

DIAGNÓSTICO MOLECULAR de Enfermedades Hereditarias

M. Fernanda Madeira
Médica Pediatra-Genetista
HERITAS (Cibic + Indear)
24/06/19

GENÉTICA MÉDICA

- Ciencia que estudia la influencia de la herencia y de los factores genéticos sobre la salud y la enfermedad.
- Aplicación clínica en diagnóstico, tratamiento y prevención.

Diagnóstico molecular de enfermedades hereditarias: Trabajo interdisciplinario

- Médico genetista.
- Bioquímico.
- Biotecnólogo.
- Biólogo.
- Analistas de datos bioinformáticos.

Prevalencia enfermedades genéticas

- Individualmente son poco frecuentes. En conjunto constituyen un segmento importante de la patología prevalente del niño y adulto.
- 3% RNV presenta un defecto congénito grave, con etiología genética en la mayoría de los casos.
- Se estima que las enfermedades con influencia genética afectan al 5% de menores de 25 años y al 60% de los individuos a lo largo de la vida.

Influencia de los genes
"Espectro de enfermedades"

Enfermedades con etiología genética



Enfermedades causadas por factores ambientales



Enfermedades de herencia multifactorial o poligénica (genes aumentan susceptibilidad)

Congénitas:
DTN,
Cardiopatías,
FLAP, LCC.

Adulto:
DBT II, HTA,
Enf. Coronaria,
Asma,
Tumores.

EVALUACIÓN GENÉTICA

HISTORIA CLÍNICA:

- ANTEC. PERSONALES
- FACTORES de RIESGO
- ANTEC. FAMILIARES
- GENEALOGÍA

EXÁMEN FÍSICO:

- CON o SIN DISMORFIAS
- RETRASO MADURATIVO
 - TRAST. NEURODESARROLLO
- RETRASO CRECIMIENTO

ESTUDIOS

COMPLEMENTARIOS:

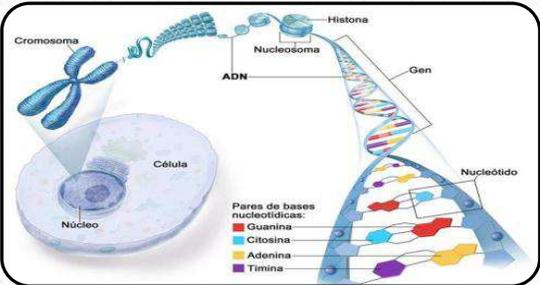
- IMÁGENES de SNC
- OFTALMOLÓGICOS
 - AUDITIVOS
- CARDIOLÓGICOS
- ECO ABDÓMINO-RENALES
- RADIOGRÁFICOS

SINDRÓMICO?

PRESENCIA DE DEFECTOS ESTRUCTURALES QUE ESTÁN RELACIONADOS ETIOLÓGICAMENTE

NO SINDRÓMICO?

Genotipo:
“constitución o carga genética de un individuo”



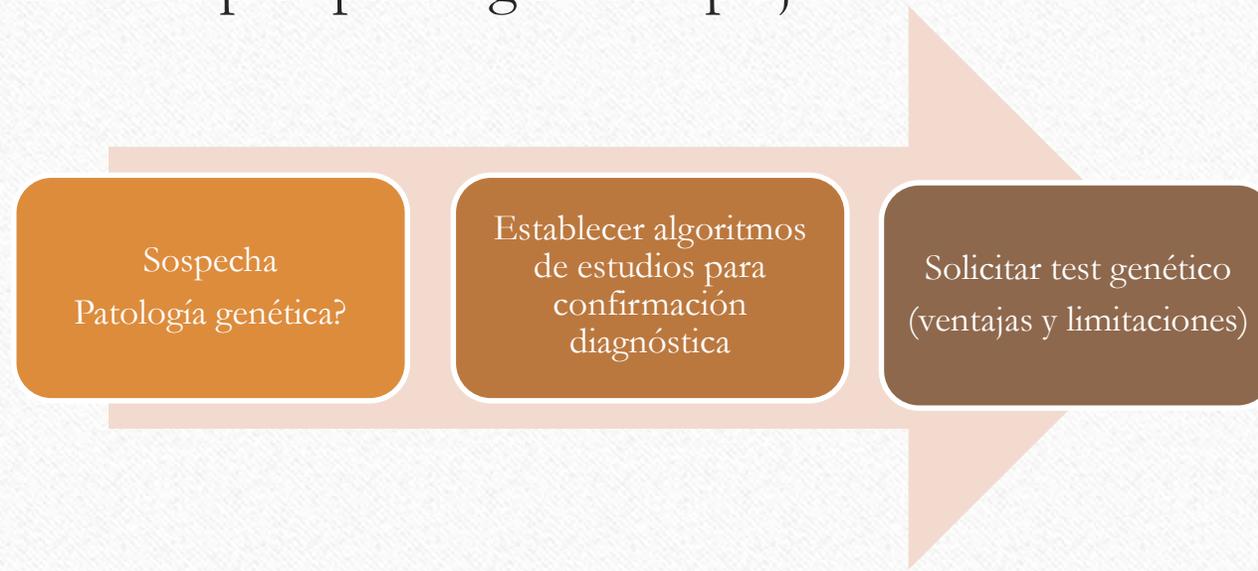
Fenotipo:
“expresión o apariencia externa”



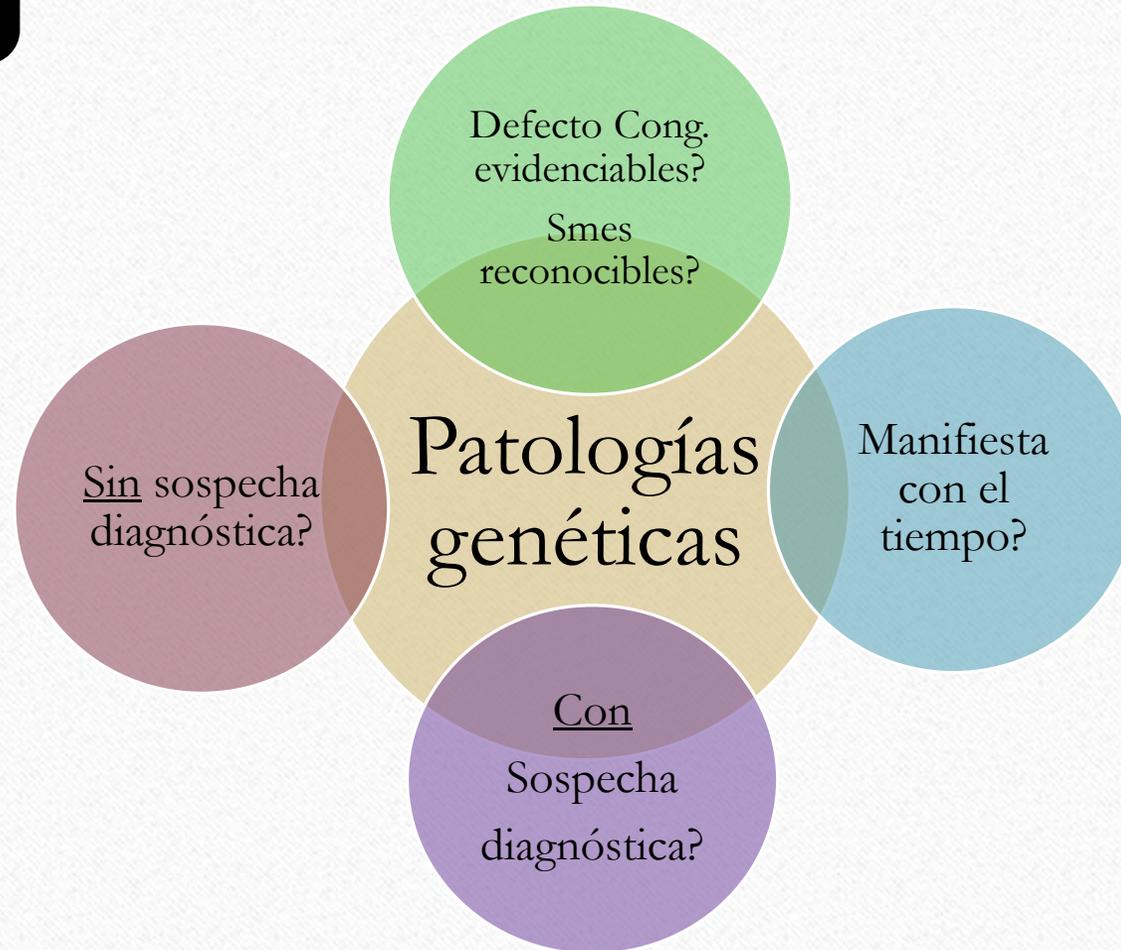
Influenciado por el medio-ambiente

Diagnóstico molecular

- Importante avance en el diagnóstico molecular nos permite la confirmación diagnóstica en múltiples patologías complejas.



Diferentes
escenarios/cuadros de
estudio:



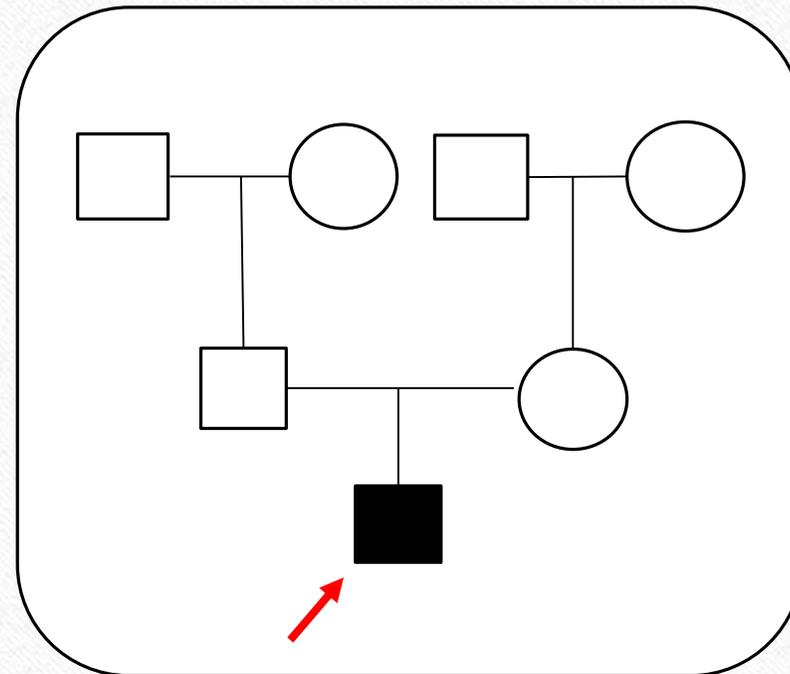
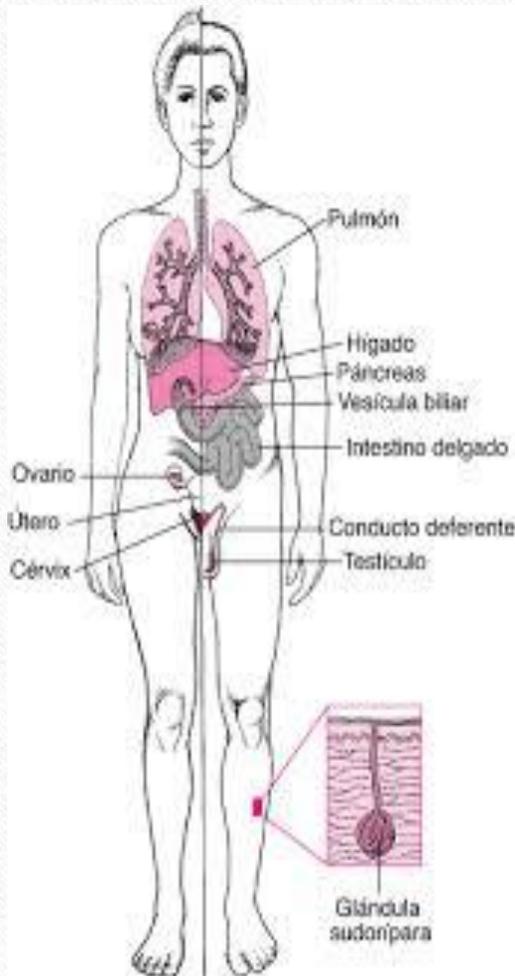
✓ Sospecha de
Fibrosis quística



Enf. Multisistémica:

- Enf. Pulmonar obstructiva, bronquiectasias, sinusitis y bronquitis recurrentes.
- Insuf. pancreát.exócrina y malnutrición.
- Ileo meconial (20% RN)
- Infertilidad en hombres +95% (ausencia congénita vasos deferentes CAVD).

- Aumento TIR (tripsinógeno) en screening neonatal.
- Test sudor (2) alterado.



Herencia autosómica recesiva (AR)

Incidencia: **1/2500**

Desorden genético letal, más común de población descendiente del norte de Europa.

Portadores: **1/40**

Por que realizar estudio
molecular?

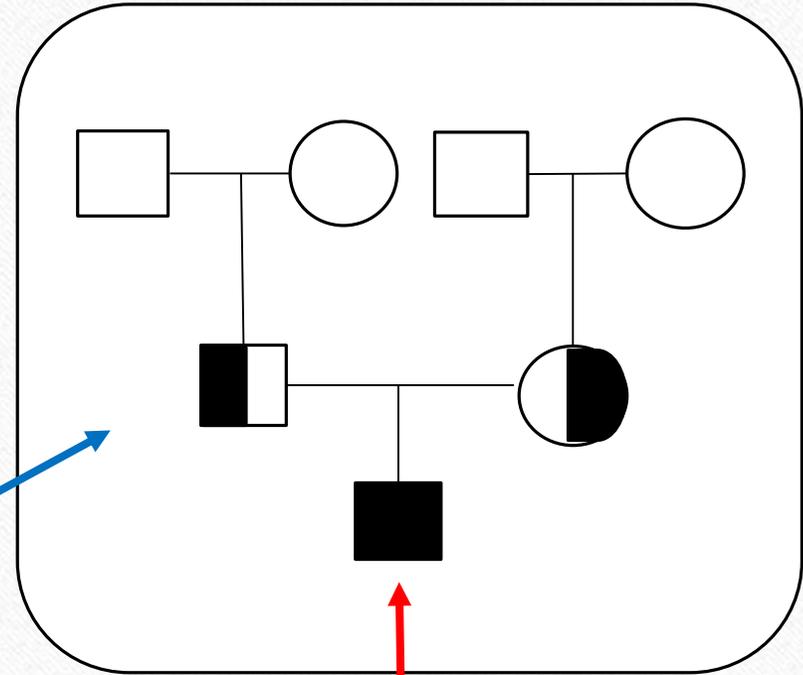
Fibrosis quística

Herencia **AR**

“Mutaciones en un gen”:

CFTR

Progenitores:
son **portadores heterocigotas**
“obligados”, asintomáticos.



“Caso índice”:
2 copias del gen *CFTR* alteradas
(alelo paterno y materno)
Iguales variantes patogénicas “mutaciones”:
Homocigosis
Diferentes variantes patogénicas “mutaciones”:
Heterocigosis compuesta

Estudio molecular FQ:

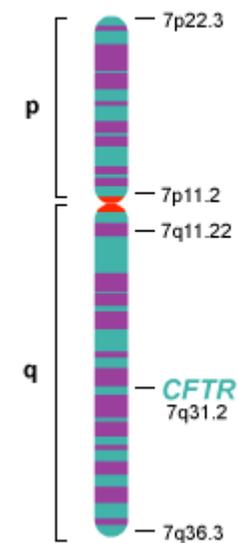
Gen: ***CFTR***
(Regulador de la conductancia de transmembrana fibrosis quística)

Locus: **7q31.2**

Codifica: proteína con función **canal de cloro** que regula el transporte de Cl⁻ y H₂O.

+2000 mutaciones conocidas
+frec: ***del F508*** (70%)

Chromosome 7



- Estudio gen *CFTR*:
Búsqueda de mutaciones más frecuentes:
Panel 50 mutaciones

- Secuenciación completa del gen *CFTR*:
Sanger o NGS.

FIBROSIS QUÍSTICA

Por qué realizar estudio molecular?

Paciente:

- Confirmar diagnóstico: Identificación de variantes patogénicas en gen *CFTR* bialélica (homocigosis o heterocigosis compuesta).
- Definir correlación genotipo-fenotipo (Función pancreática).
- Investigación: terapias específicas para determinadas mutaciones y terapia génica.

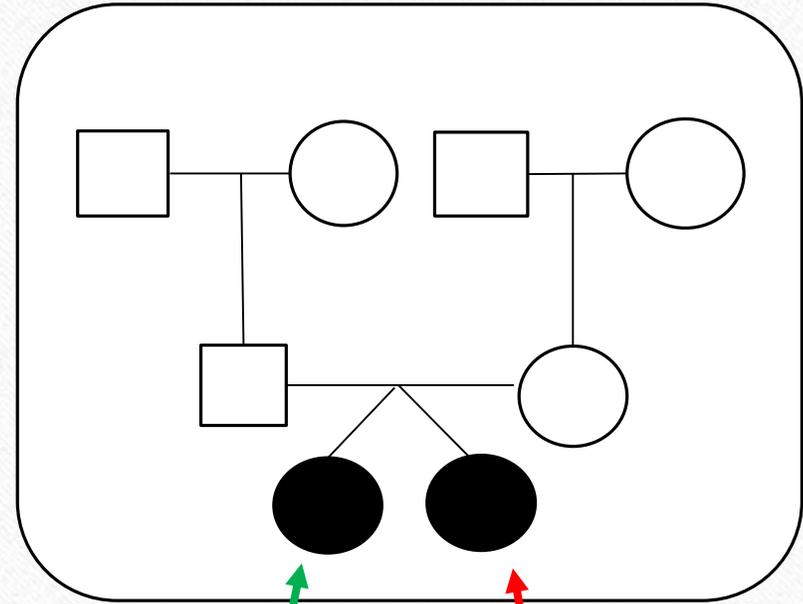
Asesoramiento genético familiar:

- Padres portadores heterocigotas obligados, asintomáticos.
 - RR: 25% cada embarazo.
- Ofrecer estudio de portadores familiares.
 - Estudio de donación de gametas (Técnicas Reproducción Asitida, TRA).

✓ Sospecha de
**Inmunodeficiencia
Primaria (IDP)**



Embarazo gemelar
Bicorial-Biamniótico.
Prematurez.
Evaluación genética:
5 meses (EC 4m)
Evaluación inmunológica:
Leucopenia. Linfopenia.
<AC: Ig G, Ig M.
Mugüet crónico



1º Gemelar
Cardiopatía congénita compleja
(CIA+VI hipoplásico + AO peq.)
Inmunodeficiencia 1º.
Fenotipo sin dismorfias.
Descartar: Sme Di George o
microdelección 22q
Solicita: **CGH array**

2º Gemelar:
Inmunodeficiencia 1º.
Descartar: IDP
Solicita: **Panel de genes**

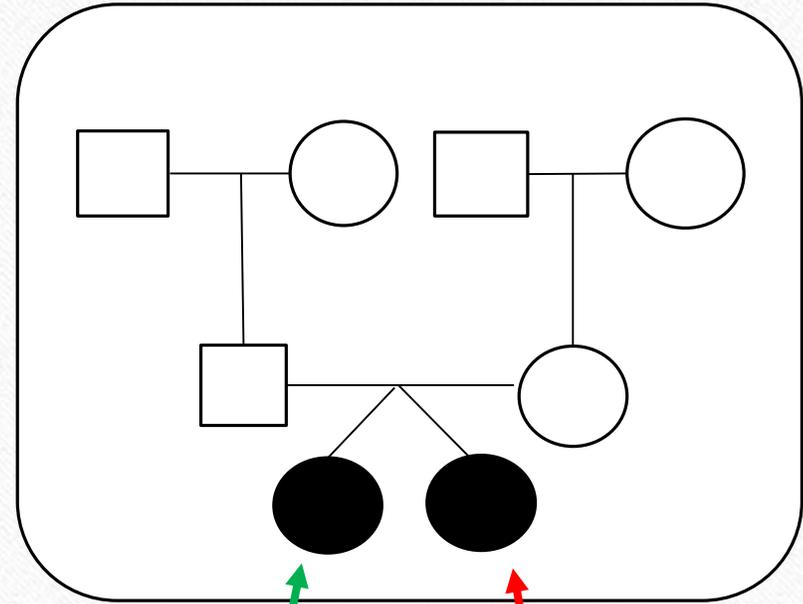
Por que realizar estudio
molecular IDP ?



IDP:
Heterogeneidad genética
“Múltiples genes implicados”
Diagnósticos diferenciales



Panel de genes
por secuenciación **NGS**
(Next Generation Sequencing)



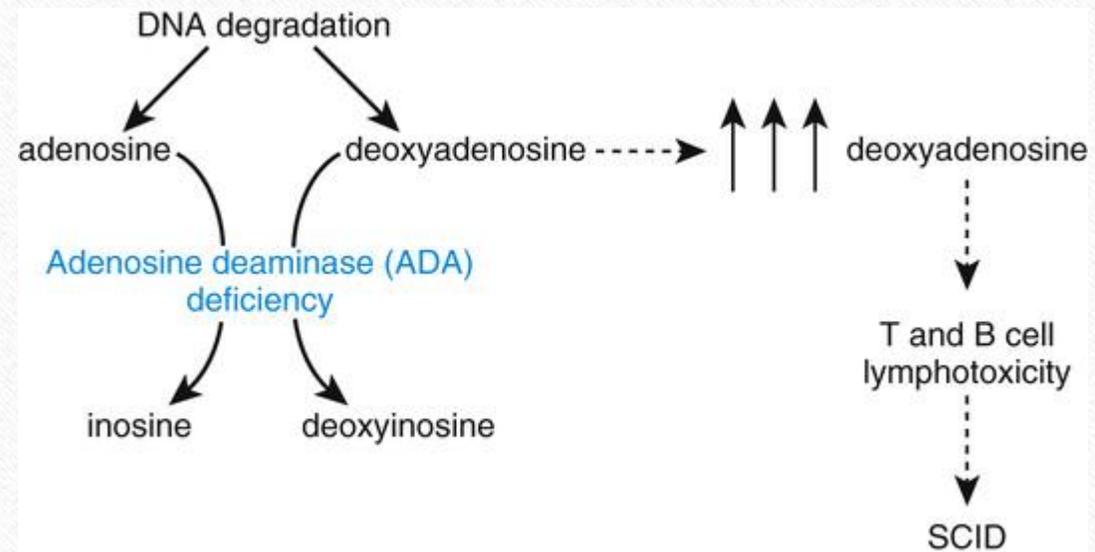
1º Gemelar
Estudio de **CGH array**: Normal

2º Gemelar:
Panel de genes IDP:
variantes patogénicas en
heterocigosis compuesta en
gen **ADA**.

Gen: *ADA*

Locus: 20 q13.12

Codifica:
enzima adenosina deaminasa.



Immunodeficiencia severa combinada debido a deficiencia de ADA.

Por que realizar estudio molecular IDP ?



➤ **Diagnóstico:**

“Inmunodeficiencia severa combinada debido a deficiencia de ADA”

Dosaje enzimático ADA <1% y/o Identificación bialélica variantes patogénicas.

Informe de estudio:

Heterocigosis: c.730delG (p.Glu244LysfsTer67)

“Patogénica”.

Heterocigosis: c.254 A>T (p.Glu85Val)

“Probablemente patogénica”.



➤ **Asesoramiento genético:**

Patología autosómica recesiva.

RR: 25%

Recomendación:

estudio de las variantes identificadas por secuenciación Sanger a la hermana (clínica compatible) y a los padres (portadores obligados, asintomáticos)

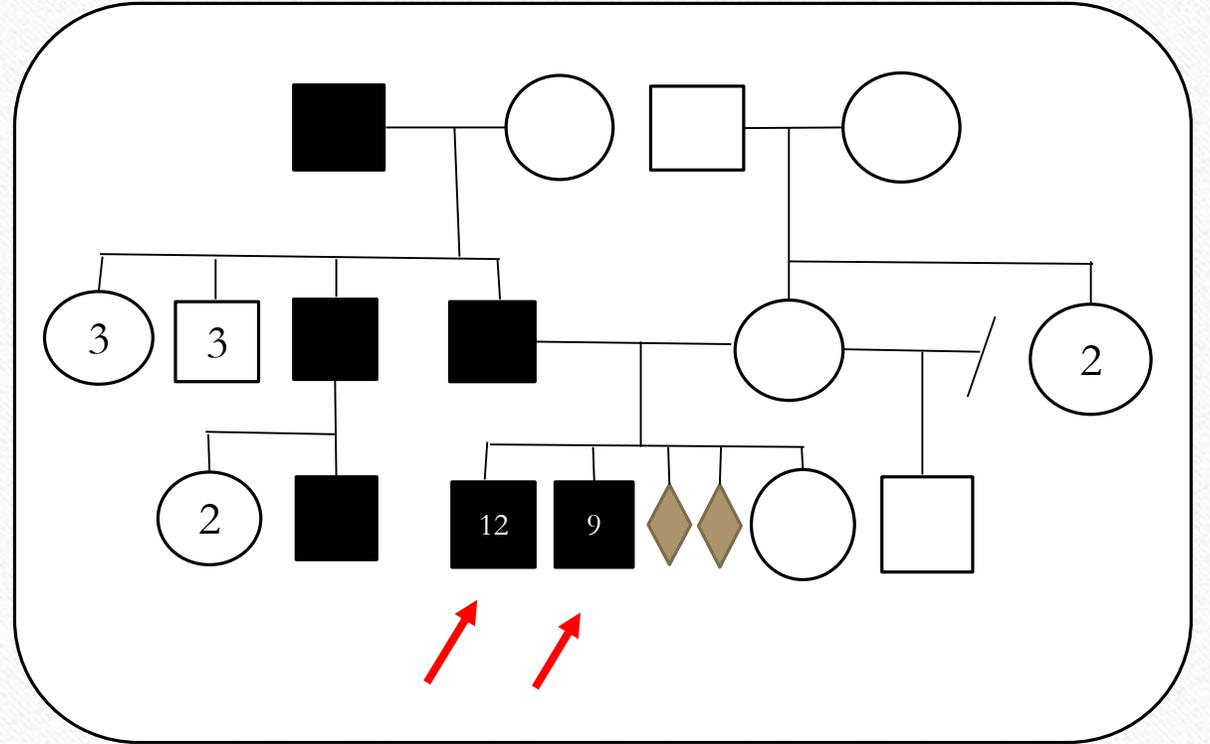
➤ **Tratamiento:**

- **Transplante MO** (Familiar HLA idéntico/donante no relacionado).
- **Terapia Reemplazo Enzimático** (ERT).
- **Terapia génica**

✓ Sospecha de Diabetes tipo MODY
(*Maturity Onset Diabetes of the Young*).
Herencia autosómica dominante (AD)



Pacientes 9 y 12 años.
Derivados por endocrinología para estudio.
1º evaluación genética 2016.
Hiperglicemias en ayunas de 120-130 mg/dl.



Alta sospecha MODY

- ✓ Patrón herencia autosómico dominante (AD):
más de 2 generaciones afectadas.
- ✓ Inicio < 25 años (típicamente < 35 años)
- ✓ Pacientes no obesos. Falta de acantosis nigricans.
- ✓ Sin anticuerpos que caracterizan a DBT tipo 1.

MODY: 2-5% casos (a diferencia DBT II más 90% del total de diabetes).

Desorden heterogéneo: 14 genes

MODY 2 (gen GCK) y MODY 3 (gen HNF1A): 30-60%.

MODY 1 (gen HNF4A) y MODY 5 (gen HNF1B): 10%.

Otros 10 genes: **20%**

Pendiente

Diagnóstico:
“Identificación de
una variante
patogénica en
heterocigosis”
Patrón herencia **AD**

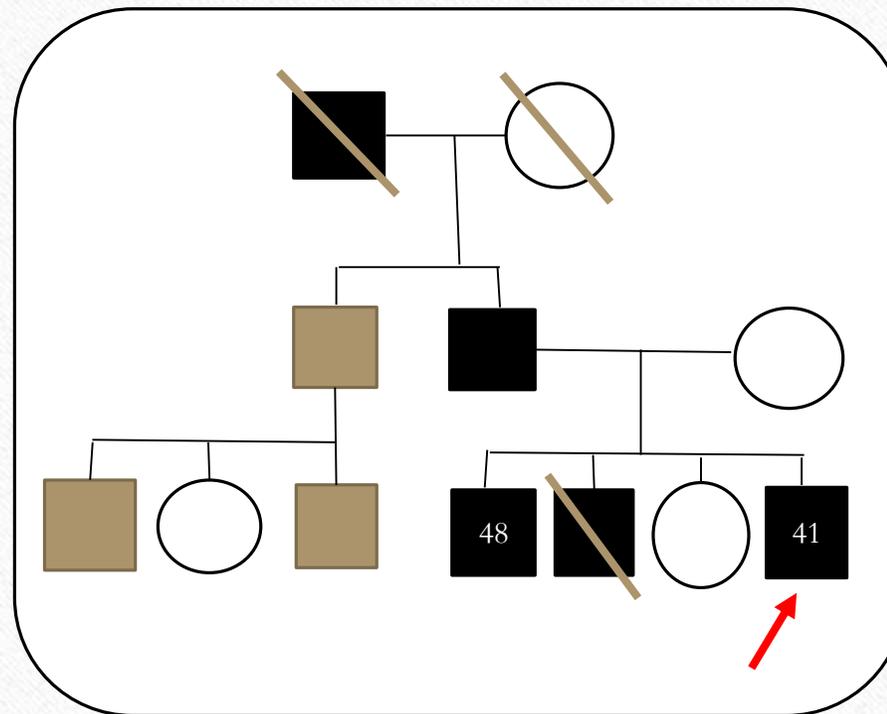
Estudio de panel NGS:

- Diagnóstico y definir subtipo de MODY.
- Establecer el tratamiento más adecuado: en general se controlan con sólo dieta, algunos subtipos requerir bajas dosis de sulfonilureas o insulina.
 - Riesgo de complicaciones: algunos subtipos complicaciones microvasculares típicas de DBT.
 - Diagnóstico precoz de otros miembros de la familia.

✓ Sospecha de
Cáncer de colon
con patrón de herencia AD??



Estudio de panel de genes asociados a
cáncer de colon por NGS



Caso índice diagnóstico neo a los 31 años.
Hermano mayor diagnóstico a los 38 años.
Hermano fallecido diagnóstico a los 41 años.
Padre (74 años) diagnóstico a los 63 años.
Tío y primos: diagnóstico de pólipos de colon.
Abuelo: fallecido cáncer de colon.

✓ Sospecha de
Cáncer de colon
con patrón de herencia AD??

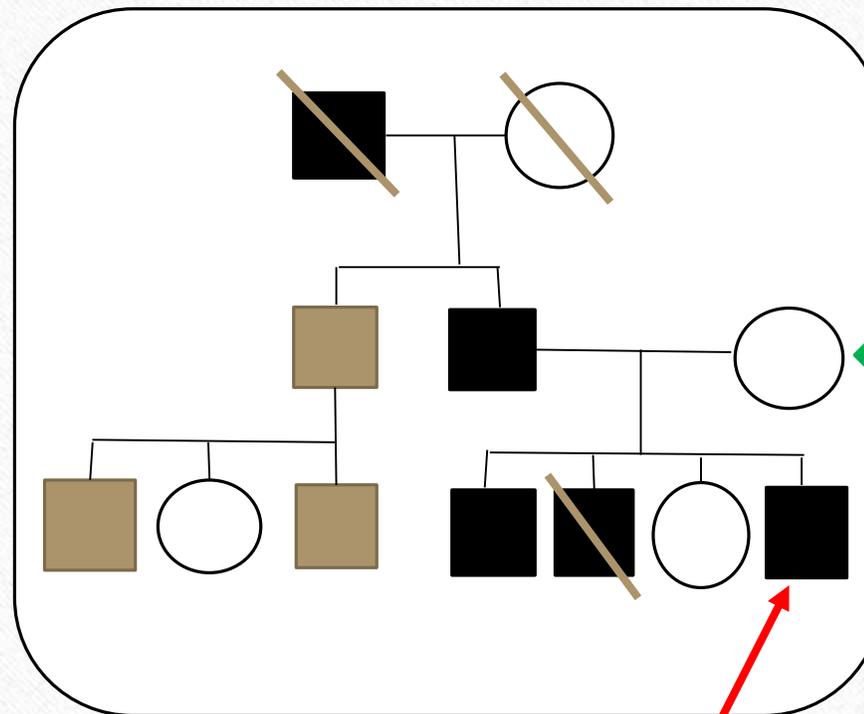


Asesoramiento genético familiar!!

Realizar estudio molecular a familiares
de 1º grado.

Portadores bialélicos: se recomienda la
colectomía profiláctica y seguimiento
desde los 15 años por
colonoscopia/gastroduodenoscopia y
>riesgo cáncer extracolónico.

Portadores monoalélicos: inicio
colonoscopia desde 40 años.



Padres se
confirmó son
**portadores
heterocigotas**
de una variante
patogénica.
Riesgo mayor
(X2) que
población
general a
padecer cáncer.

Identificación: dos variantes patogénicas en
heterocigosis compuesta
en gen *MUTYH* asociada a
Poliposis adenomatosa múltiple familiar
Herencia AR

Patologías sin sospecha clínica:

- Extrema heterogeneidad clínica: dos o más fenotipos no relacionados.
- Superposición de fenotipos “diagnósticos diferenciales”.
- Heterogeneidad genética.



Estudio de EXOMA CLÍNICO

Sin sospecha de patología:

Paciente: 8 años y 10 meses.

1° Gesta pareja joven, sana y no consanguínea.

(MM 35 años y PP 32 años)

Embarazo no buscado. EM: 26 años.

Placenta previa oclusiva. Genitorragia 1°T.

Indicación reposo. Nacimiento por cesárea.

EG: 39° sem. PN: 3150 grs. PC: 33 cm (<1DS)

➤ **4m: Movimientos de espasmos en flexión.**

➤ EEG: Normal.

➤ Episodios convulsivos reiterados: **“Sme West”**

➤ RMI encéfalo: **Estrechamiento porción media de cuerpo calloso**

➤ **Encefalopatía Epileptica** en TTO (3 drogas)

➤ **Retraso del neurodesarrollo** (Motor y Lenguaje)

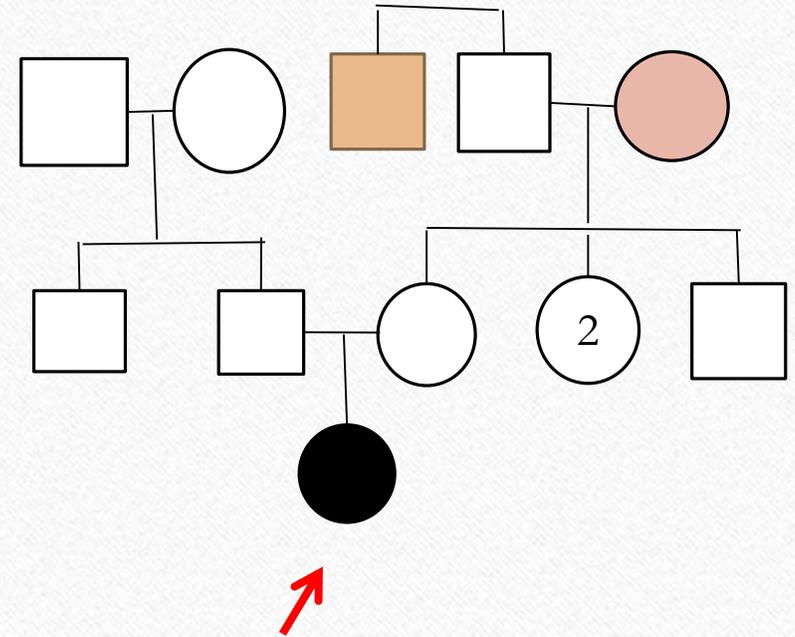
➤ **Trastorno conductual**

➤ Hipotiroidismo en TTO

Antecedentes Familiares

Abuela materna convulsiones desde 12 años

Tío materno con diagnóstico de esquizofrenia



EXOMA CLÍNICO DIRIGIDO
a paneles de:

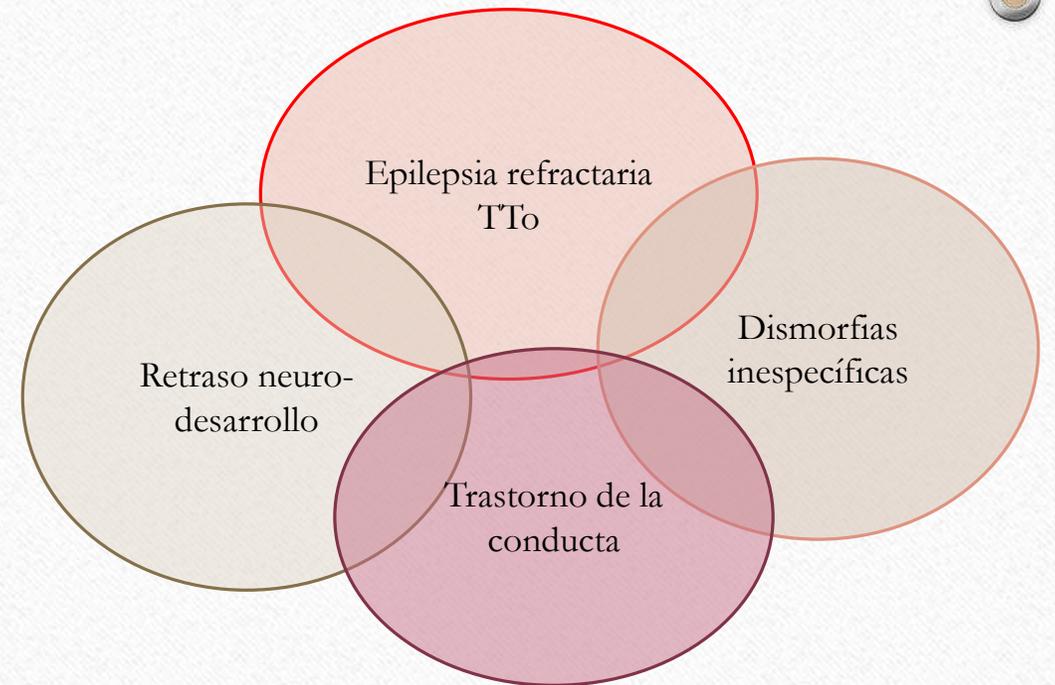
- ✓ Retraso Madurativo
- ✓ Déficit intelectual
- ✓ Epilepsias infantiles
- ✓ Sme de Angelman/Angelman-like
- ✓ Trastornos del espectro autista

Gen *SPTAN1* (9q34.11)
Delección en heterocigosis
c.6908_6916delACCAGCTGG
p.Asp2303_Leu2305del
Probable patogénica

***Encefalopatía Epiléptica Infantil
de Inicio Temprano tipo 5 (EIEE5)***

*Herencia Autosómica Dominante
de-novo en todos los casos descriptos*

- ✓ Convulsiones tónicas intratables
- ✓ Hipsarritmia
- ✓ Cuerpo calloso adelgazado
- ✓ Comienzo en la infancia
- ✓ Variable severidad
- ✓ Ausencia/retraso lenguaje





Estudios con fines diagnósticos

Investigación

Muchas gracias por su atención!!
fernanda.madeira@heritas.com.ar

