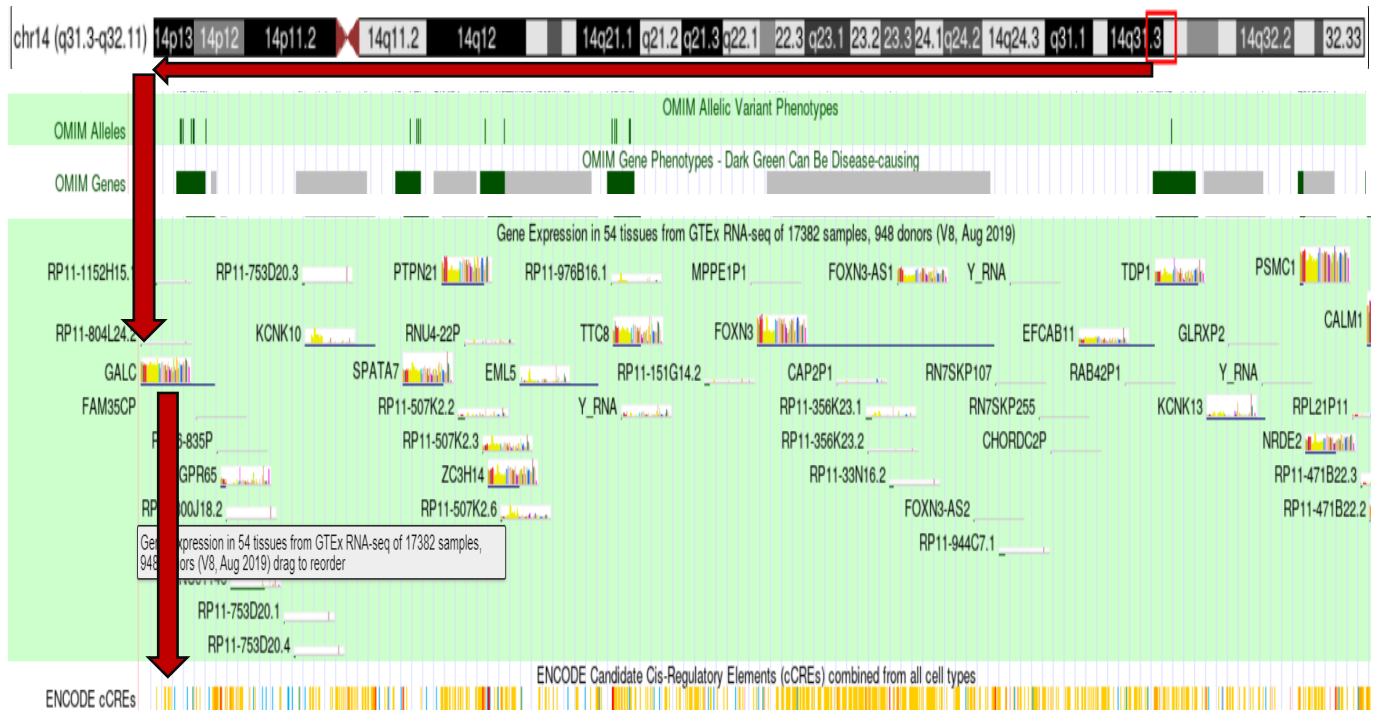


Figura 8. Multirregión específica chr14:87,837,820-90,408,268 del cromosoma 14.

En la multirregión específica para el cromosoma 14 de humanos, podemos identificar la región de variante de expresión fenotípica alélica, lo importante es que abajo podemos observar las regiones que estas relacionadas con la expresión patológica, cada región alélica tiene relacionada una región patológica.

También podemos observar la expresión de esta zona cromosómica en 54 tejidos por GTEx y RNASeq, los elementos reguladores cis, combinados en todos los tipos celulares.

## Acceso Programático ENSEMBL

```
import requests, sys

server = "https://rest.ensembl.org"
ext = "/archive/id/ENSG00000054983?"

r = requests.get(server+ext, headers={ "Content-Type" :
    "application/json"})

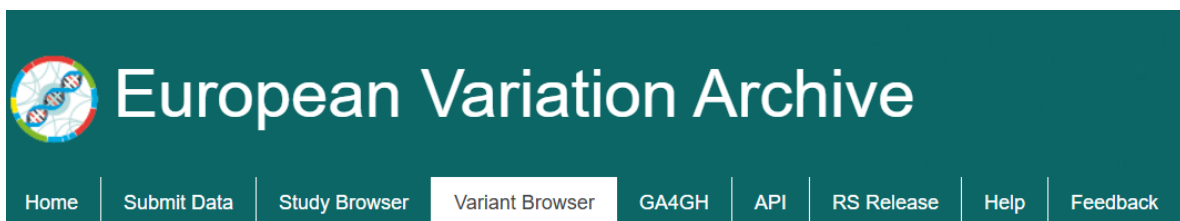
if not r.ok:
```

```

• r.raise_for_status()
• sys.exit()
•
• decoded = r.json()
• print(repr(decoded))

```

## European Variation Archive



## Variant Browser

Search the EVA variant warehouse using any combination of filters. Search results can be exported in CSV format and ind

### Filter

[Reset](#)

**Genome Assembly** ⊖

Organism / Assembly:  
Human / GRCh38

**Position** ⊖

Filter By:  
Ensembl Gene Symbol/Accession

GALC

Page 1 of 620

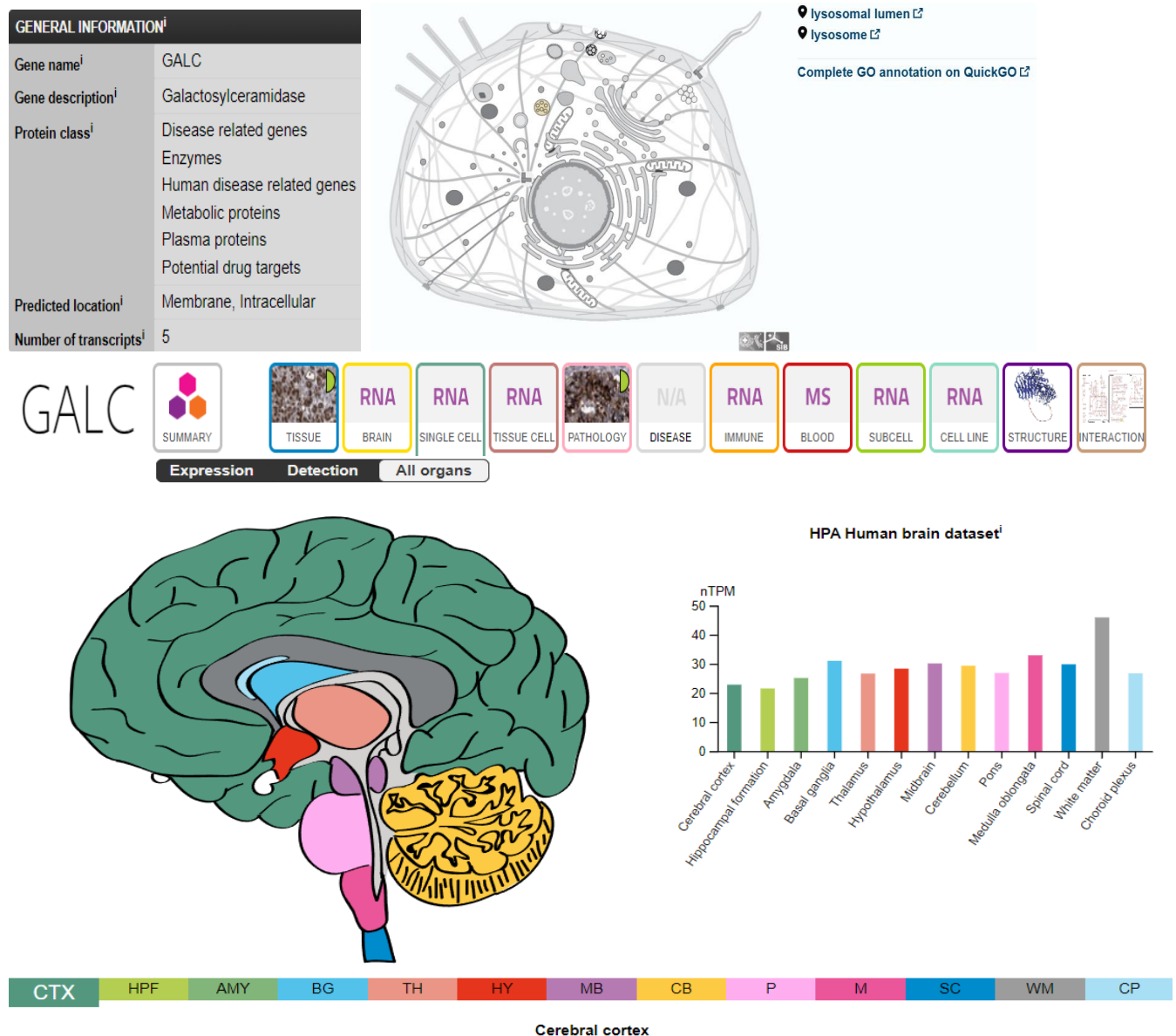
Chr	Position	Variant ID	Alleles	Class	Most Severe Consequence Type
14	87832833	-	G/C	SNV	intron_variant
14	87832854	-	A/G	SNV	intron_variant
14	87832953	-	A/G	SNV	intron_variant
14	87833020	-	C/T	SNV	intron_variant
14	87833037	-	C/T	SNV	intron_variant
14	87833168	-	A/G	SNV	intron_variant
14	87833170	-	C/A	SNV	intron_variant
14	87833214	-	G/T	SNV	intron_variant
14	87833241	-	G/T	SNV	intron_variant
14	87833247	-	T/C	SNV	intron_variant

Se reportan para el gen GALC mas de 6300 variantes, para efectos de esta investigación se va a trabajar con las 5 variantes mas importantes, sus cambios alélicos y posiciones, como podemos observar todas las variables reportadas son de carácter intronicas.

### Consequence Types for G/C

Ensembl Gene ID	Ensembl Transcript ID	Accession	Name
ENSG00000054983	ENST00000555000	<a href="#">SO:0001632</a>	downstream_gene_variant
ENSG00000258807	ENST00000554305	<a href="#">SO:0001627</a>	intron_variant
ENSG00000258807	ENST00000554305	<a href="#">SO:0001619</a>	non_coding_transcript_variant
ENSG00000259077	ENST00000555913	<a href="#">SO:0001627</a>	intron_variant
ENSG00000259077	ENST00000555913	<a href="#">SO:0001619</a>	non_coding_transcript_variant

Podemos observar las consecuencias reportadas para la primera variante, estas consecuencias reportadas serán anexadas en una tabla. A continuación, se relaciona lo encontrado en Genome Atlas.



Podemos observar la expresión diferencial del gen GALC, en los diferentes campos del cerebro humano, una expresión por encima de 40 nTPM en materia blanca, en donde las células de la glía componen su función y estructura, las células oligodendrociticas son muy comunes en esta zona, la expresión se da en las membranas intracelulares, con más precisión en el lisosoma, como era de esperarse, ya que hay es donde se lleva a cabo la función de esta encima. Es importante reconocer que en Genome Atlas, se encuentra relacionada la patología celular, mas no la enfermedad.



## Acceso Programatico EVA


- ```
curl -X GET --header 'Accept: application/hal+json'
'https://www.ebi.ac.uk/eva/webservices/rest/v2/identifiers/rs69241881/variants?species=homo%20sapiens&assembly=GRCh37'
```

- ```
https://www.ebi.ac.uk/eva/webservices/rest/v2/identifiers/rs69241881/variants?species=homo%20sapiens&assembly=GRCh37
```

## Cell Expression



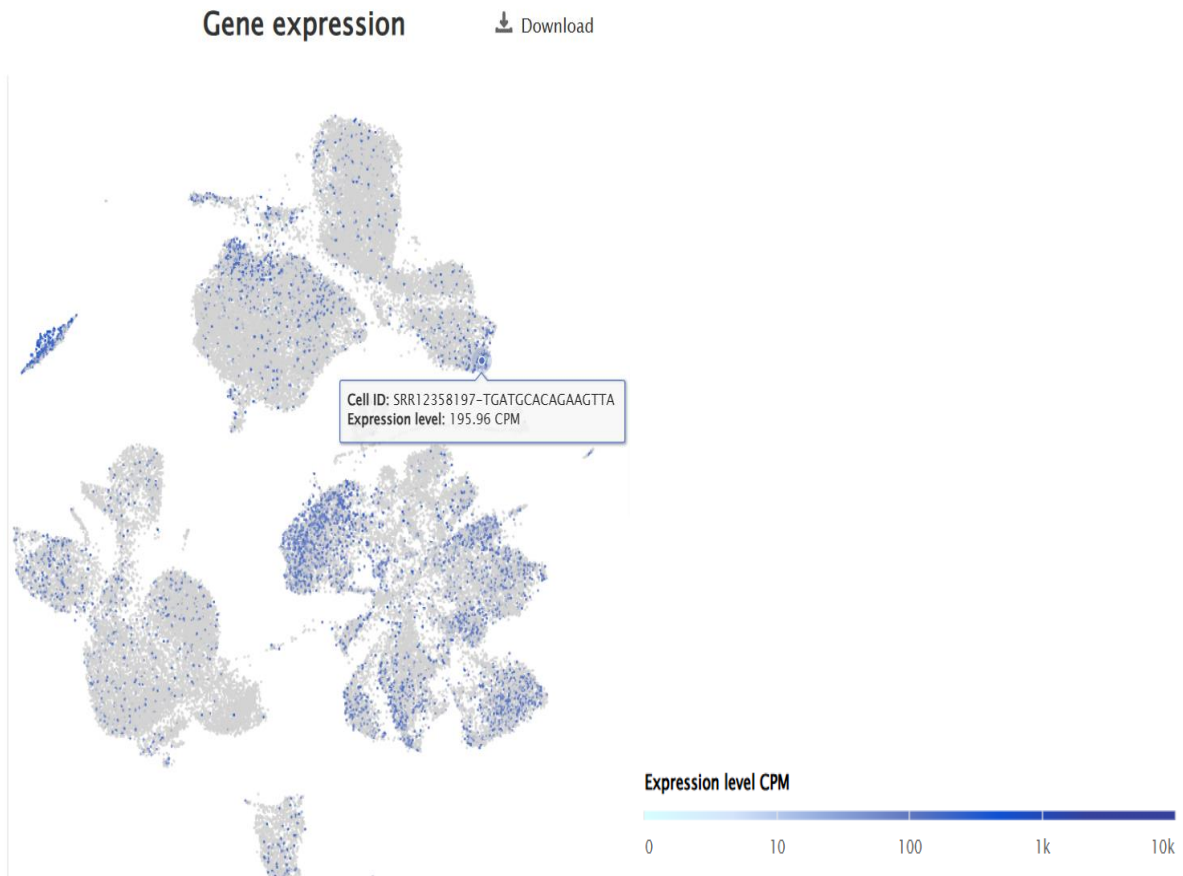
ENSG00000054983 is expressed in:

Species	Marker genes	Title	Experimental variables	Number of assays
 Homo sapiens	• <a href="#">See cluster 47 for k = 81</a>	Single-cell transcriptome analysis reveals dynamic cell populations and differential gene expression patterns in control and aneurysmal human aortic tissue	• disease	58,407
	• <a href="#">See cluster 38 for k = 51</a>			
	• <a href="#">See cluster 17 for k = 20</a>			
	• <a href="#">See cluster 46 for k = 71</a>			
	• <a href="#">See cluster 21 for k = 26</a>			
	• <a href="#">See cluster 24 for k = 27</a>			

Se Trabaja con el cluster 21, pues es el que posee el análisis transcriptómico dinámico celular, en la expresión diferencial de GALC que es ENSG00000054983 en single cell expresión atlas, el experimento se titula "Single-cell transcriptome analysis reveals dynamic cell populations and differential gene expression patterns in control and aneurysmal human aortic tissue",

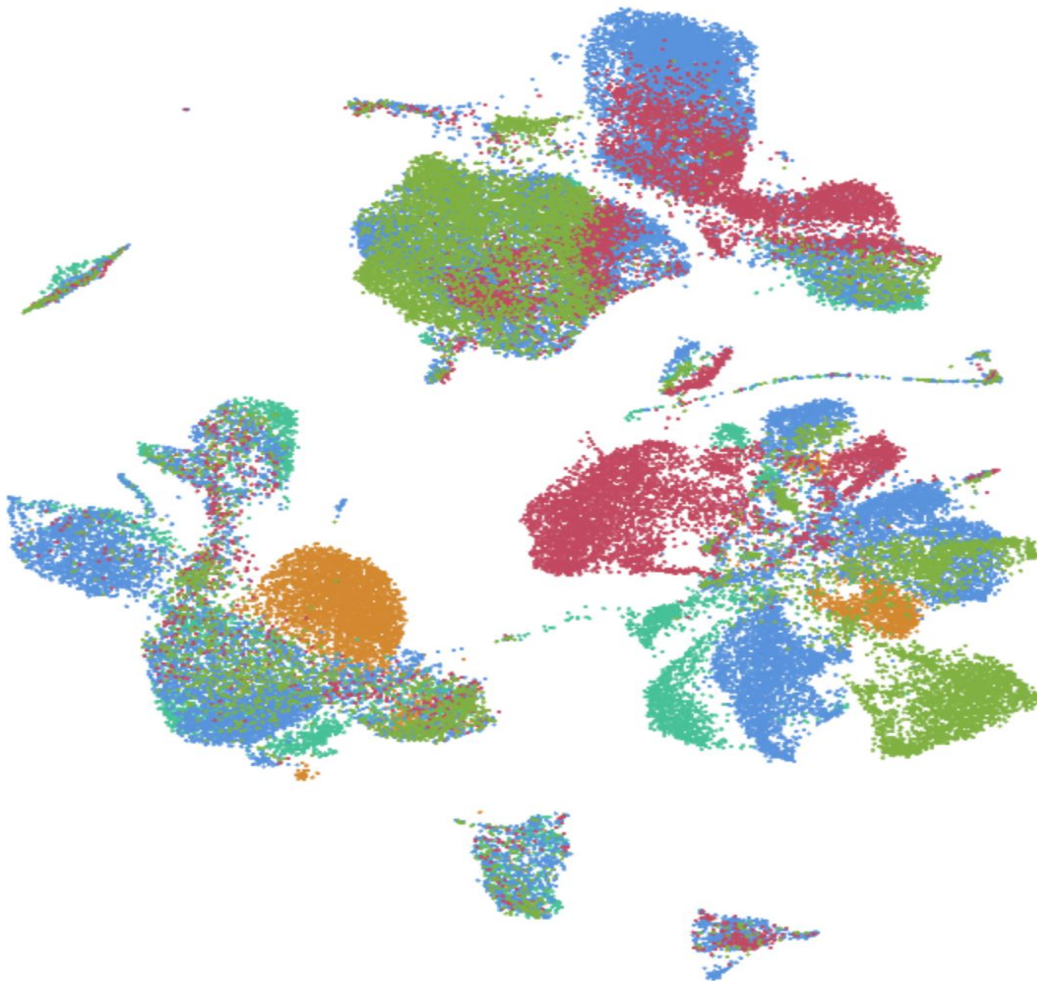
Results	Supplementary Information	Downloads
Cell plots	Plot type: UMAP	Plot options: n_neighbors: 20
Marker Genes	Colour plot by: Disease	Gene ID, gene name or gene feature: ENSG00000054983
Gene informati...		

Accediendo al tipo de plot UMAP para coloración para expresión en enfermedad para el gen GALC se puede observar lo siguiente,



**Analysis:**

## Clusters



- 
- Diabetes mellitus
  - Normal
  - Thoracic aortic aneurysm
  - Thoracic aortic aneurysm and chronic obstructive pulmonary disease
  - Thoracic aortic aneurysm and diabetes mellitus

Es posible acceder a la expresión y sobre expresión génica para GLAC y su coexpresión en diferentes enfermedades, en single cell expresión atlas. Para la entrega 5, se dará un análisis con mas profundidad de este experimento.

Results

Supplementary Information

Downloads

Cell plots

Cluster by:

Disease

Show marker genes for:

All clusters

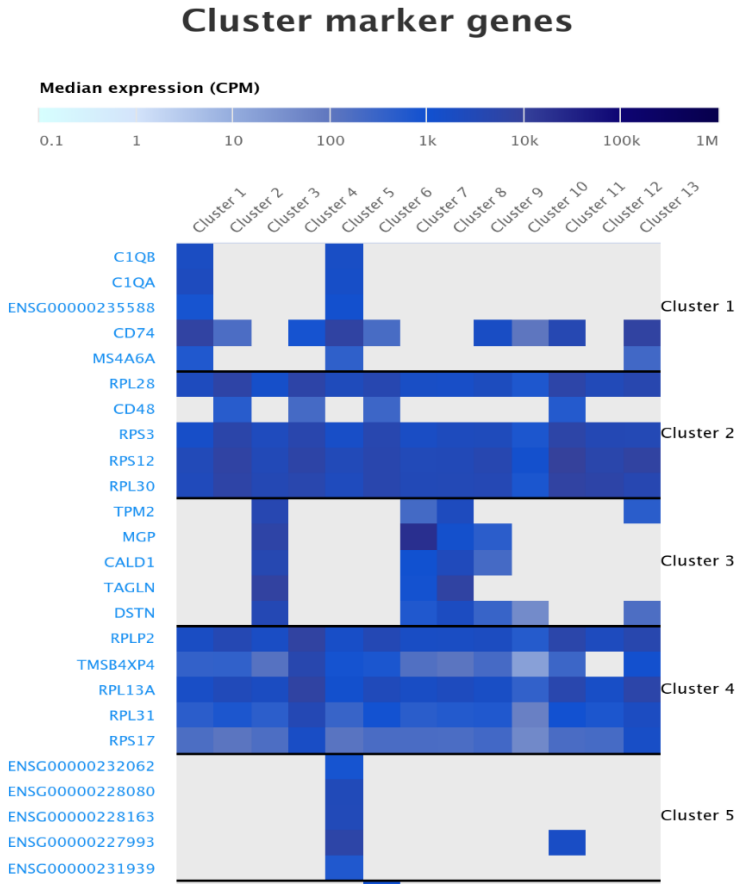
Marker Genes

Gene informati...

Cell type marker genes

There are no marker genes for this value, please select another attribute or k value.

No se reportan marcadores genéticos patológicos de ningún tipo celular para la expresión de GALC en este experimento.



Este es el reporte diferencial para 13 clusters y todos los micro ensayos de este experimento.

## Acceso Programatico Single Expression Atlas

- [Index of /pub/databases/microarray/data/atlas/sc\\_experiments \(ebi.ac.uk\)](https://www.ebi.ac.uk/ebd/express/atlas/sc_experiments/)

## Europe PMC



Search life-sciences literature (44.777.754 articles, preprints and more)

Krabbe Disease AND (FIRST\_PDATE:[1960 TO 2024])

Se encontraron 3491 resultados entre 1960 y 2024, ordenados por su relevancia científica, para la enfermedad de KRABBE, los primeros puestos no presentan citaciones, ordenados por su número de citaciones, el artículo más citado es del 2016, y a sido citado 1231 veces.

- 2523 artículos de investigación.
- 930 artículos de revisión
- 29 preprints
- 3 libros y documentos

A continuación, se realiza u breve resumen de la información mas relevante, encontrada en el Europe PMC. En los últimos 5 Años, entre más de 1700 artículos encontrados por relevancia en el tema, esto teniendo en cuenta las consideraciones de tiempo.

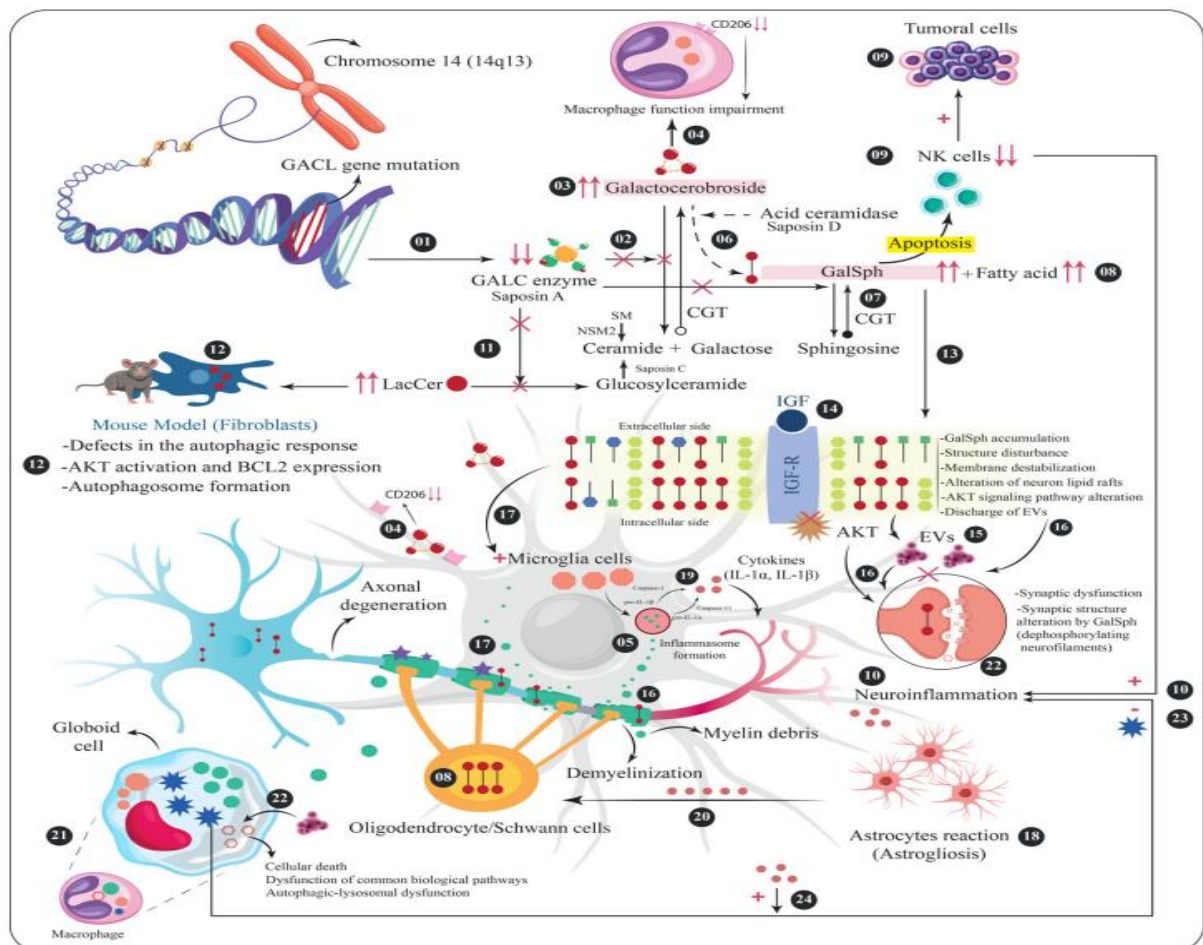
En el estudio de Lisa Marie *et al* del 2024, titulado Human iPSC-derived myelinating organoids and globoid cells to study Krabbe Disease. se menciona la importancia de realizar estudios y terapias para la enfermedad de Krabbe, en organoides. Las células madres pluripotentes inducidas o iPSC, de pacientes con enfermedad de krabbe, pueden ser utilizadas para producir organoides mielinizantes y células de la microglía, estos organoides han mostrado que, la mielina se ve afectada en ausencia de autofagia y desregulación de la vía mTOR, lo que sugiere una falta de disfunción lisosomal que hace que este modelo de organoide sea una herramienta muy valiosa para estudiar los eventos tempranos que impulsan la desmielinización en Krabbe.

Jacov Fabret y su grupo de investigación, en su artículo titulado Perinatal loss of galactosylceramidase in both oligodendrocytes and microglia is crucial for the

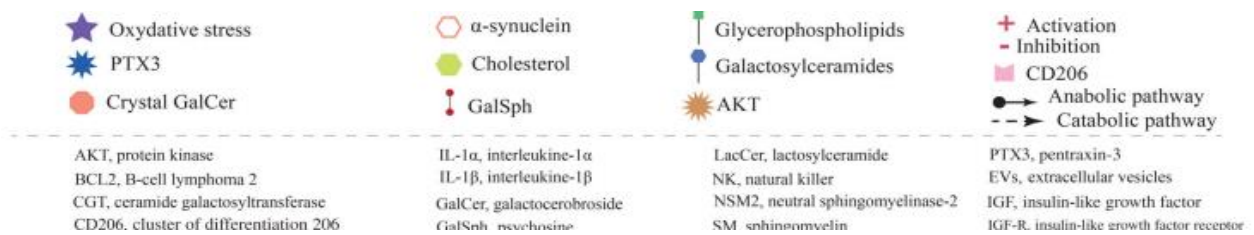
pathogenesis of Krabbe disease in mice. Para el 2022, menciona que la expresión de la enzima galactocilceramidasa lisosomal se da en todas las células cerebrales, también deja claro que la función enzimática es en gran medida desconocida al día de hoy. En este estudio se muestra como se estudia la expresión diferencial de GALC, en cada célula glial, para estudiar la patogénesis en este estudio se utilizaron ratones Glac – Floxed, estos modelos muestran emancipación molecular, acumulación proteica de psicossina y neuroinflamación. Este estudio pudo concluir que los oligodendrocitos son las células primarias, en donde inicia el proceso patológico que deriva en la enfermedad de Krabbe, esto se da por la acumulación de psicossina.

Para el 2024 la sociedad japonesa de neuropatología publica, From pathological mechanisms in Krabbe disease to cutting-edge therapy: A comprehensive review. Los autores Imen Ketata *et al*, realizan esta revisión, en donde caracterizan la enfermedad como un trastorno hereditario autosómico recesivo, se deja claro que esta pertenece a un grupo heterogéneo de leucodistrofias, que a su vez se caracterizan por un deterioro y pérdida de las vainas miélicas nerviosas tanto en SNC sistema nervioso central como en el SNP sistema nervioso periférico.

A continuación, se abordan los mecanismos moleculares involucrados en la enfermedad de Krabbe







“Fig. 2 Mecanismos moleculares de la vía fisiopatológica de la enfermedad de Krabbe. La mutación en el gen *GALC* da como resultado una deficiencia de la enzima *GALC*, lo que lleva a la ausencia de degradación de GalCer en ceramida y galactosa. Por lo tanto, los cristales de GalCer se acumulan en el sistema nervioso central. Además, la acumulación de cristales de GalCer en macrófagos y células inmunes innatas da como resultado un deterioro de la función de los macrófagos al disminuir los receptores CD206. Estos cristales contribuyen a la formación del inflammasoma y a la permeabilización de la membrana de los lisosomas. Por otro lado, existen dos vías de formación de GalSph. La primera es la vía catabólica, que incluye la desacilación de GalCer por la ceramidasa ácida apoyada por la saposina D. La segunda vía implica un proceso anabólico en el que la esfingosina se convierte en GalSph por la enzima ceramida galactotransferasa. En consecuencia, GalSph se acumula en los oligodendrocitos y las células de Schwann, lo que desencadena la apoptosis en las células NK y activa las células tumorales. Además, esta activación de la apoptosis resulta en una mayor neuroinflamación. Además, la enzima *GALC* es responsable de convertir LacCer en glucosilceramida. Por lo tanto, hay una acumulación de LacCer, lo que resulta en un defecto en la respuesta de autofagia independiente de GalSph. Este fenómeno se ha demostrado tanto en células de ratones fibroblastos como en fibroblastos derivados de pacientes con KD. De hecho, estos estudios indicaron que el deterioro estaba relacionado con la sobrecarga de lactosilceramida y un aumento en la expresión del linfoma de células B 2. Por otra parte, la acumulación de GalSph induce alteración de la balsa lipídica y alteración de la vía AKT y liberación de EV, resultando en alteración de la plasticidad sináptica y mielinización y en neurodegeneración. Además, los restos de mielina, resultantes de diversos mecanismos como alteración de la balsa lipídica y disfunción de oligodendrocitos y células de Schwann, son fagocitados por la microglía, induciendo activación microglial y astrogliosis. Esta activación conduce a la liberación de citocinas (IL-1  $\alpha$  e IL-1  $\beta$ ) con aumento de la neuroinflamación y alteración de oligodendrocitos y células de Schwann. Además, los macrófagos se transforman en células globoides (multinucleadas características de KD).  $\alpha$ -sinucleína Puede generarse debido a una disfunción sináptica y EV, lo que lleva a su acumulación en células globoides y células neurológicas. Esta acumulación produce alteraciones en la vía lisosomal autofágica. PTX también se acumula en macrófagos y células globoides, lo que resulta en una reducción de genes proinflamatorios. Es estimulado por citocinas liberadas por astrocitos y microglía “

# Globoid Cell Leukodystrophy (Krabbe Disease): An Update.

Maghazachi AA <sup>1</sup>




Author information ►

Immunotargets and Therapy, 31 Oct 2023, 12:105-111

<https://doi.org/10.2147/itt.s424622> PMID: 37928748 PMID: PMC10625317

Review Free full text in Europe PMC

# Nanomedicines to treat rare neurological disorders: The case of Krabbe disease.

Moore TL <sup>1</sup>  , Pannuzzo G <sup>2</sup>, Costabile G <sup>3</sup>, Palange AL <sup>1</sup>, Spanò R <sup>1</sup>, Ferreira M <sup>1</sup>, Graziano ACE <sup>4</sup> , Decuzzi P <sup>1</sup>, Cardile V <sup>2</sup> 







## Author information ▶

Advanced Drug Delivery Reviews, 31 Oct 2023, 203:115132

<https://doi.org/10.1016/j.addr.2023.115132> PMID: 37918668

Review

# Genetic ablation of Saposin-D in Krabbe disease eliminates psychosine accumulation but does not significantly improve demyelination.

Watanabe T <sup>1</sup> , Tsuboi K <sup>2</sup> , Matsuda N <sup>3</sup>, Ishizuka Y <sup>1</sup> , Go S <sup>1</sup>, Watanabe E <sup>1</sup> , Ono A <sup>1</sup>, Okamoto Y <sup>2</sup> , Matsuda J <sup>1</sup> 

## Author information ▶

Journal of Neurochemistry, 20 Jun 2023, 166(4):720-746

<https://doi.org/10.1111/jnc.15876> PMID: 37337846



## Acceso Programático Europe PMC

- ```
curl -X GET --header 'Accept: application/json'
'https://www.ebi.ac.uk/europepmc/webservices/rest/PMC/PPR885433/references?page=1&pageSize=25&format=json'
```

- ```
https://www.ebi.ac.uk/europepmc/webservices/rest/PMC/PPR885433/references?page=1&pageSize=25&format=json
```

## UniProt



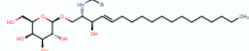
### 📖 P54803 · GALC\_HUMAN

Protein<sup>i</sup> | Galactocerebrosidase  
Gene<sup>i</sup> | GALC  
Status<sup>i</sup> | 📖 UniProtKB reviewed (Swiss-Prot)  
Organism<sup>i</sup> | *Homo sapiens* (Human)

Amino acids | 685 ([go to sequence](#))  
Protein existence<sup>i</sup> | Evidence at protein level  
Annotation score<sup>i</sup> | [5/5](#)

a  $\beta$ -D-galactosyl-(1 $\leftrightarrow$ 1')-N-acylsphing-4-ene

CHEBI:18390



[zoom](#)

+

H<sub>2</sub>O  
CHEBI:15377

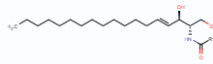


[zoom](#)

=

an N-acylsphing-4-ene

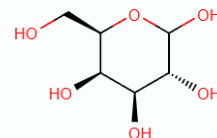
CHEBI:52639



[zoom](#)

+

D-galactose  
CHEBI:4139



[zoom](#)

Análisis:

Slimming set:  

mouse



Análisis:

## Disease & Variants<sup>i</sup>

### Involvement in disease<sup>i</sup>





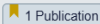







#### Krabbe disease (KRB)

12 Publications

Note	The disease is caused by variants affecting the gene represented in this entry
Description	An autosomal recessive disorder characterized by insufficient catabolism of several galactolipids that are important for normal myelin production. Four clinical forms are recognized. The infantile form accounts for 90% of cases. It manifests before six months of age with irritability, spasticity, arrest of motor and mental development, and bouts of temperature elevation without infection. This is followed by myoclonic jerks of arms and legs, oposthotonus, hypertonic fits, and mental regression, which progresses to a severe decerebrate condition with no voluntary movements and death from respiratory infections or cerebral hyperpyrexia before 2 years of age. Cases with later onset present with unexplained blindness, weakness and sensorimotor peripheral neuropathy, mental deterioration and death.
See also	MIM:245200 <a href="#">↗</a>

Análisis:

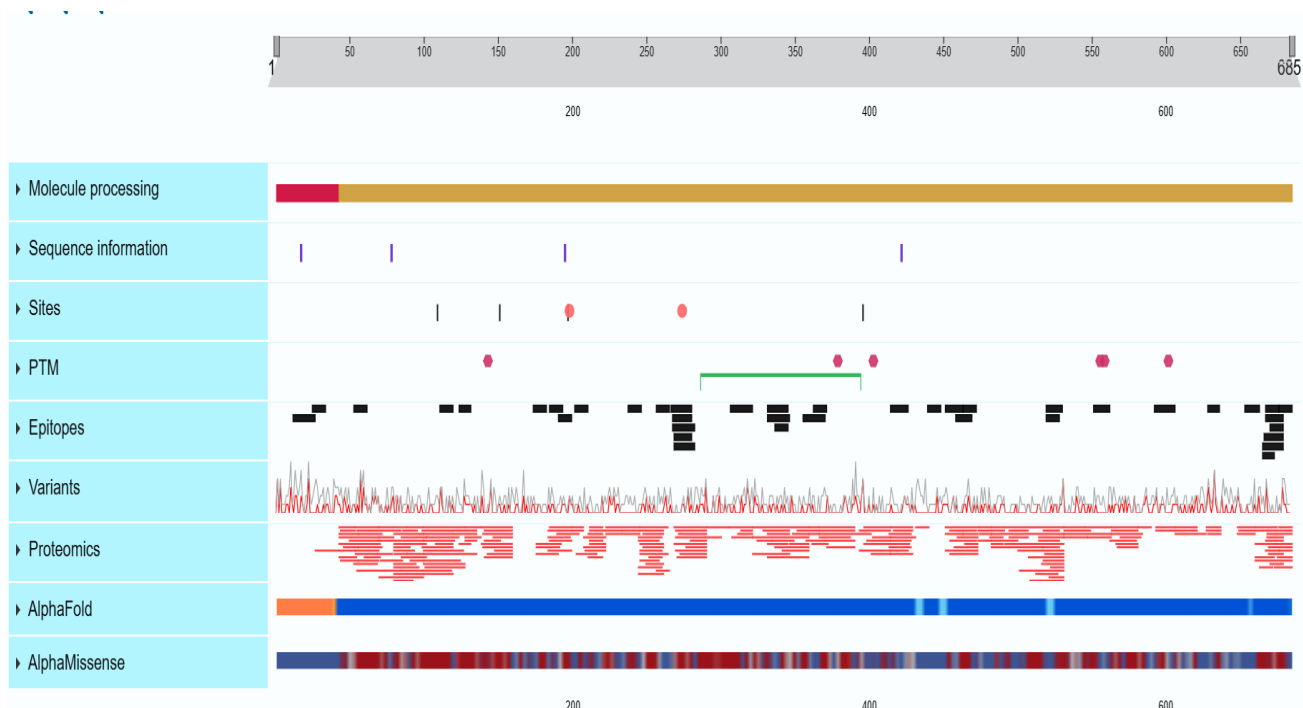
### Natural variants in KRB

VARIANT ID	POSITION(S)	CHANGE	DESCRIPTION
VAR_064431	41	G>S	in KRB; dbSNP: <a href="#">rs387906955</a> 
VAR_013956	59	G>R	in KRB; infantile; significant reduction of activity 
VAR_013957	68	S>F	in KRB; infantile; significant reduction of activity; dbSNP: <a href="#">rs1555383892</a> 
VAR_013958	79	R>H	in KRB; dbSNP: <a href="#">rs370117160</a> 
VAR_013959	82	I>M	in KRB; adult; reduction of activity; when associated with V-305; dbSNP: <a href="#">rs1887063180</a> 
VAR_003380	111	G>D	in KRB; dbSNP: <a href="#">rs746487628</a> 
VAR_003381	111	G>S	in KRB; dbSNP: <a href="#">rs756690487</a> 
VAR_003382	112	T>A	in KRB; dbSNP: <a href="#">rs147313927</a> 
VAR_003383	117	M>L	in KRB; adult; dbSNP: <a href="#">rs145580093</a> 
VAR_064432	130	E>K	in KRB; dbSNP: <a href="#">rs374635469</a> 
VAR_003384	187	D>V	in KRB; dbSNP: <a href="#">rs997021099</a> 
VAR_003385	194	G>A	in KRB; dbSNP: <a href="#">rs963756824</a> 

Uniprot Muestra la totalidad de las variantes patogénicas en la enfermedad de KRABBE, en Variant visualizador.



Análisis:



## Análisis:

En el visualizador de características también podemos encontrar los siguientes análisis, estos serán indexados en las próximas entregas.

VARIANT ID(S)	POSITION(S)	CHANGE	DESCRIPTION	CLINICAL SIGNIFICANCE	PROVENANCE
RCV000669874 ▶ rs758685128 RCV001118813	1	M>I	Galactosylceramide beta-galactosidase deficiency (ClinVar)	Likely pathogenic (ClinVar)	ClinVar dbSNP
RCV000669876 rs780972896	1	M>K	Galactosylceramide beta-galactosidase deficiency (ClinVar)	Likely pathogenic (ClinVar)	ClinVar dbSNP
RCV000669875 rs780972896	1	M>T	Galactosylceramide beta-galactosidase deficiency (ClinVar)	Likely pathogenic (ClinVar)	ClinVar dbSNP
RCV000671876 rs1555384382	1	M>V	Galactosylceramide beta-galactosidase deficiency (ClinVar)	Likely pathogenic (ClinVar)	ClinVar dbSNP
▶ rs990036873	2	A>T			Ensembl
RCV000673659 rs1555384380	3	E>missing	Galactosylceramide beta-galactosidase deficiency (ClinVar)	Pathogenic (ClinVar)	ClinVar dbSNP
RCV000665941 rs1555384381	3	E>missing	Galactosylceramide beta-galactosidase deficiency (ClinVar)	Pathogenic (ClinVar)	ClinVar dbSNP
▶ rs1887306077	3	E>D			Ensembl
RCV002018572 rs2130770080	3	E>V	Galactosylceramide beta-galactosidase deficiency (ClinVar)	Variant of uncertain significance (Ensembl, ClinVar)	ClinVar Ensembl

## Análisis:

Se ha logrado identificar precisamente las 10 variables de interés clínico más significantes para la enfermedad de Krabb, al entrar a RCV000669874, observamos

la información reportada para esa variable patológica, como sus isoformas, estructura y consecuencia.

Search

View Legends

Download Results

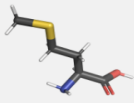
Results	GENOMIC							PROTEIN					ANNOTATIONS		
	Chr.	Coordinate	ID	Ref.	Alt.	Gene	Codon (strand)	CADD	Isoform	Protein name	AA pos.	AA change	Consequence(s)	AlphaMiss. pred.	Click for details
Downloads (0)	Processed 1 input (1 protein)														
	14	87993162	C	A	GALC	auG/auU (-)	23.9	can P54803	Galactocerebrosidase	1	Met/Ile	missense	0.31	<div><div></div><div></div><div></div></div>	
	14	87993162	C	T	GALC	auG/auA (-)	24.2	can P54803	Galactocerebrosidase	1	Met/Ile	missense	0.31	<div><div></div><div></div><div></div></div>	
	14	87993162	C	G	GALC	auG/auC (-)	23.9	can P54803	Galactocerebrosidase	1	Met/Ile	missense	0.31	<div><div></div><div></div><div></div></div>	

Functional information


Variant Residue Position

Annotations from UniProt

No functional data for the variant position



Methionine



Isoleucine

Conservation <sup>ref</sup> 1.00 <sup>i</sup> ● very high <sup>i</sup>

Structure predictions

No predictions available for this variant

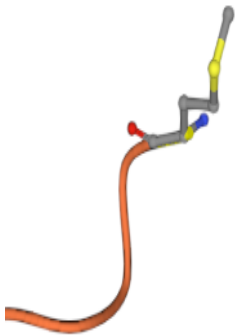
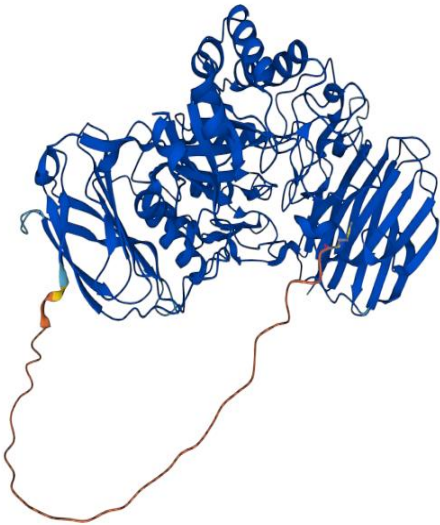
Pathogenicity predictions

CADD <sup>ref</sup> 23.9 <sup>i</sup> ● quite likely deleterious <sup>i</sup>

AlphaMissense <sup>ref</sup> 0.31 <sup>i</sup> ● benign <sup>i</sup>

ESM-1b <sup>ref</sup> -9.2 <sup>i</sup> ● uncertain <sup>i</sup>

☒ ProtVar standardised colours <sup>i</sup>



Análisis:

Por cada variación de origen patológica reportada, se podrá acceder a su información de localización, función y estructura, para así relacionar en la siguiente entrega la totalidad de 10 variantes patológicas.

# UniProtKB/Swiss-Prot P54803: Variant p.Gly41Ser

Variant information
Sequence information
Literature citations
All

## Variant information

**Variant position:** 41  
**Type of variant:** LP/P [Disclaimer]  
**Residue change:** From Glycine (G) to Serine (S) at position 41 (G41S, p.Gly41Ser).  
**Physico-chemical properties:** Change from glycine (G) to small size and polar (S)  
**BLOSUM score:** 0  
**Variant description:** In KRB.  
**Other resources:**

- Variant rs387906955 [ dbSNP | Ensembl ]

## Sequence information

**Variant position:** 41  
**Protein sequence length:** 685  
**Location on the sequence:** AGSAGRAAVPLLLCALLAPG G AYVLDDSDGLGREFDGIGAV  
**Residue conservation:**

Human	AGSAGRAAVPLLLCALLAPGGA--YVLD-DSDGLGREFDGIGAV
	AGSAGHAAVPLLLCALLVPGBA--YVLD-DSDGLGREFDGV
Rhesus macaque	AGSAGRAAVPFLLCALLAPGGA--YVLD-DSDGLGREFDGI
Mouse	AGSASRVAVPLLLCALLVPGBA--YVLD-DSDGLGREFDGI
Xenopus laevis	APGCGEGMFILCLALLAPGAPAQYSVD-DFGGLGRMFDGI
Xenopus tropicalis	APGCGEGMFILWLVLFFPGAPAQYSVD-DLGGLGRMFDGI
Zebrafish	----MQTHNFLCIISVILGCSAQFYVID-DRIGLGREFDGI
Caenorhabditis elegans	-----MFSIFIKIILPSIATKTNNIDIKSWRSAQTDFGF

## Sequence annotation in neighborhood

Type	Positions	Description
Signal peptide	1 – 42	
Alternative sequence	1 – 65	MAEWLLSASWQRRAKAMTAAAGSAGRAAVPLLLCALLAPGGAYVLDDSDGLGREFDGIGAVSGGG -> MLGKSHGRATHGPLPLADLGIHLPCVKVLHQVTPEEKPA. In isoform 4.
Alternative sequence	1 – 65	MAEWLLSASWQRRAKAMTAAAGSAGRAAVPLLLCALLAPGGAYVLDDSDGLGREFDGIGAVSGGG -> MGFMVADLW. In isoform 5.

Análisis:

## **Acceso Programático Uniprot**

## Conclusiones

## Discusión

## Bibliografía

[1] Terminos MeSH. 2024. Consultado en: 129 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh>.

[2] Garcia, L. Uribe, A. Analisis de la beta-Galactoserincelimidasa Leucocitaria en Pacientes Colombianos con Sospecha Clínica de Enfermedad de KRABBE, un Tamizaje de Alto Riesgo. 2017. Universidad de Los Andes.

[3] MINSALUD Colombia. Enfermedades Huerfanas. 2011. Consultado en: <https://minsalud.gov.co/salud/publica/PENT/Paginas/enfermedades>

[4] P, Khanal. S, Patil. K, Bhattacharya.A,Shrivastava. V. Bhandare. Exploring the globoid cell leukodystrophy protein network an therapeutic interventions. Nature portafolio. 2024. Consultado en:— <https://doi.org/10.1038/s41598-024-66437-8>

[5]

[6]



