

Biología molecular aplicada al diagnóstico médico. Módulo 2

**Diagnóstico Molecular de
Enfermedades Hereditarias. (21/05/18)**

Dra. Ma. Fernanda Madeira

Genética médica:

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

Su aplicación clínica en enfermedades de etiología genética incluye:

“prevención, diagnóstico y tratamiento”

MEDICINA GENÓMICA:

- ***PRECISIÓN***
- ***PERSONALIZADA***
- ***PREDICTIVA***: “PREDICCIÓN DE RIESGO”
índice de mayor riesgo o de susceptibilidad aumentada de padecer una enfermedad en comparación con la población general.
- ***PREVENTIVA***: permitir instaurar una conducta o medida preventiva.

DIFERENTES ESPECIALIDADES MÉDICAS

Planteos de diagnóstico diferencial



Patología con una causa o influencia genética?

Aprender a “pensar genéticamente”

ESPECTRO CAUSAL

ENFERMEDADES
O ANOMALÍAS
DE **ETIOLOGÍA
GENÉTICA**

HERENCIA MULTIFACTORIAL

“MÚLTIPLES FACTORES
INVOLUCRADOS”

“**SUSCEPTIBILIDAD
GENÉTICA**”: **Poligénica**
(necesaria pero no suficiente)

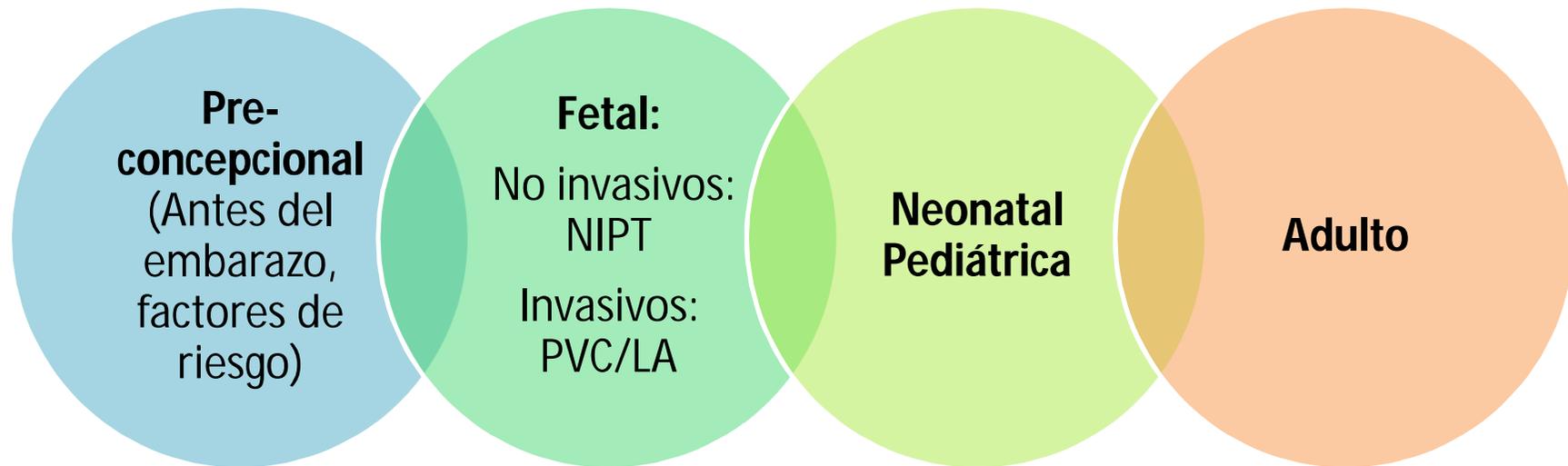
+

FACT. MEDIO-AMBIENTALES

Cambios en el estilo de vida
pueden influenciar a éstos
genes.

ENFERMEDADES
CAUSADAS
PRINCIPALMENTE
POR **FACTORES
AMBIENTALES**

ESTUDIOS GENÉTICOS en distintas etapas de la vida:



Probable etiología genética?

- Historia clínica detallada:
 - Antecedentes pre-concepcionales, prenatales, perinatólogicos, infancia, adolescencia y adultez).
- Genealogía:
 - Patrón de herencia:
De Novo. AR. AD. Lig X. Mitocondrial.
- Examen físico.
- Estudios complementarios.
- Interconsultas especializadas.

DIAGNÓSTICO GENÉTICO

SOSPECHA
DIAGNÓSTICA
PATOLOGÍA
GENÉTICA

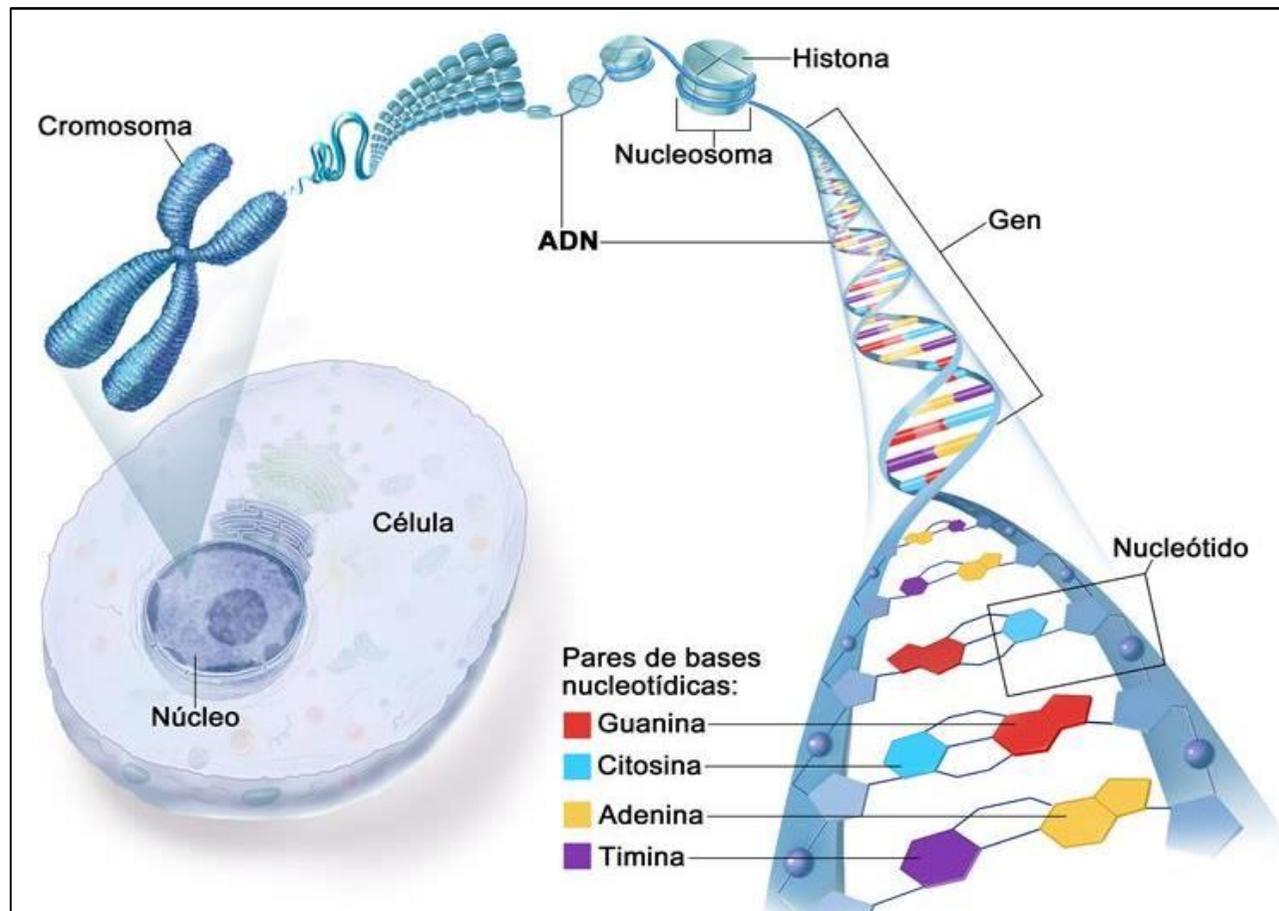
CONOCER EL
MECANISMO
GENÉTICO +FREC.
ASOCIADO

INDICAR LA
TÉCNICA
ADECUADA

Estudio de patologías genéticas:

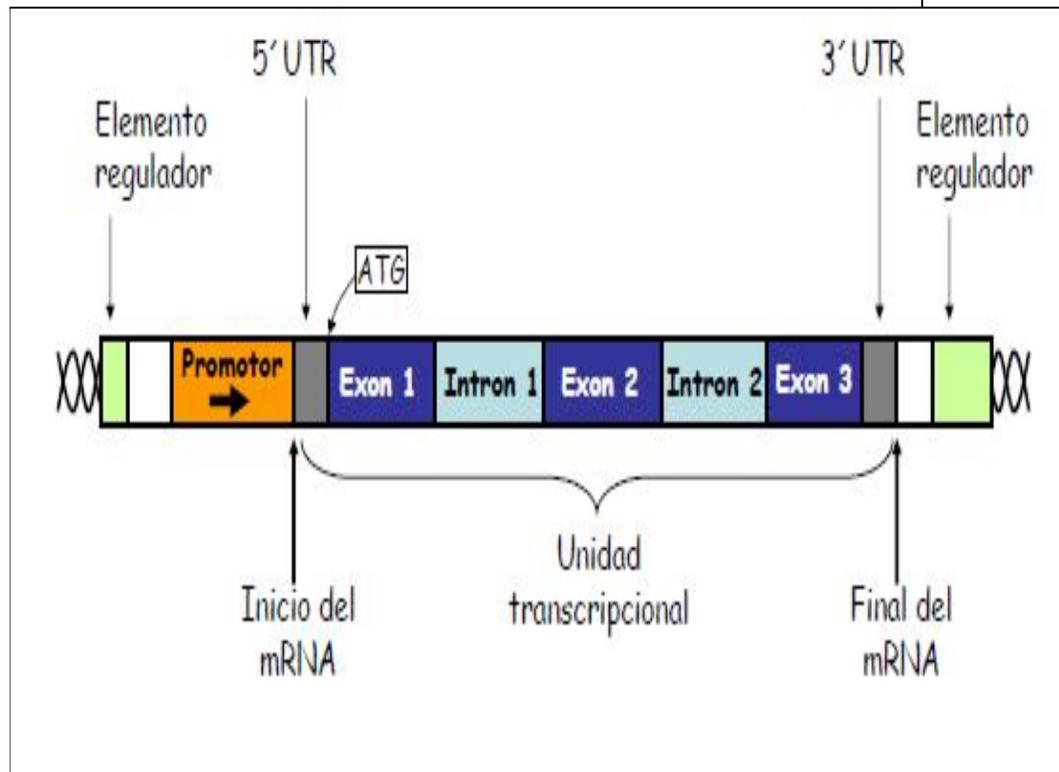
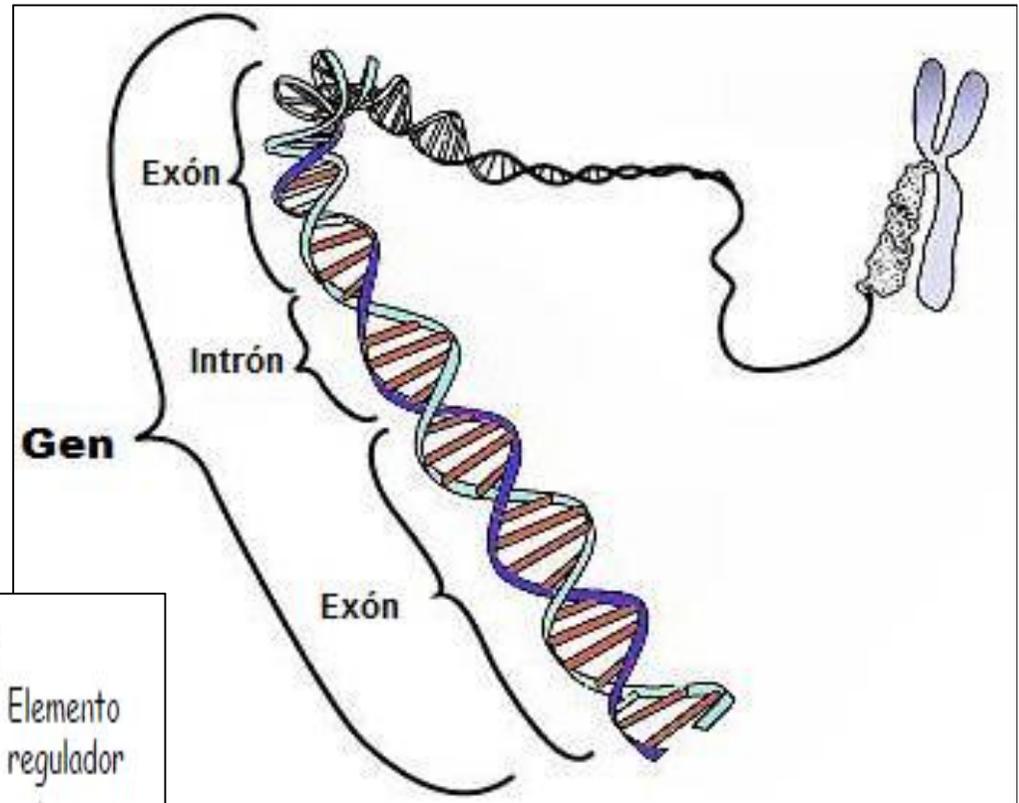
- Asesoramiento genético previo y posterior a el estudio molecular.
- Es el estudio más adecuado?
- Conocer las ventajas y limitaciones de la técnica indicada.
- Consentimiento informado.

SECUENCIACIÓN : obtener el orden de los nucleótidos en un segmento de ADN



GENOMA: todos los genes de un individuo

25000 GENES



EXOMA: Conjunto de todos los exones (1,5-2% de todo el genoma)

EXONES: Son las regiones codificantes de los genes

Secuenciación:

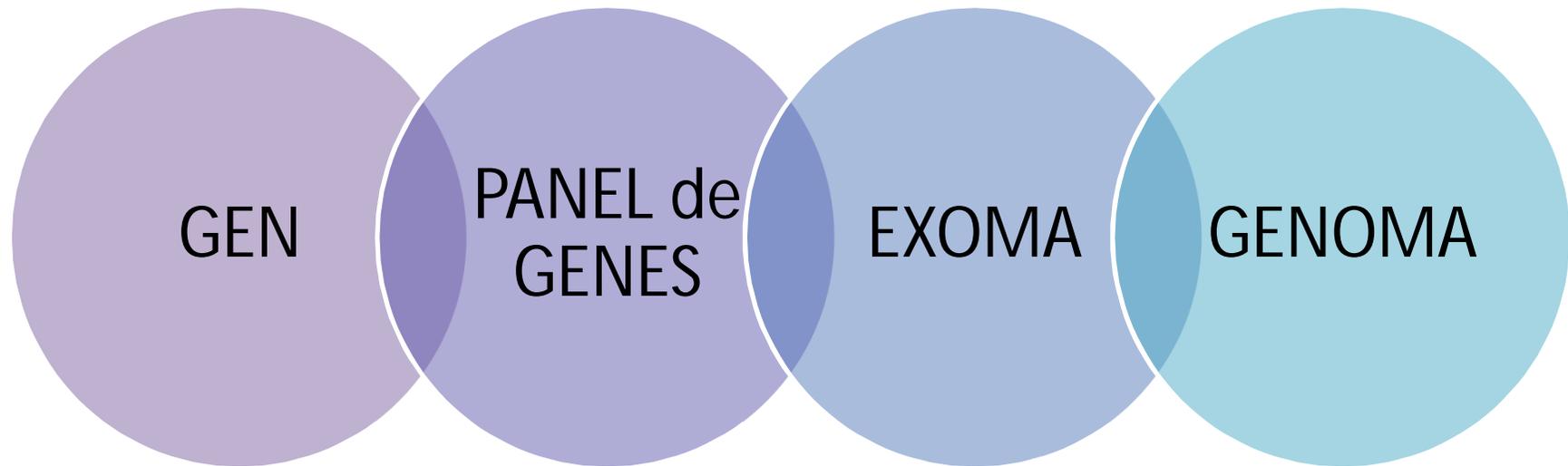
Primera Generación o Método Sanger

- Es locus específica, permite la detección de mutaciones en un gen cuando se compara con la secuencia de referencia de esa región.
- No permite detectar variaciones estructurales, deleciones o duplicaciones
- No es costo-efectiva si el gen a secuenciar es de gran tamaño ó existe heterogeneidad de locus.

Segunda o nueva generación NGS (Next-generation sequencing)

- Capacidad para secuenciar millones de fragmentos de ADN.
- Costo efectiva: período muy breve y a un precio mucho más bajo por base. Heterogeneidad genética (Múltiples genes implicados)
- Permite detectar mutaciones puntuales y pequeñas inserciones / deleciones (no mayores a 18pb)
- Permite *screening* CNVs (Variante de Nro. de copias)
- No permite detectar cambios en regiones repetitivas de trinucleótidos y cambios epigenéticos

SECUENCIACIÓN



AVANCES TECNOLÓGICOS: **NGS** (Next- generation secuencing)



GENÓMICA SE APLICA A LA CLÍNICA



**PATOLOGÍAS CON ALTA
HETEROGENEIDAD
GENÉTICA**

**PATOLOGÍAS CON
SUPERPOSICIÓN
DE FENOTIPO**

**PATOLOGÍAS SIN
SOSPECHA
CLÍNICA**

HC: Varón 1 año y 7 m
Inicia crisis convulsivas 5m
Sin dismorfias. Hipotonía severa
EEG: desorganizado con espigas multifocales.
Cariotipo y CGH array: normales



Gen: **SCN8A**
12q13.13
Variante: Probable patogénica
(c.4850 G>C) en heterocigosis
generaría un cambio en la
proteína (p.Arg1617Phe)

EXOMA CLÍNICO (4813 GENES)

PANEL GENES
ENCEFALOPATÍAS
EPILEPTICAS
(30 GENES)



SCN8A 1%

*ST3GAL3, SCN2A, SCN1A, SCN9A, HCN1,
GABRA1, STXBP1, DNM1, SPTAN1,
SLC25A22, GRIN2B, SCN8A, TBC1D24, AARS,
WWOX, PNKP, ITPA, PLCB1, KCNQ2, CDKL5,
ARX, ARHGEF9, PCDH19, ALG13, CACNA1H,
CASR, CACNB4, CLCN2, SLC2A1 y GABRA1.*

HC: Niña de 2 años y 7 meses.
Deriva neuropediatra.
"Síndrome de West" inicio a los
3 meses.

- EEG: patológico.
- RMI encéfalo: Normal.
- Ex. Físico:

Máculas café con leche: + 6.
Mácula hipocrómica en mejilla.

- Cariotipo: 46,XX

Sospecha diagnóstica:

NF1 ? o Esclerosis tuberosa?



Estudio secuenciación genes:

NF1, NF2, TSC1 y TSC2.

Variante patogénica en
heterocigosis en gen **NF1**

Diagnóstico:

Neurofibromatosis 1

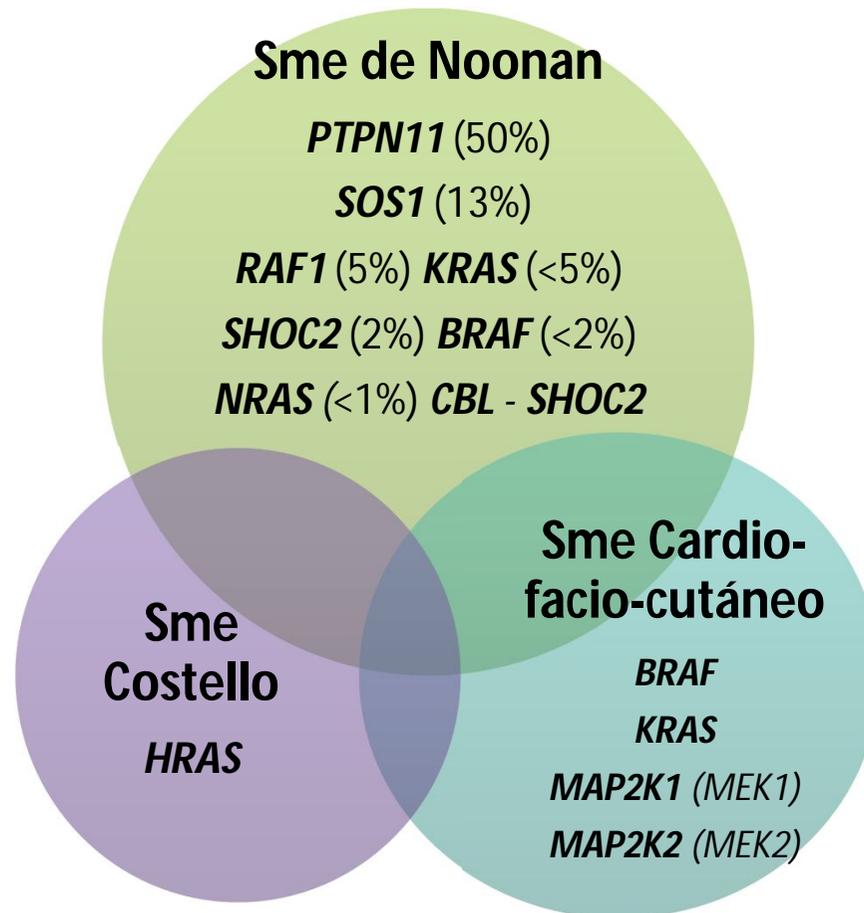
NF1: Es uno de los desórdenes genéticos más comunes (1/3000) con herencia autosómica dominante. En el 50% de los casos hay un padre afectado y en el 50% restante es debido a una mutación de Novo.

Penetrancia: 100%. Expresividad variable.

Panel: RASOPATÍAS

Smes neuro-cardio-facio-cutáneos

PANEL de
11
GENES



HC: 4 días de vida
RNPT (33°) PN: 2700 gr.
Polihidramnios (22° sem.)
Parvovirus B19 (+) Mat.
PCR Parvovirus B19 (-) BB.
"Fenotipo peculiar"
Ecocardio: EP leve.
Cariotipo: 46,XY

Sospecha: Sme Noonan?
Panel Rasopatías:
MAP2K1
Variante en heterocigosis.
Patogénica.
Diagnóstico:
Sme Cardiofaciocutáneo.

HC: 3 días de vida
RNT (37°)
RCIU. PN: 2220gr.
Eco Prenatal: Hipoplasia
vermis cerebeloso.
"Fenotipo Peculiar"
Ecocardio: Estenosis leve
de ramas pulmonares.
Cariotipo: 46,XY

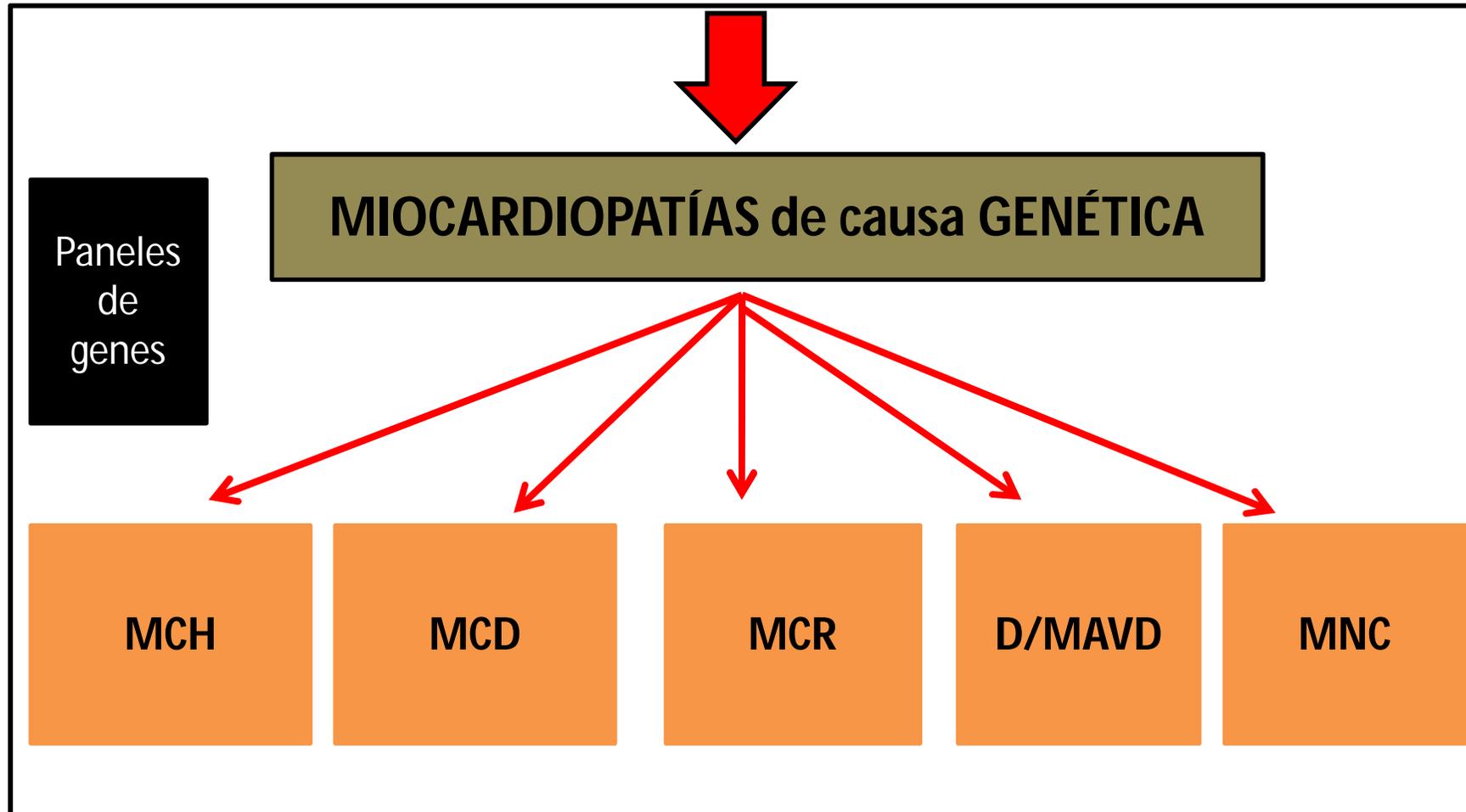
Sospecha: Sme CFC?
Panel Rasopatías:
PTPN11
Variante en heterocigosis.
Patogénica.
Diagnóstico:
Sme Noonan.

HC: 8 años. Deriva
neuropediatra por
Epilepsia y Sme de
hiperactividad.
TTO: Ac. Valproico +
Ritalina.
QX: CIA a los 3 años.
"Fenotipo peculiar"
Cariotipo: 46,XY

Sospecha: Sme Noonan?
Panel Rasopatías:
KRAS
Variante en
heterocigosis.
Patogénica.
Diagnóstico :
Sme Noonan / Sme CFC.

CARDIOGENÓMICA

que podemos estudiar?



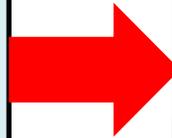
**HC: Paciente de 5 años,
internada para estudio por
cardiología.**

**Ecocardio dilatación
ventricular.**

No se pudo realizar RMI.

**Antec. Fliares: Hermana
menor con dilatación
ventricular.**

**Sospecha: MCP dilatada? /
MCP no compactada?**



Estudio de secuenciación: Panel de genes para
MCP dilatada y no compactada.

Variante patogénica en heterocigosis en gen
SCN5A (3p22.2)

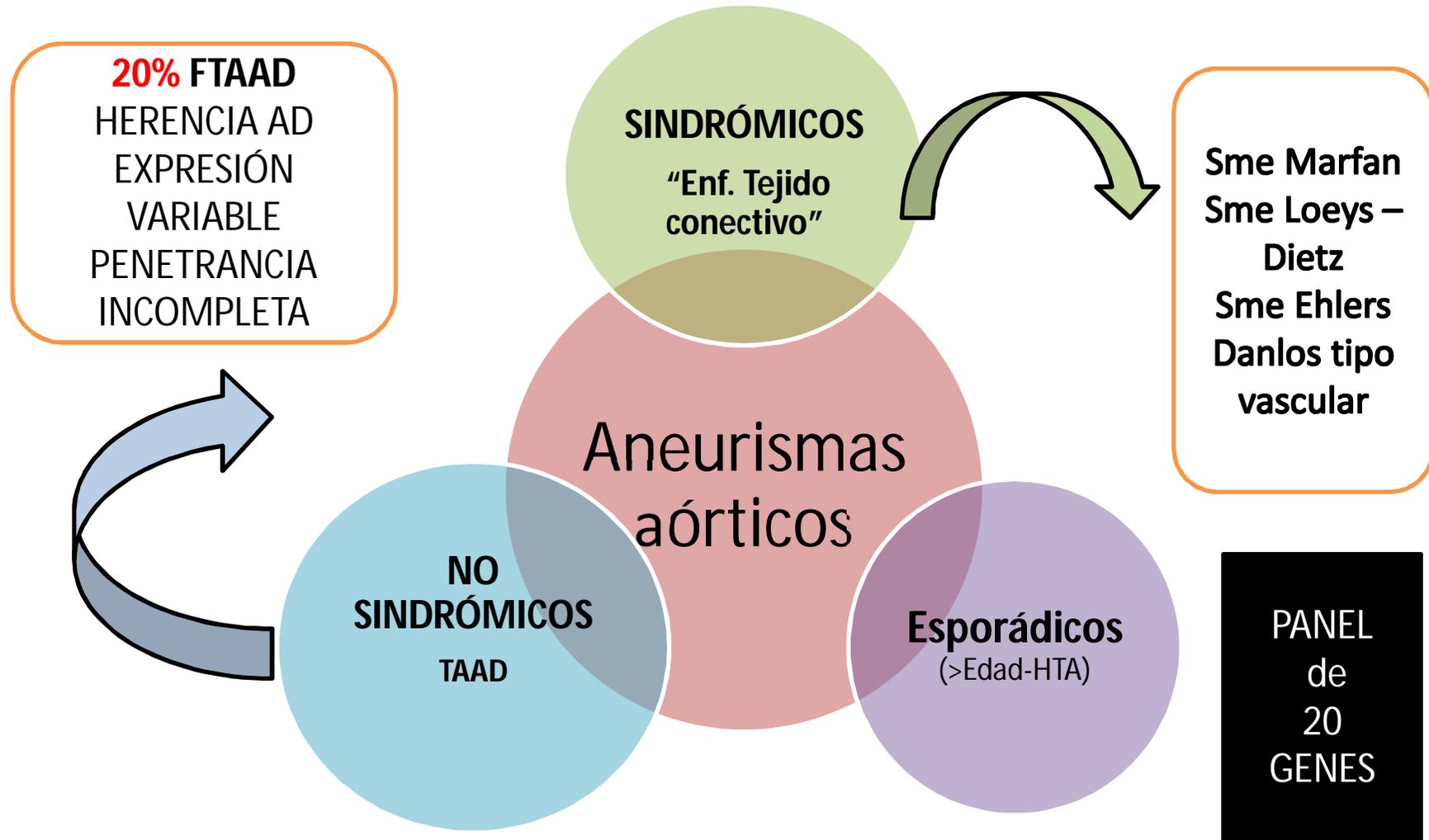
**SODIUM CHANNEL, VOLTAGE-GATED, TYPE V,
ALPHA SUBUNIT; SCN5A**

Fenotipos asociados :

- Atrial fibrillation, familial, 10.
- Brugada syndrome 1.
- Cardiomyopathy, dilated, 1E.
- Heart block, nonprogressive.
- Heart block, progressive, type IA.
- Long QT syndrome-3.
- Sick sinus syndrome 1. (AR)
- Ventricular fibrillation, familial, 1.
- {Sudden infant death syndrome,
susceptibility to} (AR)

Recomendaciones: estudio
de la variante identificada
por secuenciación Sanger a
los progenitores y a
familiares en riesgo de
portarla.

Panel: Sme Marfan – Marfan Like



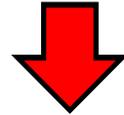
Conceptos para recordar!

Caso único o familiar?

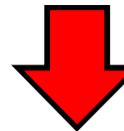
- “Expresión clínica variable”
- “Penetrancia incompleta”

ESTUDIO GENÉTICO EN UNA FAMILIA: Elección del **caso índice!**
Mayor probabilidad de identificar una variante patogénica en un gen asociado a la enfermedad en individuos con manifestaciones a edad más temprana o aquellos más afectados.

CASO ÍNDICE



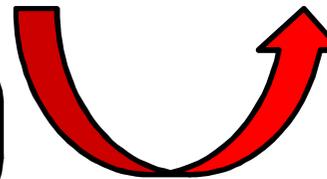
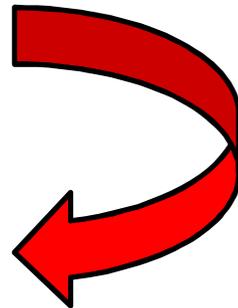
IDENTIFICACIÓN DE LA MUTACIÓN CAUSAL



OFRECER EL ESTUDIO DE LA VARIANTE IDENTIFICADA A FAMILIARES EN RIESGO DE PRESENTARLA

IDENTIFICAR INDIVIDUOS EN RIESGO DE DESARROLLAR LA ENFERMEDAD

SEGUIMIENTO Y TTO PRECOZ



IDENTIFICAR A LOS NO PORTADORES

NO SEGUIMIENTO ESTRECHO

MUCHAS GRACIAS POR SU ATENCIÓN!

aseravalle@cibic.com.ar

mfgosso@cibic.com.ar

gmejico@cibic.com.ar

icanonero@cibic.com.ar

mmadeira@cibic.com.ar