

Marcadores genéticos en cardiopatías hereditarias



Bioq. Ma. Florencia Gosso, PhD
florencia.gosso@heritas.com.ar

Quienes somos..



+



Plataforma tecnológica



Equipo de trabajo



Conceptos Básicos

Genética médica

Ciencia que estudia la influencia de la herencia y de los factores genéticos sobre la salud y la enfermedad.

Aplicación clínica: **“prevención, diagnóstico y tratamiento”**

Enfermedades Mendelianas

Aparición temprano en la vida o de inicio tardío.

Tipos de herencia: AD, AR, XL, Mitocondrial.

Expresividad variable y penetrancia incompleta.

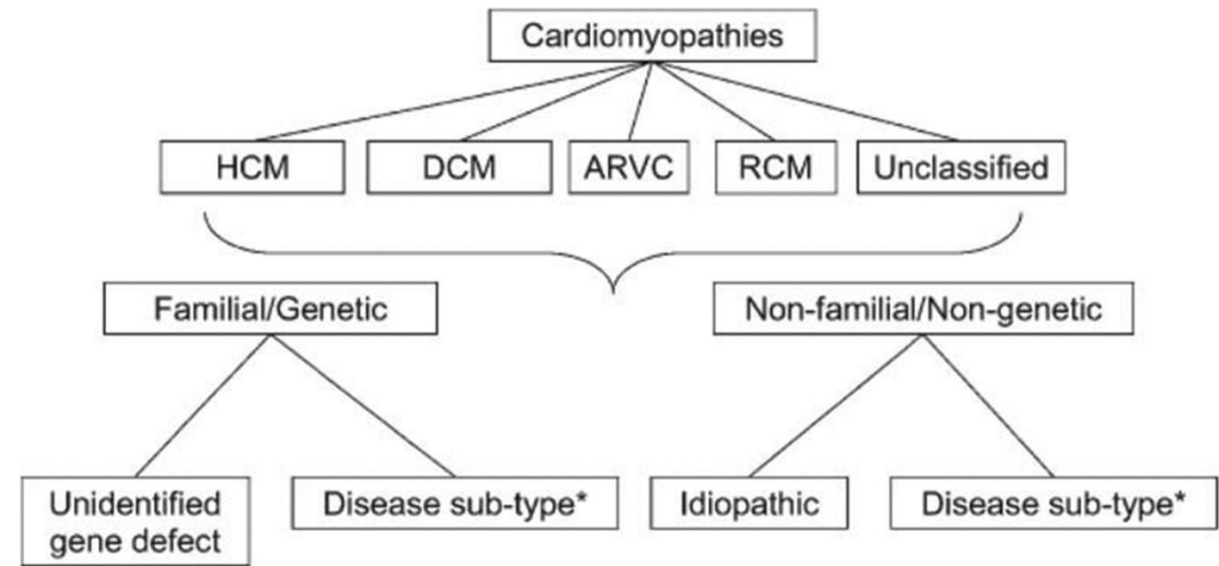
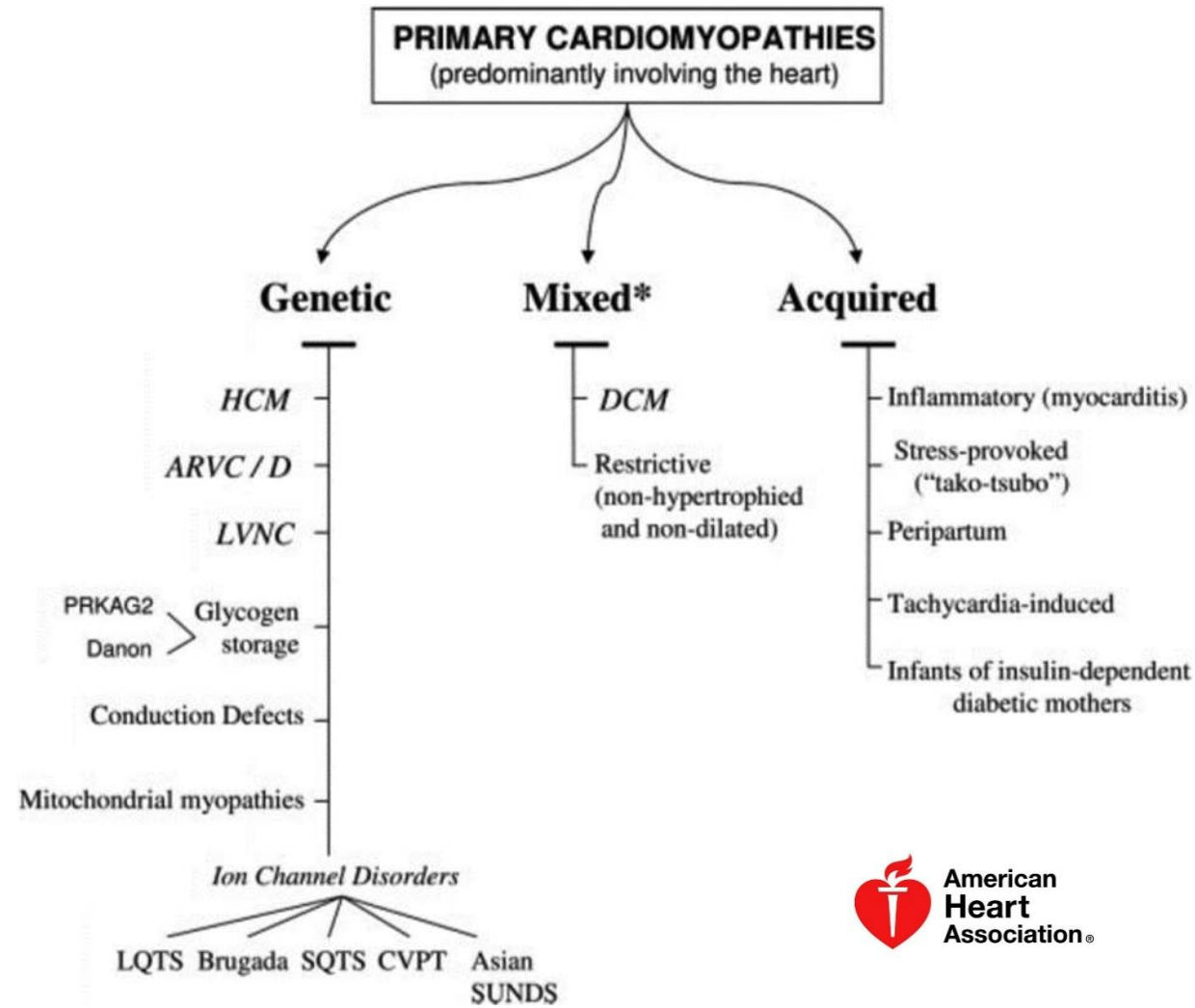
Secuenciación de ADN

ADN, información genética. Los genes contienen la información necesaria para sintetizar las distintas proteínas.

Obtener el orden de los nucleótidos (A, C, G, T) en un segmento de ADN.



Clasificación de CMH



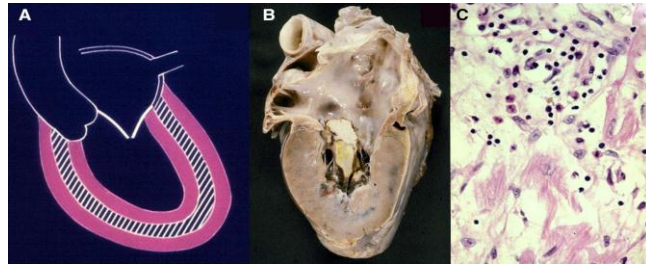
cardio

HEREDAS CARDIOMIOPATÍAS HEREDITARIAS

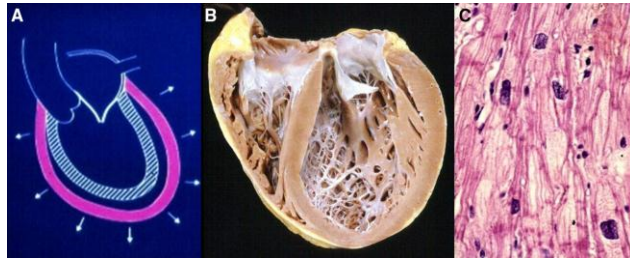
MIOCARDIOPATÍAS de causa GENÉTICA



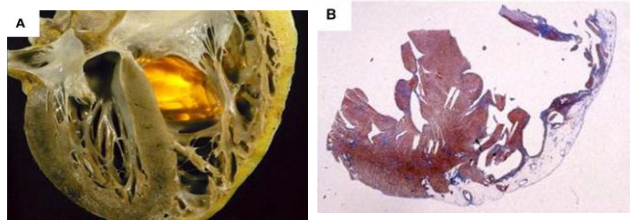
MCH



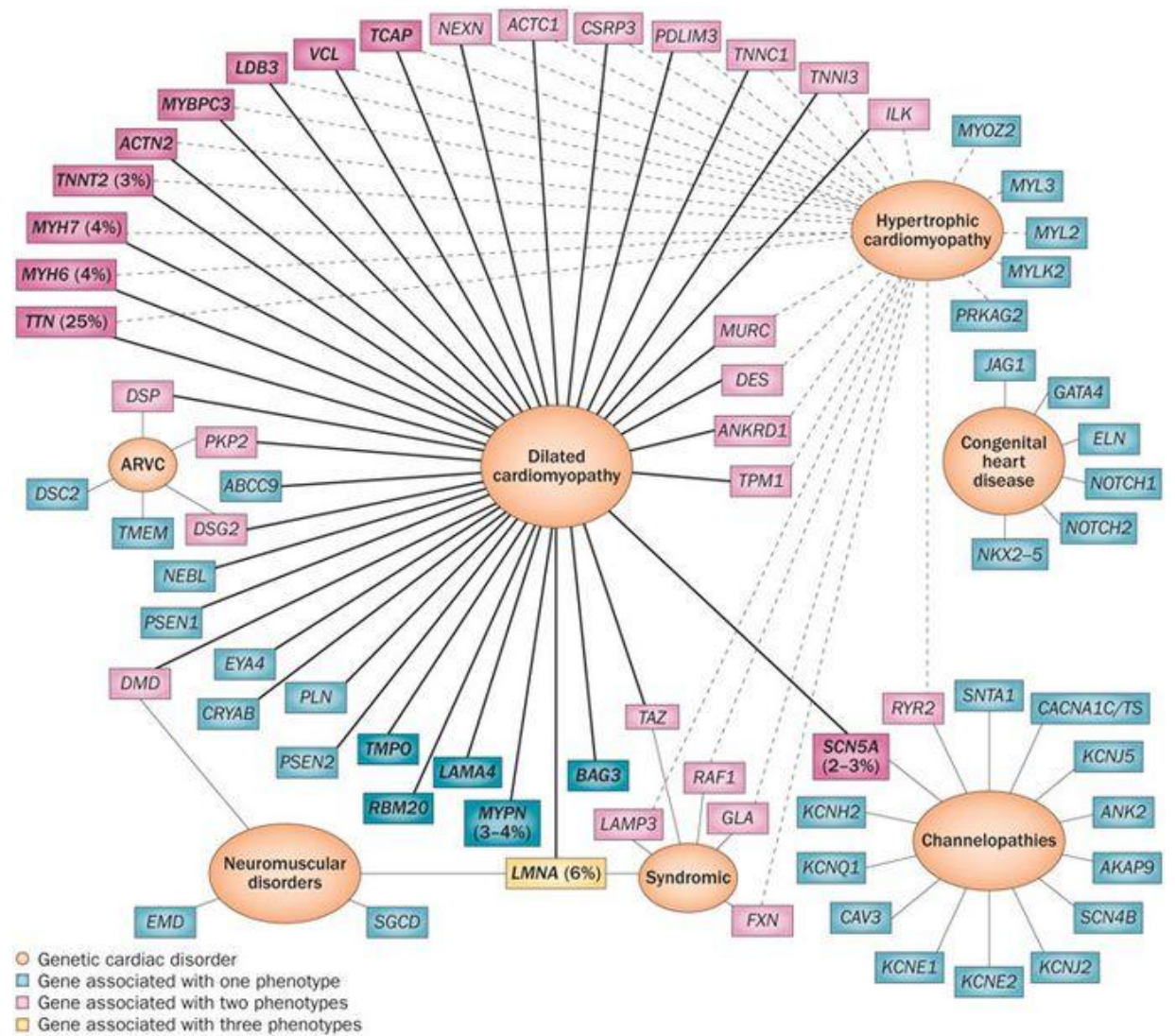
MCR



MCD



MAVD



Hershberger y cols., 2013

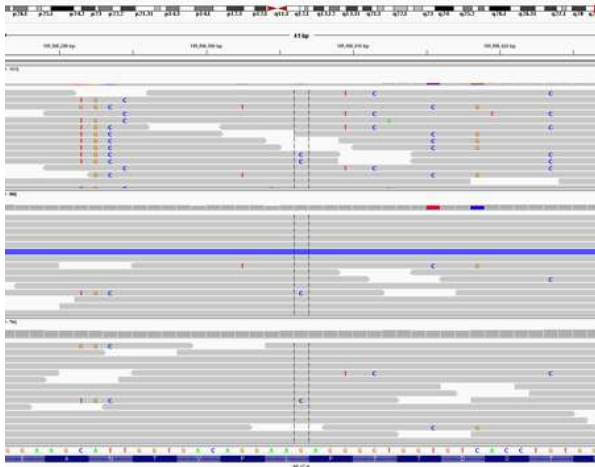
- ✓ Heterogeneidad genética
- ✓ Heterogeneidad alélica
- ✓ Solapamiento fenotípico



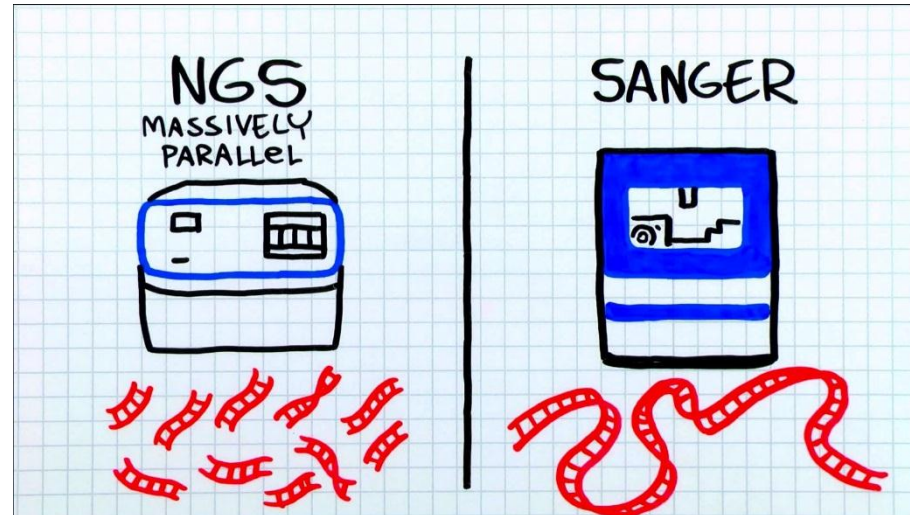


Cómo lo estudiamos?

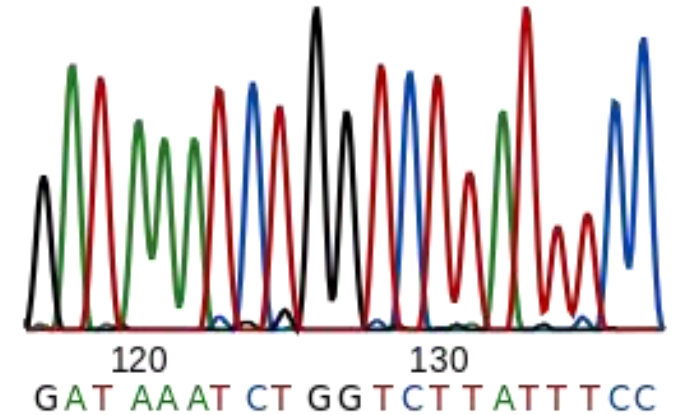
- Panel de genes
- Exoma
- Genoma



Patologías con superposición de fenotipos, heterogeneidad genética, monogénicas en genes extensos, etc.

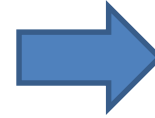
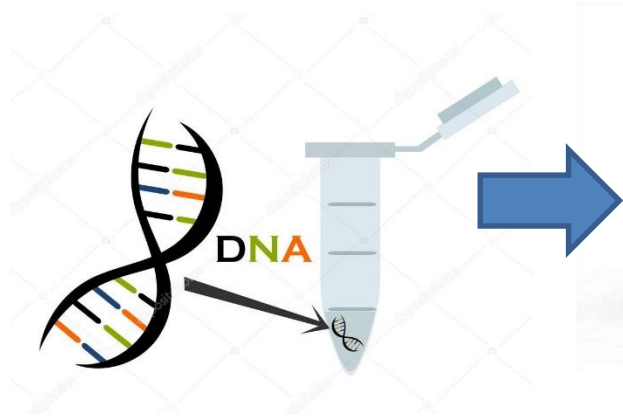


- Exón
- Gen

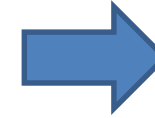


Mutación puntual, enfermedad monogénica para genes pequeños

Flujo de trabajo de NGS



```
ATCTCTTGGCTCCAGCATCGATGAA  
TCATTTAGAGGAAGTAAAAGTCGTA  
GAACTGTCAAAACTTTTAACAACGC  
TGTTCCTTCGGCGGGCGCCCGCAAGC  
GGCCTGCCGTGGCAGATCCCCAACG  
TCTCTTGGCTCCAGCATCGATGAA  
CAGCATCGATGAAGAACGCAGCGAA  
CGATACTTCTGAGTGTTCCTTAGCGA  
CGGATCTCTTGGCTCCAGCATCGAT  
ACAACGGATCTCTTGGCTCCAGCAT  
CGGATCTCTTGGCTCCAGCATCGAT  
GATGAAGAACGCAGCGAAACGCGAT
```



Extracción ADN

Tipo de muestra:
Sangre entera con EDTA
Hisopado/cepillado mucosa
yugal
Enjuague bucal

Biblioteca y Secuenciación

Preparación de bibliotecas y
enriquecimiento de regiones de
interés

Secuenciación con secuenciador
Illumina®

Análisis Bioinformático

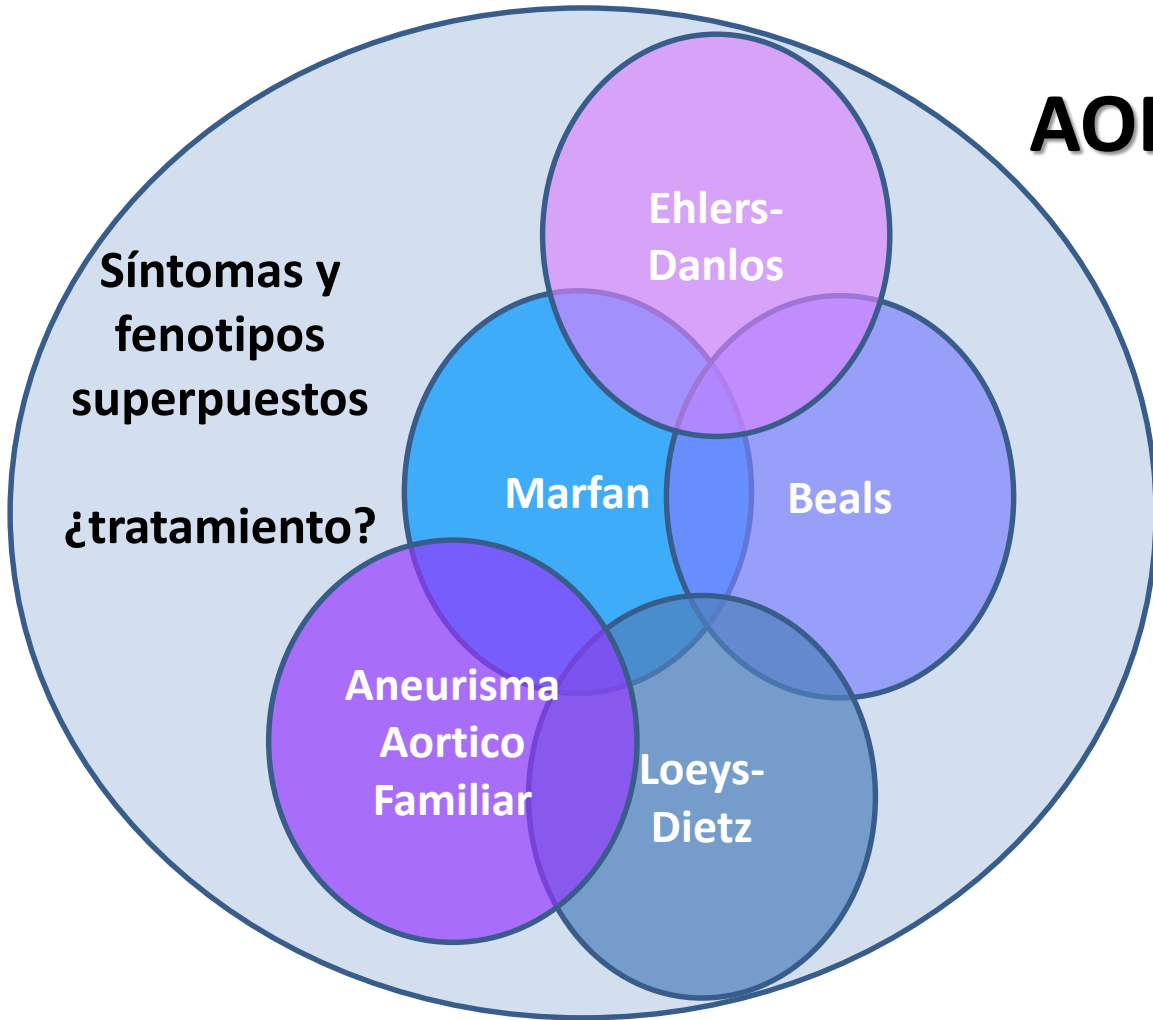
Alineación de la secuencias
contra genoma de referencia

Búsqueda de los cambios con
respecto a la referencia

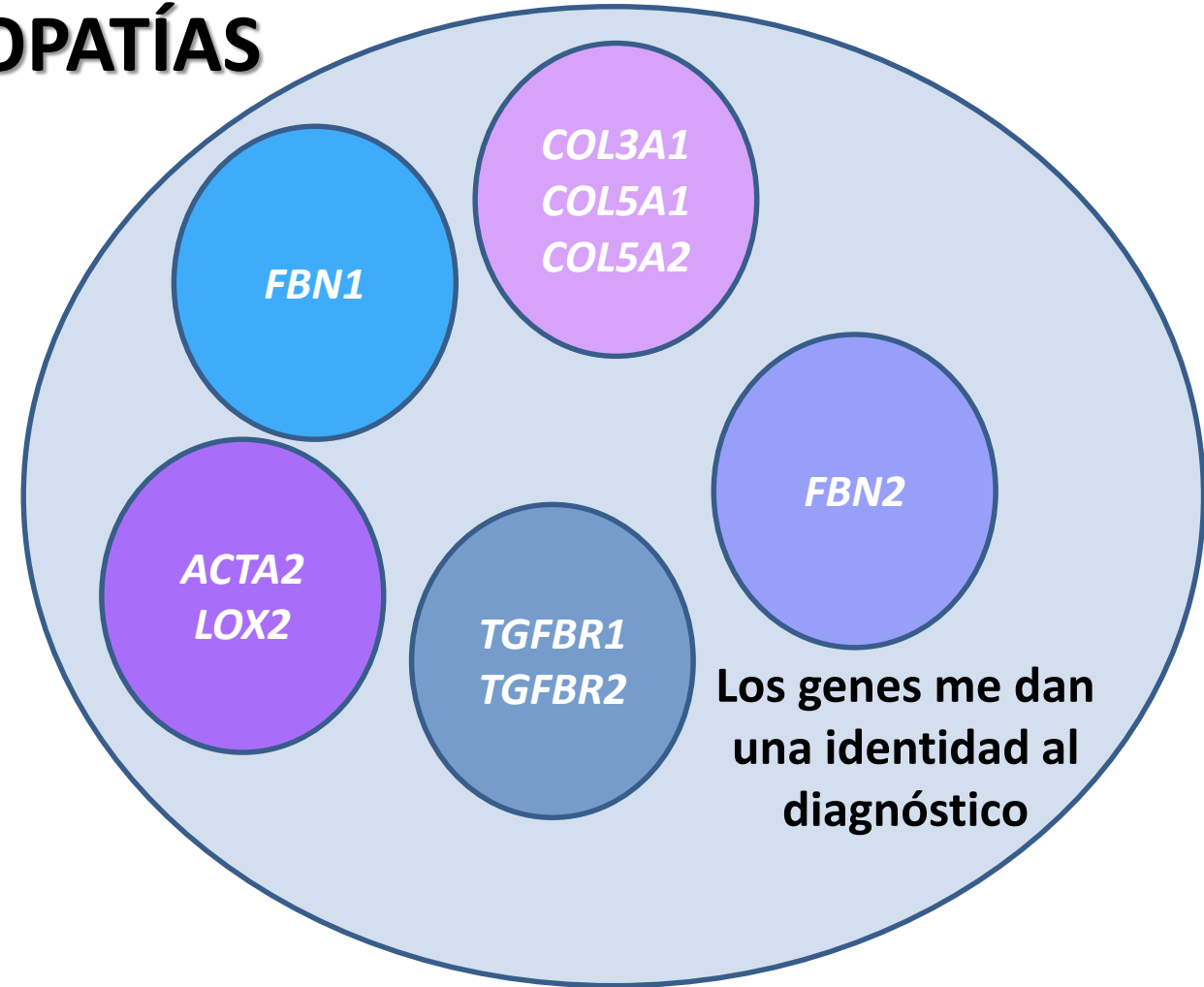
Análisis Genético

Análisis de variantes en función
de la HC y de la patología en
estudio

Revisión bibliográfica, bases de
datos



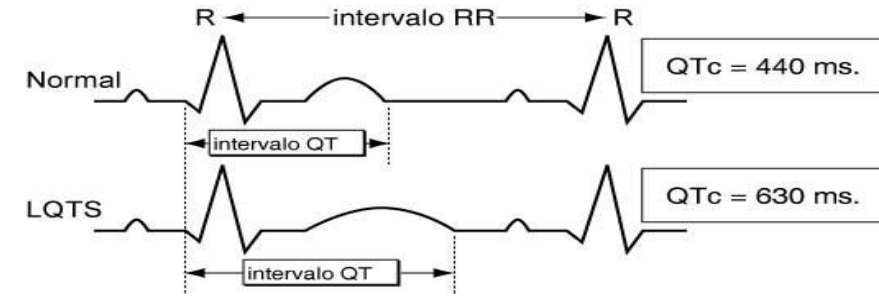
AORTOPATÍAS



Por qué ensayo genético?



Síndrome de QT Largo
(1/2000)



75%

10%

15%

Desconocido

- ANK-sme (ANK2)
- Andersen-Tawil sme (KCNJ2)
- Timothy sme (CACNA1C)
- LQT5 (KCNE1)
- LQT6 (KCNE2)
- 8 genes más

Estratificación genética:

- Gravedad del cuadro
- Eficacia del tratamiento (Según gen/mutación)

LQT1
(KCNQ1)

LQT2
(KCNH2)

LQT3
(SCN5A)

+++

+/-

+/-

+++

++

+

beta-blocker

Mexiletina
Flecainida



Enfermedades arritmogénicas relevantes

CANALOPATÍAS

Journal of the American College of Cardiology
© 2013 by the American College of Cardiology Foundation
Published by Elsevier Inc.

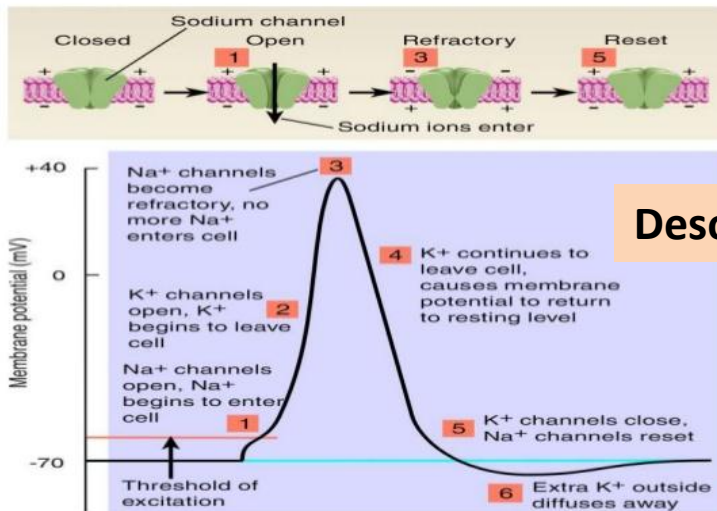
Vol. 62, No. 3, 2013
ISSN 0735-1097/\$36.00
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2013.04.044>

STATE-OF-THE-ART PAPER

Impact of Genetics on the Clinical Management of Channelopathies

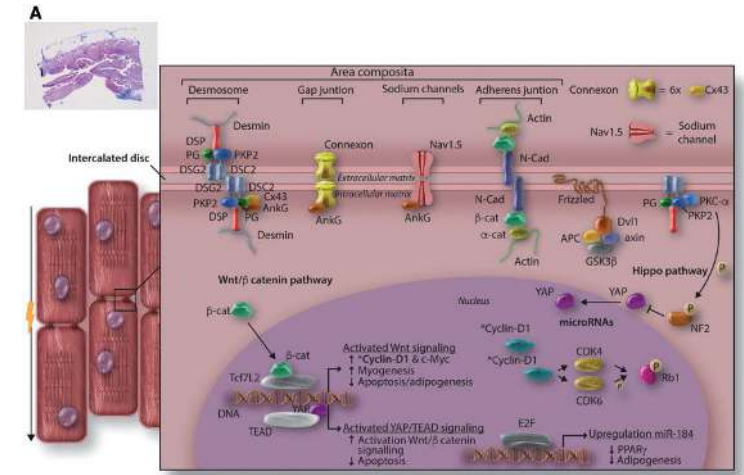
Peter J. Schwartz, MD,*†‡§|| Michael J. Ackerman, MD, PhD,¶#**
Alfred L. George, Jr, MD,††‡‡ Arthur A. M. Wilde, MD, PhD§§|||
Pavia, Italy; Cape Town and Stellenbosch, South Africa; Riyadh, Saudi Arabia; Rochester, Minnesota; Nashville, Tennessee; Amsterdam, the Netherlands; and Jeddah, Saudi Arabia

There are few areas in cardiology in which the impact of genetics and genetic testing on clinical management has been as great as in cardiac channelopathies, arrhythmic disorders of genetic origin related to the ionic control of the



Desorden electrofisiológico

Reemplazo de tejido muscular por tejido adiposo que predispone a AV



Cardiovascular Research (2017) 113, 1521–1531
doi:10.1093/cvr/cvx150

SPOTLIGHT REVIEW

Arrhythmogenic cardiomyopathy: pathology, genetics, and concepts in pathogenesis

Edgar T. Hoorntje^{1,2}, Wouter P. te Rijdt¹, Cynthia A. James³, Kalliopi Pilichou⁴, Cristina Basso⁴, Daniel P. Judge³, Connie R. Bezzina⁵, and J. Peter van Tintelen^{2,6*}

¹Department of Genetics, University of Groningen, University Medical Centre Groningen, Hanzeplein 1, 9713 GZ, Groningen, The Netherlands; ²Netherlands Heart Institute, Monseigneurpark 1, 3511 EP, Utrecht, The Netherlands; ³Department of Medicine, Division of Cardiology, Johns Hopkins University School of Medicine, 1800 Orleans Street, Baltimore, MD, USA; ⁴Department of Cardiac, Thoracic and Vascular Sciences, University of Padua, Padua 35121, Italy; ⁵Department of Clinical and Experimental Cardiology, Heart Centre, Academic Medical Centre, Meibergdreef 9, 1105 AZ, Amsterdam, The Netherlands; and ⁶Department of Clinical Genetics, Academic Medical Centre Amsterdam, University of Amsterdam, Meibergdreef 9, 1105 AZ Amsterdam, The Netherlands

Received 23 March 2017; revised 9 May 2017; editorial decision 18 May 2017; accepted 3 August 2017; online published ahead of print 4 August 2017

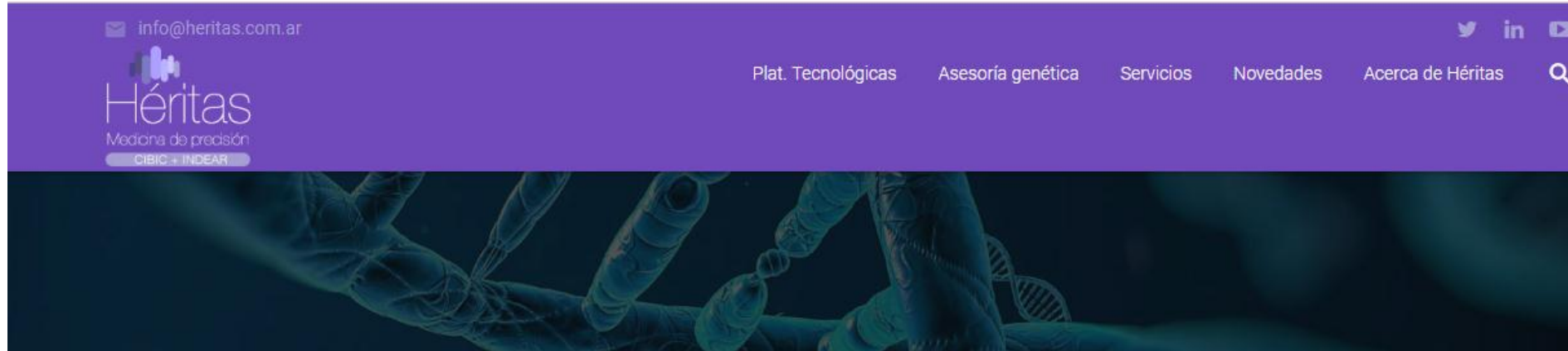
MIOCARDIOPATÍA ARRITMOGÉNICA DE VENTRÍCULO DERECHO





INSTITUTO
CARDIOVASCULAR
DE ROSARIO

Programa Cardiomiopatías Héritas - ICR



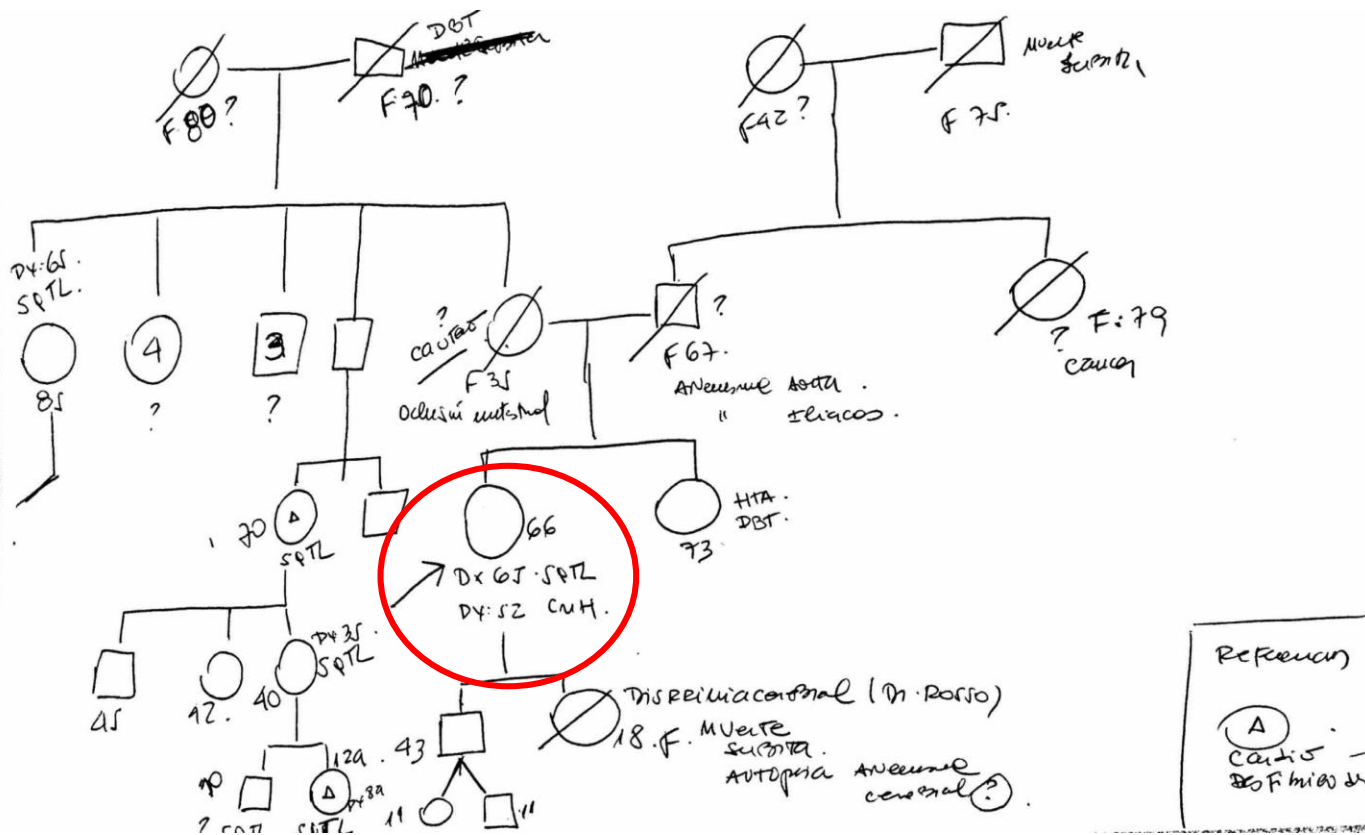
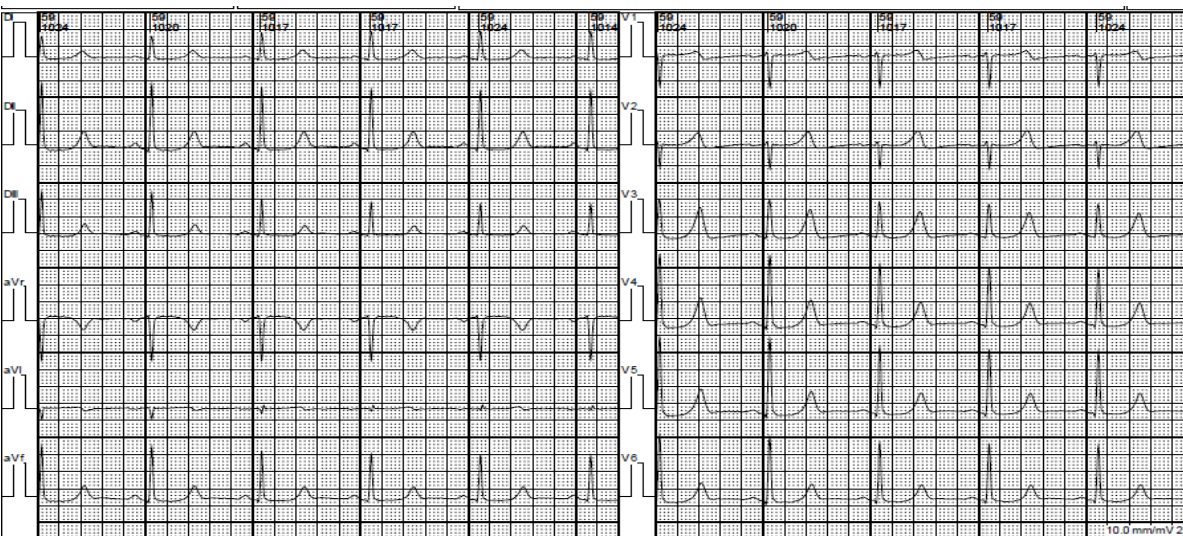
www.heritas.com.ar



Paciente ID 4008600 – Síndrome de QTL

- Motivo de consulta: cuadro de 10 años de evolución caracterizado por episodios de precordialgia en clase funcional variable y palpitaciones en reposo, sin relación con el esfuerzo, por lo cual realizó numerosas interconsultas en distintos centros en Buenos Aires

- Antecedentes familiares: hija con MS a 17 años; prima hermana y nieta de su prima portadoras de CDI por SQT

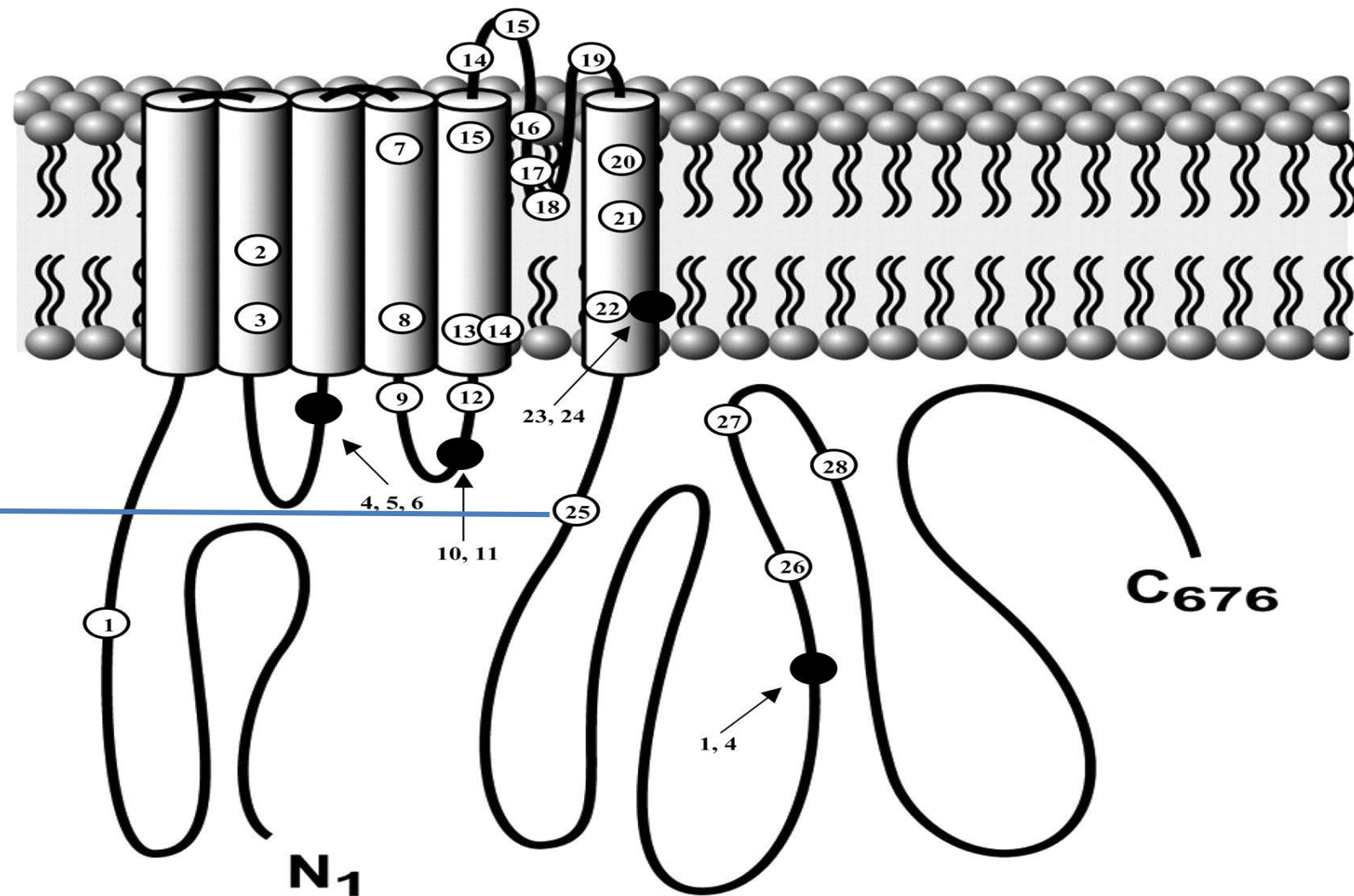




KCNQ1

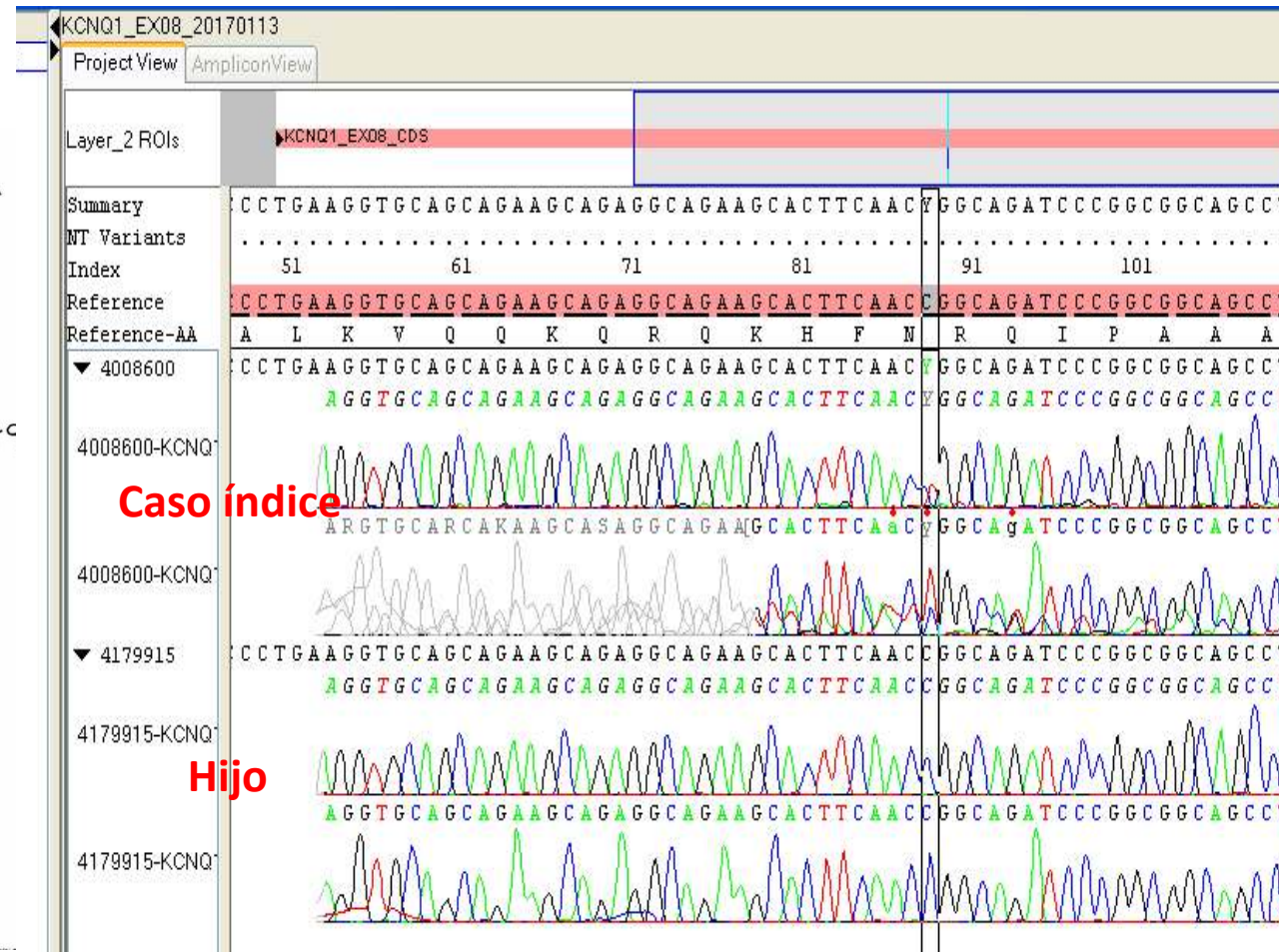
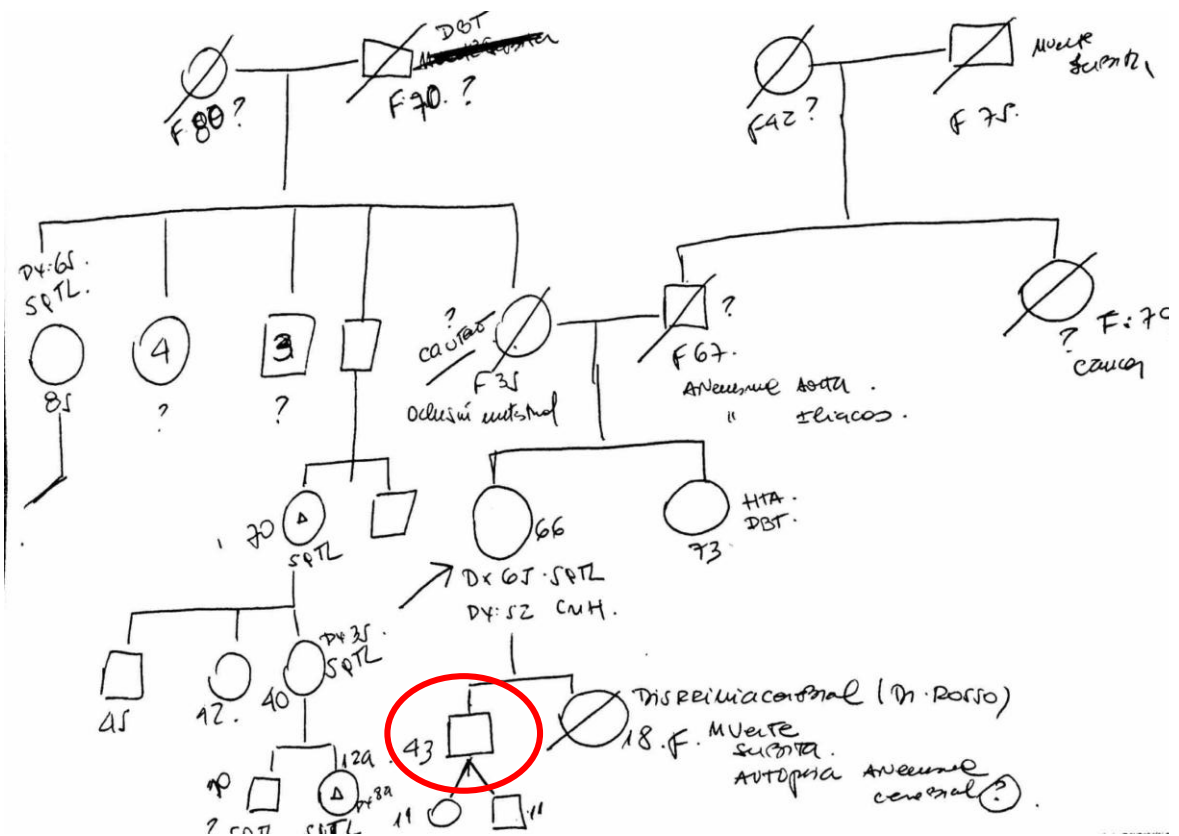
R366W
Mutación
Heterocigota
(138: 81/57)
MAF: 1/120.000

Identidad diagnóstica → LQTS1
Tratamiento → Betabloqueante





Estudio en familiares



**Asesoramiento familiar
Conducta en el seguimiento**





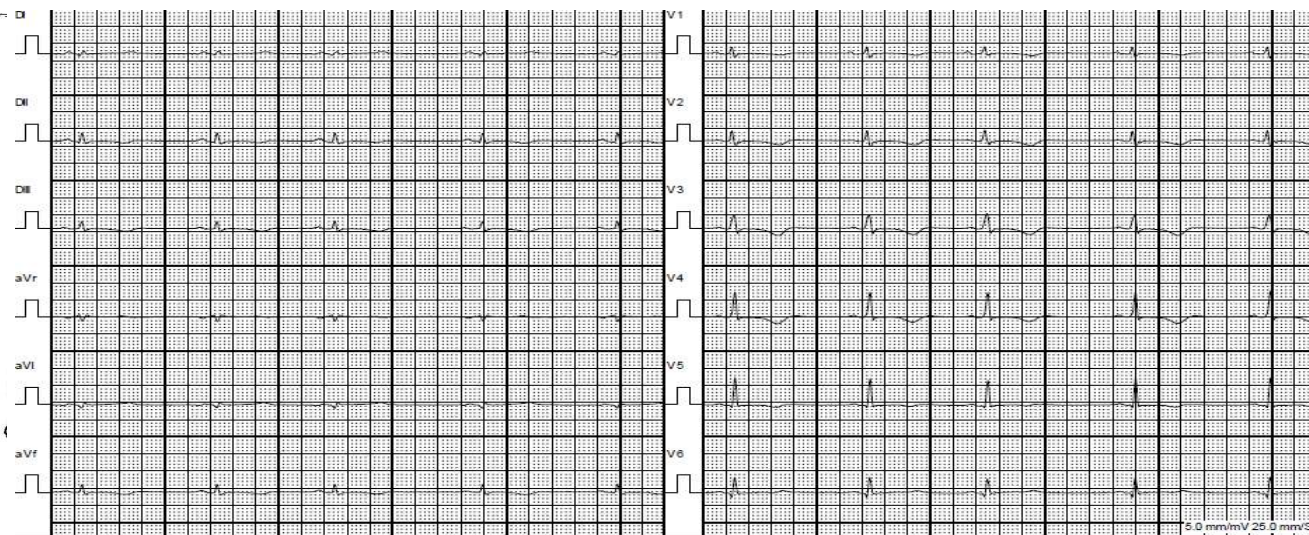
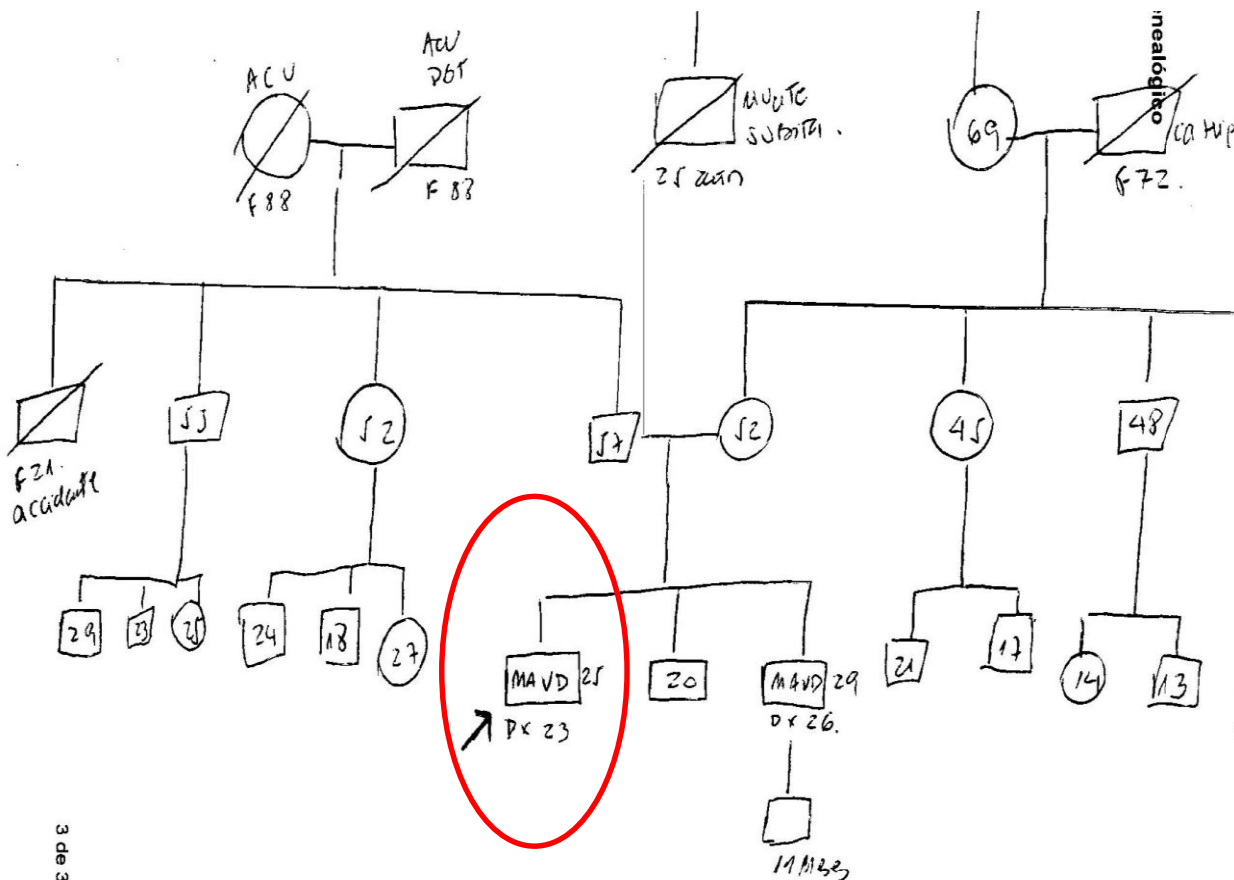
Paciente ID 3887021 - MAVD

- Motivo de consulta (03/2013): **disnea ante moderados esfuerzos ~ 12 m evolución. Palpitaciones, mareos y episodios presincopales, fundamentalmente durante el esfuerzo físico**

- Antecedentes familiares: **primo segundo MS a 25 años (maratón)**

- Se decide implante de CDI.

- Tto actual: bisoprolol 2.5 mg/día; amiodarona 200 mg/día

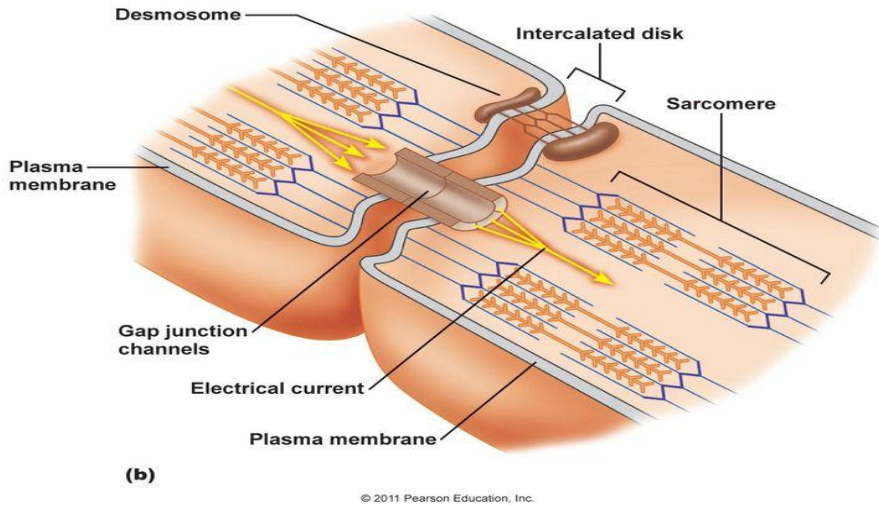




PKP2



Mutación heterocigota codón STOP
507 W/*
(472:230,242) Exac MAF=0
Variación nueva



Resiste el estrés mecánico

OPEN ACCESS Freely available online

PLOS ONE

Stop-Gain Mutations in PKP2 Are Associated with a Later Age of Onset of Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy

Mireia Alcalde¹, Oscar Campuzano¹, Paola Berne², Pablo García-Pavía³, Ada Doltra², Elena Arbelo², Georgia Sarquella-Brugada⁴, Anna Iglesias¹, Luis Alonso-Pulpon³, Josep Brugada², Ramon Brugada^{1*}

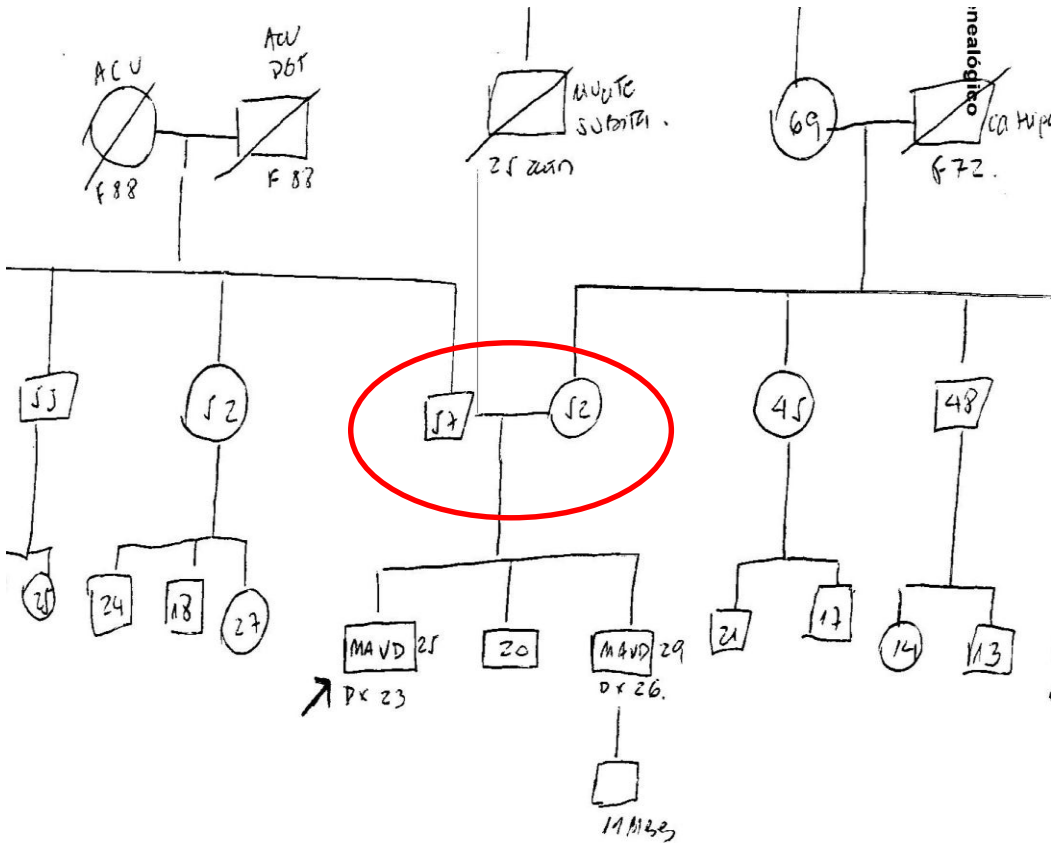
Stop vs missense mutaciones

- Gravedad
- Penetrancia incompleta
- Sub-diagnosticado





Estudio en familiares



PKP2_EX07 ROIs	PKP2_EX07
Summary	GT TTTTCATGCTAAAYCTGIGCTTTTCTAGGTTTGCTGTGGAATTTGTCATCTAAATGAC
NT Variants 21 31 41 51 61
Index	11 21 31 41 51 61
Reference	GT TTTTCATGCTAAACCTGIGCTTTTCTAGGTTTGCTGTGGAATTTGTCATCTAAATGAC
Reference-AA	V F E V T L C F S R F A V E F V I * *
▼ 4159546	GT TTTTCATGCTAAAYCTGIGCTTTTCTAGGTTTGCTGTGGAATTTGTCATCTAAATGAC
4159456-PKP2-I	T T T M T G C T A A A Y C T G I G C T T T T C T A G G T T T G C T G T G G A A T T T G T C T C T A A T G A C A
Padre	25 CAI G C T A A A ; 31 C I G I G C T T T T C T A G G ; T T G C T G T G G A A T T T G T C T C T A A T G A C A
4159456-PKP2-I	T T T M T G C T A A A C C T G I G C T T T T C T A G G T T T G C T G T G G A A T T T G T C A T C T A A T G A C
▼ 4159455	GT TTTTCATGCTAAACCTGIGCTTTTCTAGGTTTGCTGTGGAATTTGTCATCTAAATGAC
4159455-PKP2-I	T T T M T G C T A A A C C T G I G C T T T T C T A G G T T T G C T G T G G A A T T T G T C A T C T A A T G A C
Madre	25 CAI G C T A A A C ; 31 C I G I G C T T T T C T A G G ; T T G C T G T G G A A T T T G T C A T C T A A T G A C
4159455-PKP2-I	T T T M T G C T A A A M T T C T G I G C W T Y C C T A G G T T T G C T G T G G A A T T T G T C A T C T A A T G A C
▼ 3887021	GT TTTTCATGCTAAACCTGIGCTTTTCTAGGTTTGCTGTGGAATTTGTCATCTAAATGAC
3887021-PKP2-I	T T T M T G C T A A A M T T C T G I G C W T Y C C T A G G T T T G C T G T G G A A T T T G T C A T C T A A T G A C
3887021-PKP2-I	T T T M T G C T A A A M T T C T G I G C W T Y C C T A G G T T T G C T G T G G A A T T T G T C A T C T A A T G A C
Caso índice	25 CAI G C T A A A C ; 31 C I G I G C T T T T C T A G G ; T T G C T G T G G A A T T T G T C A T C T A A T G A C
3887021-PKP2-I	T T T M T G C T A A A M T T C T G I G C W T Y C C T A G G T T T G C T G T G G A A T T T G T C A T C T A A T G A C

Variante de novo, mosaicismo germinal?



Conclusiones



La utilización de NGS en CMH nos permite evaluar gran cantidad de genes en simultáneo, haciendo más costo-efectivo el camino hacia el diagnóstico.

El ensayo genético permite definir a nivel molecular la entidad clínica en estudio, evaluar riesgos, tratamientos, prevención y asesoramiento familiar.

La realización local de este tipo de estudios valoriza aún más el ensayo, promoviendo el trabajo interdisciplinario y la oportunidad de desarrollos.

