

## DIAGNÓSTICO DE ATROFIA MUSCULAR ESPINAL (SOLO GEN *SMN1*), ESTUDIO GENÉTICO MOLECULAR POR MLPA

Actualizado en Junio de 2021 por Blga. Alejandra Vera  
Revisado y Aprobado por Dra. Marcela Lagos

Código del Examen : 2512

Nombres del Examen : Diagnóstico genético-molecular de Atrofia Muscular Espinal (SMA) (solo gen *SMN1*), Estudio genético molecular por MLPA  
Estudio del gen *SMN1*

Laboratorios de Procesamiento :

| Laboratorio        | Días de Procesamiento | Plazo de Entrega de Resultados                           |
|--------------------|-----------------------|--|
| Biología Molecular | Lunes a Viernes       | 10 días hábiles<br><b>Recién Nacidos: 4 días hábiles</b> |

Se requiere envío de copia de la orden médica.

### NOTAS:

- Esta prestación no aplica para estudio de portación.
- Para solicitudes de estudio de portación de Atrofia Muscular Espinal (gen *SMN1*) ingresar prestación código 2861.

Preparación del Paciente : No requiere

Muestra Requerida : ■ Sangre completa  
Recolectar 1 tubo tapa lila con EDTA, volumen mínimo: 2 ml

Estabilidad de la Muestra<sup>1</sup> :

| Muestra               | T° Ambiente (20 - 25 °C) | Refrigerada (2 - 8 °C) | Congelada (-20°C) |
|-----------------------|--------------------------|------------------------|-------------------|
| Sangre Total con EDTA | 3 días                   | 1 mes                  | No aplica         |

Condiciones de Envío al Laboratorio : \*Dentro de Santiago y en el día  
Sangre Total con EDTA: Ambiente SI/ Refrigerada SI/ Congelada NO

\*Desde fuera de Santiago  
Sangre Total con EDTA: Ambiente SI/ Refrigerada SÍ/ Congelada NO

\*Sólo si el tiempo de traslado cumple con la estabilidad de la muestra.

Método Utilizado : El estudio se realiza por MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification) con el Kit comercial SALSA MLPA P021 de MRC-Holland® el que permite el análisis de variaciones en el número de copias del gen *SMN1*.

Intervalos de Referencia : No aplica

Valor de Alerta : No aplica

Parámetros de Desempeño<sup>2,3,4,5</sup> : La atrofia muscular espinal (SMA) es causada por ausencia de copias funcionales de gen *SMN1* en estado homocigoto, es decir ambas copias del gen (específicamente del exón 7) están ausentes en más del 95% de los casos afectados. El MLPA permite identificar variaciones en el número de copias de *SMN1* que se deban a alteraciones de tipo deleciones y microconversiones

génicas, sin embargo esta metodología no permite detectar variantes patogénicas puntuales intragénicas.

**NOTAS:**

- El mecanismo de la alteración (deleción o microconversión) no se reporta en el informe de resultado.
- Debido que la prestación de nuestro laboratorio es para el Diagnóstico de SMA, solo se reporta el número de copias del gen *SMN1*, sin embargo el número de copias del gen *SMN2* se reportará sólo en los casos con 0 copias de *SMN1*, para propósitos de pronosis.
- Errores en la tipificación pueden ocurrir si la secuencia de ADN analizada presenta variantes polimórficas raras que afecten la unión de las sondas del MLPA al ADN, resultando en un falso negativo o falso positivo.
- En el caso de individuos sintomáticos en los que se observe solo una copia de *SMN1*, mediante el MLPA no nos es posible determinar si esa copia es funcional, ya que esta metodología no detecta mutaciones puntuales que pudieran ser patogénicas y por tanto inactivantes de la copia presente de *SMN1*. En tales casos no es posible descartar el diagnóstico clínico de SMA.

**Información Clínica<sup>2,3,4,5</sup>**

: La Atrofia Muscular Espinal (SMA) es una de las enfermedades autosómicas recesivas más comunes, afectando aproximadamente 1/10.000 a 1/6.500 nacidos vivos y con una frecuencia de portación altamente variable según etnia y población. La tasa de casos de novo, es decir alteraciones en el gen que se observan por primera vez en un miembro de la familia, resultan de una mutación ocurrida en células germinales de alguno de los padres o en el mismo embrión.

En el caso de la SMA la tasa de casos de novo es de aproximadamente un 2% y por lo general son de origen paterno originadas en la gametogénesis masculina.

La SMA se caracteriza clínicamente por debilidad muscular proximal simétrica, secundaria a la degeneración de las células neuronales motoras de la médula espinal. La SMA se subdivide clínicamente en 3 subtipos de acuerdo a la edad de aparición de los síntomas y la severidad clínica de acuerdo a criterios de diagnóstico establecidos. Aproximadamente el 60% de los pacientes presentan SMA tipo I, seguido por el tipo II y tipo III. SMA está asociada genéticamente a mutaciones homocigotas en el gen *SMN1* (Survival Motor Neuron 1), con locus en 5q13. La presencia de al menos una copia funcional de *SMN1* es esencial para la sobrevivencia de las neuronas motoras. La mutación 840C>T en el exón 7 del gen, tiene como efecto la pérdida del exón 7 en el transcrito, lo que produce una proteína trunca que es degradada teniendo como efecto deficiencia de la proteína *SMN1*. Aproximadamente entre el 95% al 98% de los pacientes con SMA carecen de ambas copias del exón 7 de *SMN1* (ausencia homocigota). La principal causa es por deleción seguida de microconversiones génicas. En el resto de los pacientes, aproximadamente el 5% se observa solo una copia de *SMN1*, sin embargo ésta está inactiva por la presencia de una variante patogénica puntual (mutación puntual) intragénicas. También hay pacientes en los que no se encuentra ningún tipo de alteración en *SMN1* a pesar de la clínica. En estos casos se considera que dichos pacientes presentan una enfermedad similar a SMA pero no relacionada al gen *SMN1*.

**Determinación de número de copias del gen *SMN2***

El gen *SMN2* es homólogo de *SMN1*. Ambos genes tienen un 98% de homología

en su secuencia y solo difieren en 5 nucleótidos, de los cuales 2 son de relevancia transcripcional, ya que su efecto es la producción por parte de *SMN2* de una proteína trunca la cual es inestable y no funcional. Sin embargo está descrito que aproximadamente 10% al 20% de los transcritos de *SMN2*, sí producen una proteína funcional, aunque este porcentaje no es suficiente para compensar por la falta de *SMN1* en individuos afectados.

La determinación de número de copias de *SMN2* no se hace de rutina en un laboratorio clínico para el diagnóstico de SMA ya que su utilidad es para pronóstico de SMA. Sin embargo a pesar que se ha observado una correlación entre el número presente de copias de *SMN2* y el fenotipo SMA de un paciente, es muy importante recalcar que dicha relación no es definitiva ni exacta y que los distintos tipos de SMA los fenotipos clínicos son más un continuum que fenotipos distintivos, incluso se han descrito subtipos en ambos extremos del espectro (SMA subtipo 0 y IV). Por lo tanto, el principal valor de la determinación de número de copias presentes del pseudogen *SMN2*, es la estratificación de los pacientes, ya sea para ensayos clínicos o para evaluar posibilidades de tratamientos, ya que la estratificación permite determinar quienes tienen mejores probabilidades de responder positivamente ellos. Por consiguiente, el número de copias de *SMN2* debe ser interpretado con cautela en un ámbito clínico, ya que si bien hay una asociación, es más que nada un indicador que puede proveer información probabilística con respecto a la severidad clínica de la enfermedad en un individuo afectado, pero no debe ser vista como algo definitivo y absoluto, además se ha descrito que no solo *SMN2* influencia el fenotipo en SMA, sino que hay otros genes y factores genéticos modificadores.

**Al determinar el número de copias de *SMN2*, mediante esta metodología no es posible determinar si todas las copias presentes son funcionales debido a la posible presencia de mutaciones puntuales que no son detectadas por esta metodología.**

**Indicaciones:**

- Casos con fenotipo clínico sugerente de SMA para confirmación molecular del diagnóstico.

**Interpretación de resultados:**

| Número de copias de <i>SMN1</i> | Interpretación  |
|---------------------------------|---|
| 0x (delección homocigota)       | Este resultado es concordante con el diagnóstico clínico de SMA                         |
| 1 copia (1x)                    | En un individuo sintomático este resultado no permite descartar un diagnóstico de SMA * |
| 2 copias (2x)                   | Este resultado no es compatible con el diagnóstico clínico de SMA.                      |

\* 2% -5% de los individuos con SMA presentan la pérdida de una copia de *SMN1* y la inactivación de la otra copia presente por una variante patogénica (mutación) puntual intragénica. Si la copia presente de *SMN1* no tiene alteraciones en su secuencia y es por tanto activa, entonces el paciente es portador de SMA.

**Notas:**

Para una adecuada interpretación de los resultados es necesario considerar los hallazgos clínicos.

Factores Interferentes:  
Sangre tomada con Heparina inhibe la PCR.

## Referencias

1. Richardson A. *et al* (2006) Blood storage at 4 °C. Factors involved in DNA yield and quality. *J.Lab.Clin. Med*; 147 (6): 290-294.
2. Ogino S .and Wilson R. (2004) Spinal muscular atrophy: molecular genetics and diagnostics. *Expert Rev Mol. Diag.* 4(1):15-29.
3. Sumner Ch. (2007) Molecular mechanisms of spinal muscular atrophy. *J.of Child Neuro.* 22(8)979-987.
4. Prior T. *et al* (2011) Technical standards and guidelines for spinal muscular atrophy testing. *Genetics in Medicine.* 13 (7) 686-694.
5. Scheffer H. *et al* (2001) Best practice guidelines for molecular analysis in spinal muscular atrophy. *European journal of human genetics.* 9:484-491.

