

Asignatura	Datos del alumno	Fecha
<b>Genética Clínica y de Poblaciones</b>	Apellidos:	
	Nombre:	

# Análisis *in-sílico* de variantes

## Actividad 2 grupal

### EQUIPO 2 LOTE 10

Gálvez Robleño, Carlos  
 Rayo Morales, Mario Andrés  
 Benítez Fernández, Sergio  
 Salas Ramos, Maria  
 Encarnación Alejandro, Freyda Luisa

Asignatura	Datos del alumno	Fecha
<b>Genética Clínica y de Poblaciones</b>	Apellidos:	
	Nombre:	

## ÍNDICE

1. Nomenclatura de la mutación, gen y locus	3
2. Frecuencia alélica poblacional	3
3. Conservación y predicción de la patogenicidad	4
4. Enfermedad hereditaria.	5
5. Discurso de asesoramiento genético	5
6. Bibliografía	8

Asignatura	Datos del alumno	Fecha
Genética Clínica y de Poblaciones	Apellidos:	
	Nombre:	

### Variante asignada: NC\_000023.10:g.38226614G>A

#### 1. Nomenclatura de la mutación, gen y locus

Mediante el programa Mutalyzer 2 y la opción “position converter”, es posible transformar la nomenclatura de la variante a c. Para obtener la nomenclatura en p, se debe utilizar la opción “Name checker”. Como resultado obtenemos:

- Nomenclatura de la variante en c: NC\_000023.10(OTC\_v001):c.148G>A
- Nomenclatura de la variante en p: NC\_000023.10:p.(Gly50Arg)

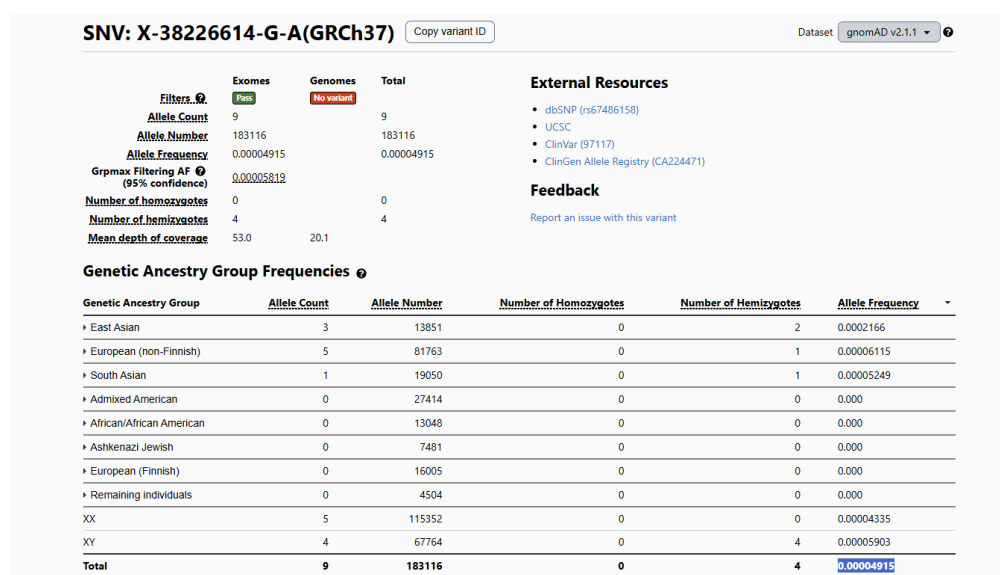
Respecto al número del transcrito según los códigos del NCBI, el número seleccionado es NM\_000531.5.

El gen en el que se localiza la mutación según el número de transcrito seleccionado es el Homo sapiens ornithine carbamoyltransferase (OTC), correspondiente al locus citogenético Xp11.4 (X=cromosoma X, p=brazo corto, 11.4= posición exacta).

Por otro lado, esta mutación se trata de una mutación missense, en la cual se cambia una Glicina por una Arginina.

#### 2. Frecuencia alélica poblacional

A continuación, se determina la frecuencia alélica poblacional general mediante la base de datos gnomAD.



**Figura 1: Resultados de gnomAD**

En la figura 1 se puede observar la frecuencia alélica de esta variante, tanto en distintas etnias como de la población general. La frecuencia alélica poblacional general de esta variante es de 0.00004915 lo que indica que es muy rara en la población general.

Asignatura	Datos del alumno	Fecha
Genética Clínica y de Poblaciones	Apellidos:	
	Nombre:	

### 3. Conservación y predicción de la patogenicidad

Para predecir la patogenicidad de las variantes se utilizaron las herramientas SIFT y Polyphen2. Respecto a SIFT, se obtuvo un score de 0.58, lo que sugiere que sería una mutación tolerada. Sin embargo, en PolyPhen2 se obtuvo un score de 0.817, lo cual indica que es una mutación probablemente dañina.

En este caso vemos que en cada programa da un resultado distinto, aunque ambos están diseñados para predecir el impacto de las mutaciones en la función de las proteínas, **SIFT** y **PolyPhen** usan diferentes enfoques y fuentes de información, lo que puede dar lugar a discrepancias en la clasificación de las mutaciones. Una mutación podría ser vista como "tolerada" por SIFT y "probablemente dañina" por PolyPhen debido a las diferencias en la forma en que evalúan las características de la proteína y las mutaciones.

Debido a que los datos para Polyphen y SIFT no coinciden se debería hacer un estudio más profundo, como usar herramientas extra como Uniprot para ver si el cambio de aminoácido podría afectar a la estructura y función de la proteína que se forma.

Chr.	Coordinate	ID	Ref.	Alt.	Gene	Codon (strand)	CADD	Isoform	Protein name	AA pos.	AA change	Consequence(s)	AlphaMiss. pred.	Click for details
X	38367361	G	A	OTC	Gga/Aga (+)	22.4	can P00480	Ornithine transc...	50	Gly/Arg	missense	0.21		
X	38367361	G	C	OTC	Input: P00480 G50R	2.3	can P00480	Ornithine transc...	50	Gly/Arg	missense	0.21		

**Functional information**

**Variant Residue Position**

Annotations from UniProt  
No functional data for the variant position

Glycine → Arginine

**Predictions**

Conservation	0.43	fairly low
Structure predictions		
Stability change $\Delta\Delta G$	0.70	unlikely to be destabilising
Pathogenicity predictions		
CADD	22.3	quite likely deleterious
AlphaMissense	0.21	benign
EVE	0.09	benign
ESM-1b	-3.3	benign

☒ ProtVar standardised colours

**Region Containing Variant Position**

Annotations from UniProt

Chain-Omithine transcarbamylase, mitochondrial

Alpha-helix

**Structure predictions**

Pockets containing variant

Pocket confidence: Show all

Pocket	P14
Combined score	586.60 low confidence
Pocket pLDDT mean	98.54 very high confidence
Energy per volume	0.32 kcal/mol
Buriedness	0.73
Radius of gyration	5.19 Å
Residues	45-52,54,209-212,232,235,236,239,240

No P-P interaction predicted at variant position

Figura 2. Análisis en Uniprot.

La variante está localizada en la región N-terminal, que corresponde a la cadena funcional del OTC en la zona mitocondrial, concretamente, se encuentra en una hélice alfa, una estructura secundaria crucial para la estabilidad y el funcionamiento

Asignatura	Datos del alumno	Fecha
<b>Genética Clínica y de Poblaciones</b>	Apellidos:	
	Nombre:	

de la proteína. El cambio de aminoácido de glicina a arginina podría alterar esta hélice alfa y las propiedades físico-químicas de la proteína. Como se ve en la figura 2, la estabilidad predicha del cambio es de 0.7, significando que Uniprot predice que es improbable que el cambio aminoacídico desestabilice la proteína.

Al ser una mutación de cambio de nucleótido, se realizó un alineamiento de las secuencias mediante Clustal Omega para la evaluación de la conservación del aminoácido afectado. Para analizar la conservación del aminoácido afectado, se comparó la secuencia referencia de *Homo sapiens* con diferentes especies como *Macaca*, *Mus musculus*, *Gallus gallus*, *Danio rerio* y *S. cerevisiae*.

```

CLUSTAL O(1.2.4) multiple sequence alignment

Homo      MLFNLRIILLNNAAFRNGHNFVVRNFRCGQPLQNKVQLKGRDLLTLKNFTGEEIKYMLWLS      60
Macaca     MLFNLRIILLNNAAFRNGHSFVVRNFRCGQPLQNKVQLKGRDLLTLKNFTGEEIKYMLWLS      60
Mus        MLSNLRIILLNNAALRKGHTSVVRHFWCGKPVQSQVQLKGRDLLTLKNFTGEEIQYMLWLS      60
Danio      -MFALKSRIY-YSLGFAKCCQSRNFSVGKATLDSVNLKGRSFLTLDYNAEEIKHILWVS      58
S.         -----MSTTASTPSSLRHLISIKDLSDEEFILVQRA      32
              ..  . *  ::::*  .  **::  ::  :

```

**Figura 3.** La G (glicina) marcada en azul corresponde a la posición 50 (dónde se da el cambio de nucleótido por arginina en nuestra secuencia problema)

#### 4. Enfermedad hereditaria.

Una vez conocida el tipo de mutación en cuestión, el gen en el que se localiza y su locus citogenético, para conocer el posible efecto fenotípico y la enfermedad asociada a la mutación, es de gran utilidad el uso de la base de datos OMIM. Como resultado de la búsqueda se obtiene una mutación en el Xp11.4 asociada a una deficiencia en la proteína OTC.

Esta deficiencia específica está relacionada fenotípicamente con la enfermedad conocida como deficiencia de ornitina transcarbamilasa (OTCD, de *Ornithine transcarbamylase deficiency* (1). OTCD es una enfermedad ligada al cromosoma X basada en un desorden metabólico hereditario que afecta al metabolismo normal de la urea y la producción de urea, conocida como urea génesis. Este desorden metabólico del ciclo de la urea puede provocar diferentes afectaciones fenotípicas, como hiperamonemia, hipotermia y alcalosis respiratoria (1,2).

#### 5. Discurso de asesoramiento genético

##### Diagnóstico

Asignatura	Datos del alumno	Fecha
<b>Genética Clínica y de Poblaciones</b>	Apellidos:	
	Nombre:	

El diagnóstico de la deficiencia de OTC se confirma en hombres con manifestaciones clínicas y de laboratorio compatibles, junto con al menos UNO de los siguientes criterios (7):

- Identificación de una variante patogénica hemicigota en el gen *OTC* mediante un análisis genético molecular.
- Reducción de la actividad enzimática de OTC en el hígado.
- Un aumento significativo en la excreción de ácido orótico ( $\geq 20 \mu\text{mol}/\text{mmol}$  de creatinina) en una muestra de orina al azar o después de una prueba de desafío con alopurinol, acompañado de antecedentes médicos que incluyan anomalías bioquímicas asociadas a la deficiencia de OTC (como niveles elevados de amoníaco y glutamina, junto con niveles bajos o normales de citrulina), además de la ausencia de indicios bioquímicos o genéticos que apunten a otro trastorno metabólico congénito.

En mujeres, el diagnóstico de la deficiencia de OTC generalmente se realiza cuando los hallazgos clínicos y de laboratorio son compatibles y se cumple al menos UNO de los siguientes criterios:

- Un aumento marcado en la excreción de ácido orótico ( $\geq 20 \mu\text{mol}/\text{mmol}$  de creatinina) en una muestra de orina al azar o tras una prueba de desafío con alopurinol, junto con antecedentes de alteraciones bioquímicas asociadas a la deficiencia de OTC (como amoníaco y glutamina elevados y citrulina baja o dentro de lo normal), además de la ausencia de evidencias bioquímicas o genéticas que sugieran otro trastorno metabólico congénito.
- Detección de una variante patogénica heterocigota en el gen *OTC* mediante análisis genético molecular.

### Patrón de herencia

Respecto al patrón de herencia de OTCD, históricamente se consideraba como una enfermedad dominante o parcialmente dominante ligada al cromosoma X. Esto es debido a la presentación de la sintomatología más seria en hombres homocigóticos en periodo neonatal, mientras que las mujeres heterocigotas, conocidas como “portadoras”, pueden llegar a presentar manifestaciones tardías e inespecíficas de la enfermedad (1,3). Si bien es cierto que en las mujeres es menos probable esta presentación letal temprana que en hombres, pueden experimentar diferentes manifestaciones crónicas no específicas de la enfermedad, las cuales pueden ser clínicamente incomprendidas o pasadas por alto. Debido a esto, en la actualidad OTCD es conocida como una enfermedad ligada al cromosoma X sin una herencia dominante/recesiva indicada (4–6). Para referirse a los diferentes fenotipos

Asignatura	Datos del alumno	Fecha
<b>Genética Clínica y de Poblaciones</b>	Apellidos:	
	Nombre:	

asociados a la enfermedad, se utilizan términos como OTCD de aparición neonatal (grave), posneonatal, o tardía (parcial) (5–7).

### Tratamiento

El tratamiento y manejo del OTCD a largo plazo se basa principalmente en la suplementación con aminoácidos esenciales (arginina y citrulina principalmente), una dieta baja en proteínas, y el uso de dosis de agentes eliminadores de nitrógeno. Otra alternativa efectiva para el tratamiento de OTCD es el trasplante de hígado (8,9).

### Pronóstico

El pronóstico de OTCD varía dependiendo del tiempo en el que tarda en aparecer la enfermedad. En individuos con una aparición neonatal de la enfermedad, OTCD causa una gran morbilidad y mortalidad, con una *ratio* de mortalidad del 24% (10). En pacientes con una aparición tardía, la mortalidad baja a un 11% (11). Este pronóstico depende también de la duración de niveles elevados de amoniaco durante la crisis de exceso de amoniaco del neonato (7). Un estado de niveles elevados de amoniaco prolongado está asociado a un peor pronóstico.

### Resolución problema:

Como los mellizos son varones, habrán heredado un cromosoma Y de su padre, lo que significa que la probabilidad de que los niños estén afectados depende de la herencia del cromosoma X de la madre. Como los niños son mellizos y, por tanto, no genéticamente idénticos, la probabilidad de que estén enfermos son independientes entre ellos:

$$P_{\text{ambos enfermos}} = P_{\text{mellizo1 enfermo}} \cdot P_{\text{mellizo2 enfermo}}$$

Los hijos solo pueden heredar 1 cromosoma X de los 2 que tiene su madre y del padre reciben sólo el Y. Si la madre es heterocigota, uno wildtype y otro la variante que estudiamos (secuencia problema, mutación pLys50Arg), la probabilidad de que sus hijos hereden el cromosoma mutado es de 0.5 (50%), ya que heredará de la madre el alelo wt o bien el alterado. Por tanto, la probabilidad para cada mellizo de estar enfermo es de un 50 %.

Debido a esto, la probabilidad conjunta de que los dos fetos estén enfermos será =  $0.5 \cdot 0.5 = 0.25$ . Hay un 25% de probabilidad de que ambos niños mellizos estén enfermos.

En el supuesto de que la madre fuera homocigótica para la enfermedad (ambos alelos mutados), la herencia para los mellizos sería de un 100% para ambos. Debido a que heredarían bien un cromosoma X o el alternativo de la madre y ambos estarían alterados.

Asignatura	Datos del alumno	Fecha
Genética Clínica y de Poblaciones	Apellidos:	
	Nombre:	

## 6. Bibliografía

1. Seker Yilmaz B, Baruteau J, Arslan N, Aydin HI, Barth M, Bozaci AE, et al. Three-Country Snapshot of Ornithine Transcarbamylase Deficiency. Life [Internet]. 2022 Nov 1 [cited 2025 Jan 6];12(11):1721. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9695856/>
2. Knerr I, Cassiman D. Ornithine transcarbamylase deficiency: A diagnostic odyssey. J Inherit Metab Dis [Internet]. 2022 Jul 1 [cited 2025 Jan 6];45(4):661. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9541173/>
3. Short EM, Conn HO, Snodgrass PJ, Campbell AGM, Rosenberg LE. Evidence for X-Linked Dominant Inheritance of Ornithine Transcarbamylase Deficiency. New England Journal of Medicine [Internet]. 1973 Jan 4 [cited 2025 Jan 6];288(1):7–12. Available from: <https://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM197301042880102>
4. Tsipis J, Thompson CA. Hidden on the X: Psychosocial Implications of Ornithine Transcarbamylase Deficiency in Female Carriers. 2016 [cited 2025 Jan 6]; Available from: <https://scholarworks.brandeis.edu/esploro/outputs/graduate/Hidden-on-the-X-Psychosocial-Implications/9923879933001921>
5. Migeon BR. X-linked diseases: susceptible females. Genetics in Medicine [Internet]. 2020 Jul 1 [cited 2025 Jan 6];22(7):1156–74. Available from: <http://www.gimjournal.org/article/S109836002101176X/fulltext>
6. Feigenbaum A. Challenges of managing ornithine transcarbamylase deficiency in female heterozygotes. Mol Genet Metab Rep [Internet]. 2022 Dec 1 [cited 2025 Jan 6];33(Suppl 1):100941. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9817477/>
7. Lichter-Konecki U, Caldovic L, Morizono H, Simpson K, Mew NA, MacLeod E. Ornithine Transcarbamylase Deficiency. GeneReviews® [Internet]. 2022 May 26 [cited 2025 Jan 6]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK154378/>
8. Häberle J, Burlina A, Chakrapani A, Dixon M, Karall D, Lindner M, et al. Suggested guidelines for the diagnosis and management of urea cycle disorders: First revision. J Inherit Metab Dis [Internet]. 2019 Nov 1 [cited 2025 Jan 6];42(6):1192–230. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30982989/>
9. Häberle J, Burlina A, Chakrapani A, Dixon M, Karall D, Lindner M, et al. Suggested guidelines for the diagnosis and management of urea cycle disorders: First revision. J Inherit Metab Dis [Internet]. 2019 Nov 1 [cited 2025



Asignatura	Datos del alumno	Fecha
<b>Genética Clínica y de Poblaciones</b>	Apellidos:	
	Nombre:	

- Jan 6];42(6):1192–230. Available from:  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jimd.12100>
10. Gropman A. Brain imaging in Urea cycle disorders. Mol Genet Metab [Internet]. 2010 [cited 2025 Jan 6];100(Suppl 1):S20. Available from:  
<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3258295/>
  11. Batshaw ML, Tuchman M, Summar M, Seminara J, Summar ML, Baumgartner MR, et al. A longitudinal study of urea cycle disorders. Mol Genet Metab [Internet]. 2014 Sep 1 [cited 2025 Jan 6];113(1–2):127–30. Available from:  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25135652/>