



# Aportes de los estudios genómicos al conocimiento de la patología pediátrica

**Dra. Lilien P. Chertkoff**

Jefe de Área de Laboratorios de Especialidad



# Diagnóstico-Prevención-Tratamiento individual



- Diagnóstico preciso de enfermedades raras y la detección de portadores.
- Diagnóstico, pronóstico y tratamiento de enfermedades oncológicas
- Predicción de la respuesta individual a los fármacos (efectividad / efectos adversos).
- Diseño de terapias específicas en función del mayor conocimiento de las bases moleculares de la enfermedad
- Biomarcadores de susceptibilidad en enfermedades comunes (E. Celíaca, E. de Crohn, Diabetes tipo I, SDRA).

# Genes - Genoma

## genoma

3200 millones de pares de bases



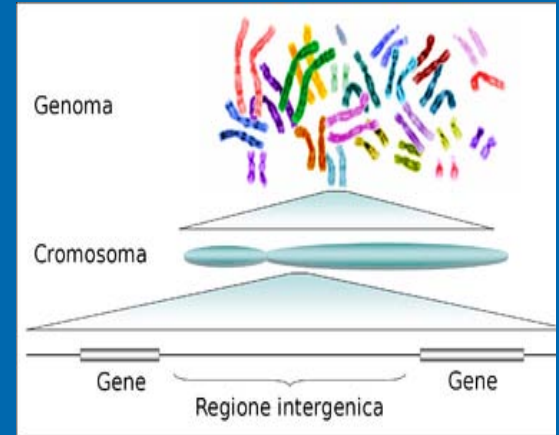
Producir una gran variedad de proteínas responsables de todas las actividades de las células

Genes codificantes de proteínas

1,5% del genoma

~20.000 genes

~80.000 proteínas



Catálisis enzimática

Transporte y almacenamiento

Movimiento coordinado

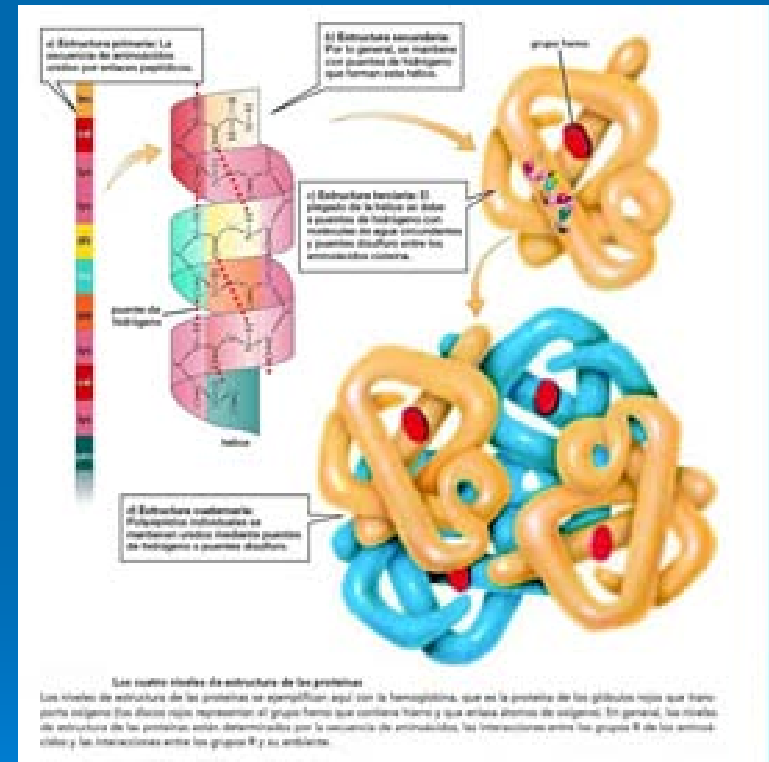
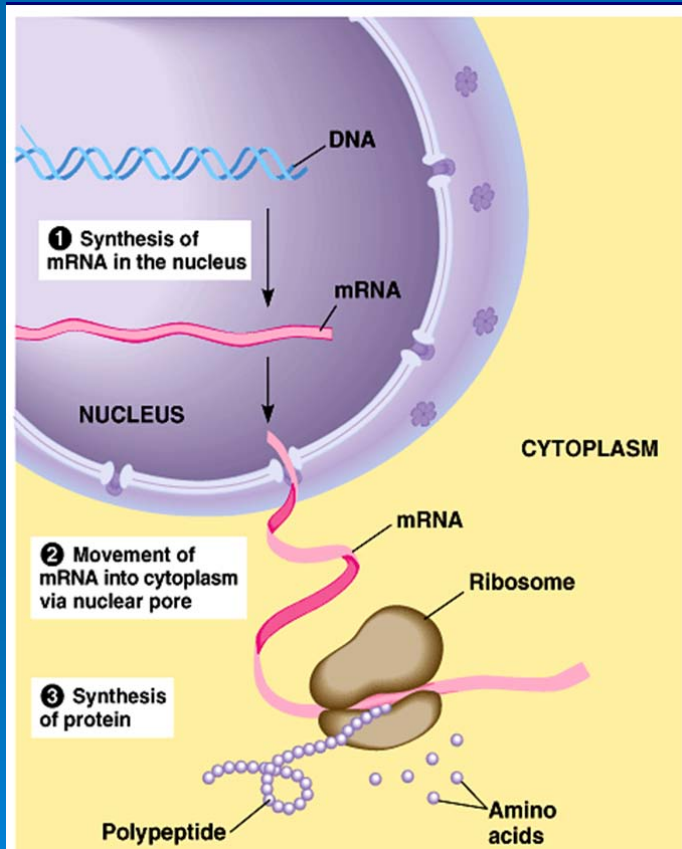
Soporte mecánico

Protección inmune

Generación y transmisión de impulsos nerviosos

Control del crecimiento y la diferenciación

# Flujo de la información genética



# 25 años del Proyecto Genoma Humano

Se han identificado ~ 3500 genes humanos causantes de 5000/7500 patologías heredadas registradas en OMIM

- Enfermedad fibroquística
- Inmunodeficiencias primarias
- Hiperplasia adrenal congénita
- Retardo mental (S.FraX)
- Enfermedades neuromusculares (DMD, DMB)
- Genes asociados a cáncer hereditario (RB, Li Fraumeni; A Telang , C. de mama)

## El estudio del defecto molecular

- Diagnóstico de certeza
- Diagnóstico de portadores
- Provee una explicación biológica de la enfermedad
- Diseño de nuevos fármacos dirigidos a las **causas** y no a los **síntomas**

# 25 años del Proyecto Genoma Humano

De acuerdo a complejidad de cada caso el diagnóstico molecular puede realizarse mediante diferentes estrategias

## Métodos de Biología Molecular tradicionales

PCR

Secuenciación de Sanger



- Mutaciones predominantes
- Genes pequeños
- Zonas específicas de interés

## Nuevas tecnologías

*Microarrays*

(deleciones /duplicaciones)

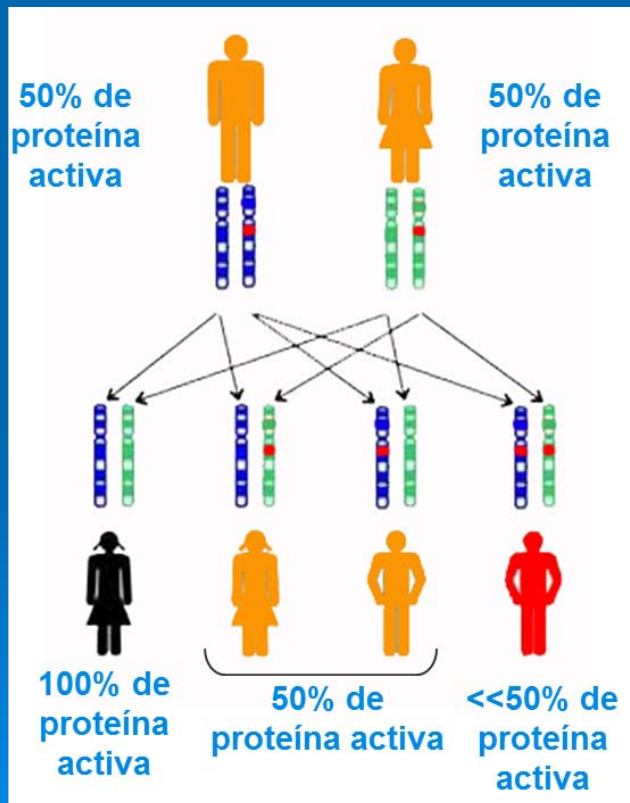
Secuenciación de alto rendimiento  
(paneles de genes)



- Deleciones/duplicaciones
- Genes largos sin mutaciones predominantes (*Rb*)
- Patologías genéticamente heterogéneas (S. Noonan)

# La Fibrosis Quística del Páncreas es una enfermedad Autosómica Recesiva

La condición de FQ se manifiesta cuando un niño hereda dos copias alteradas del gen CFTR, una de cada padre



Padres no afectados  
(portadores sanos)

Riesgo de portador:

Hermano sano ..... 2/3

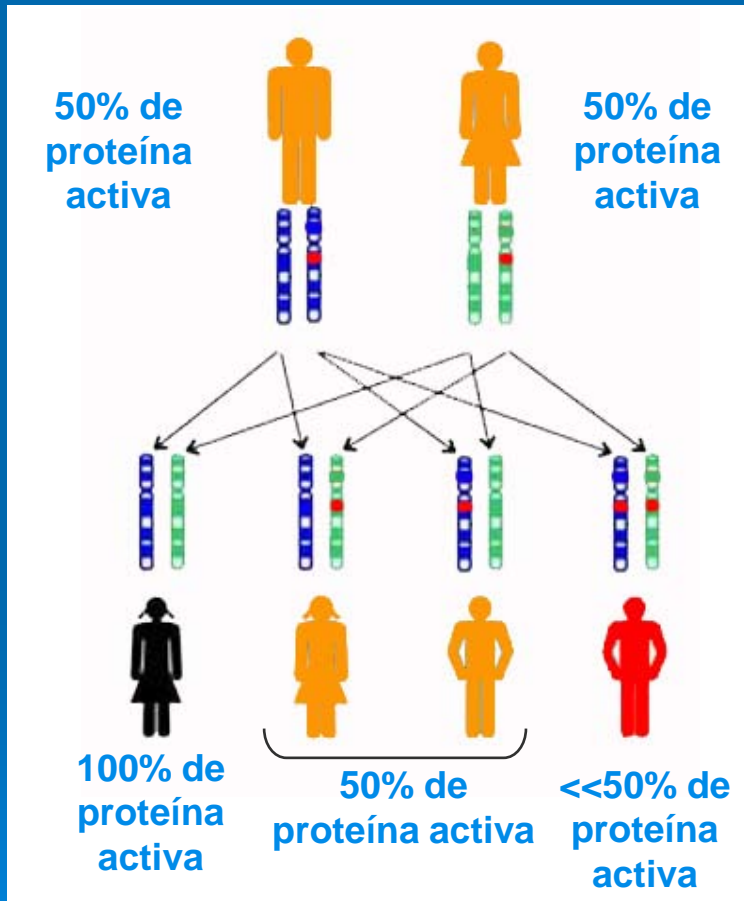
Familiares en segundo grado..... 25%

Familiares en tercer grado.....12.5%

El riesgo de recurrencia en cada  
gestación es del **25%**



# La fibrosis quística del páncreas es una enfermedad autosómica recesiva

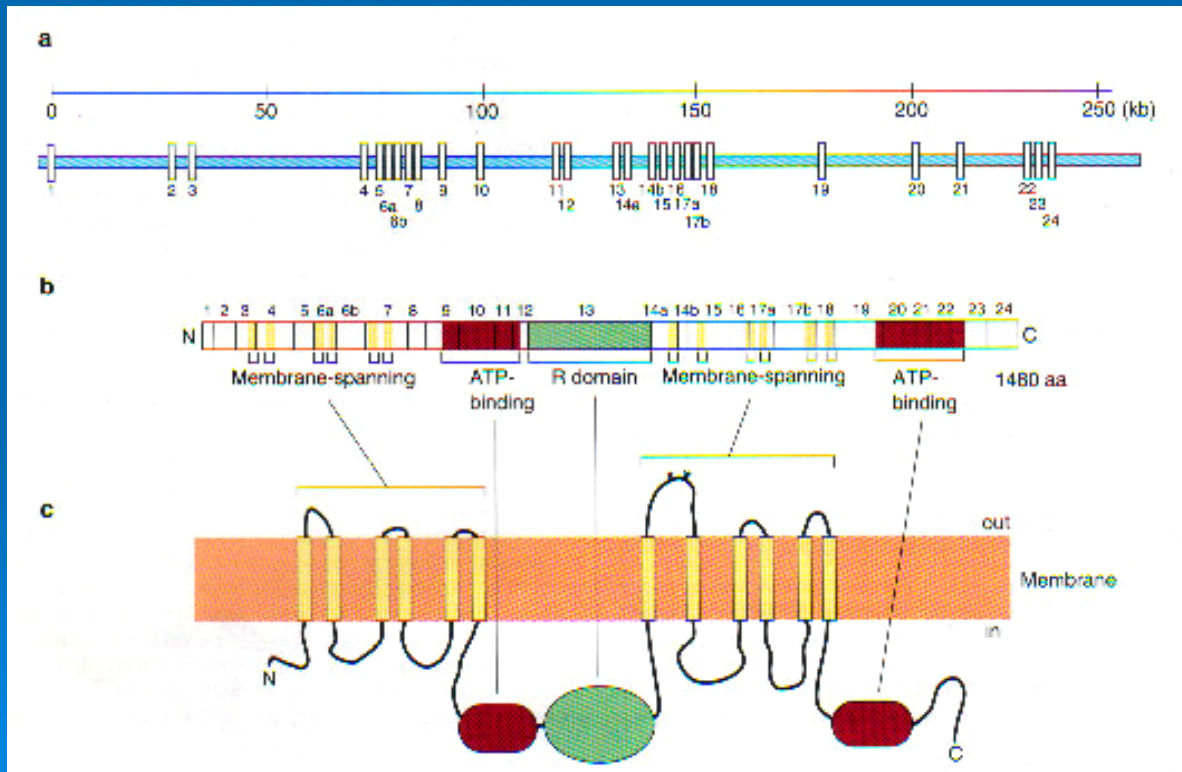
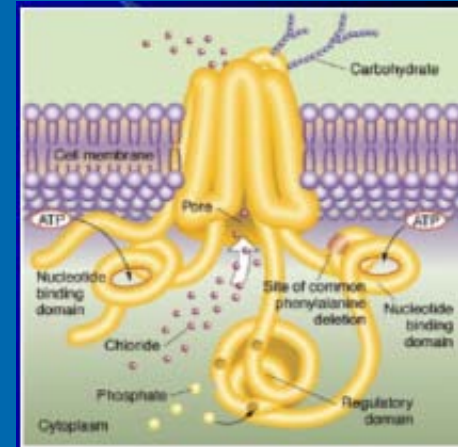


## Asesoramiento familiar

- Conocer el carácter de portador de cualquier miembro de la familia
- Ofrecer diferentes opciones reproductivas (diagnóstico prenatal, diagnóstico preimplantatorio)
- Ofrecer estudio de mutaciones a la pareja de un portador (dada la frecuencia de portador en población general: 1/40)



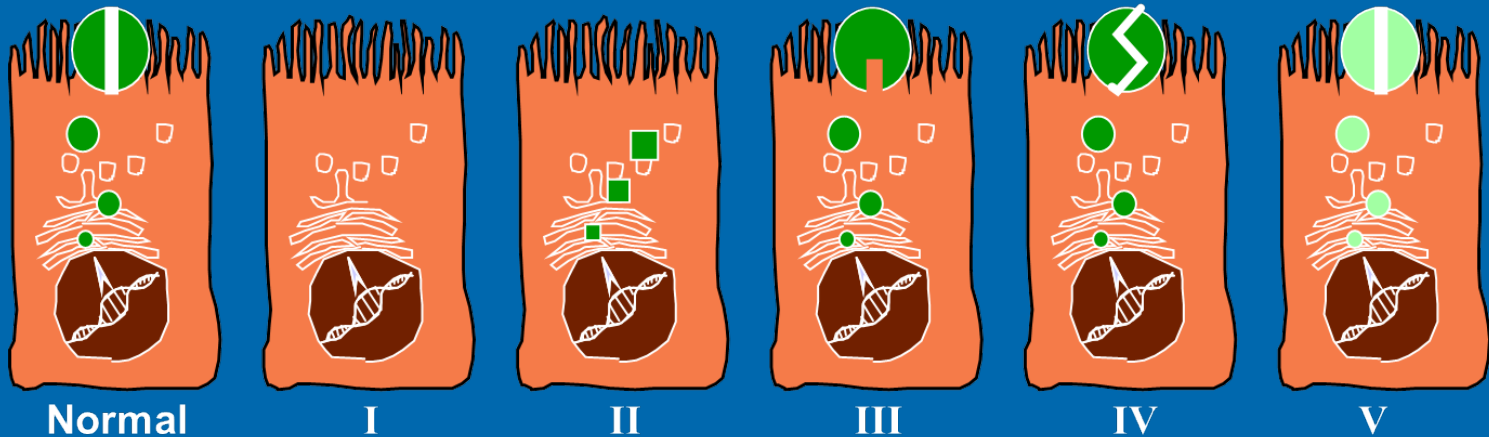
# Del gen *CFTR* a la Proteína



# Consecuencias funcionales de las mutaciones en el gen CFTR

*Sin función residual*

*Con función residual*



**Normal**

**I**

**II**

**III**

**IV**

**V**

**Ausencia de síntesis**

**Bloqueo del procesamiento**

**Bloqueo de la regulación**

**Conductancia Alterada**

**Síntesis Reducida**

Sin sentido  
G542X

Cambio de sentido

Cambio de sentido  
G551D

Cambio de sentido  
R117H

Cambio de sentido  
A455E

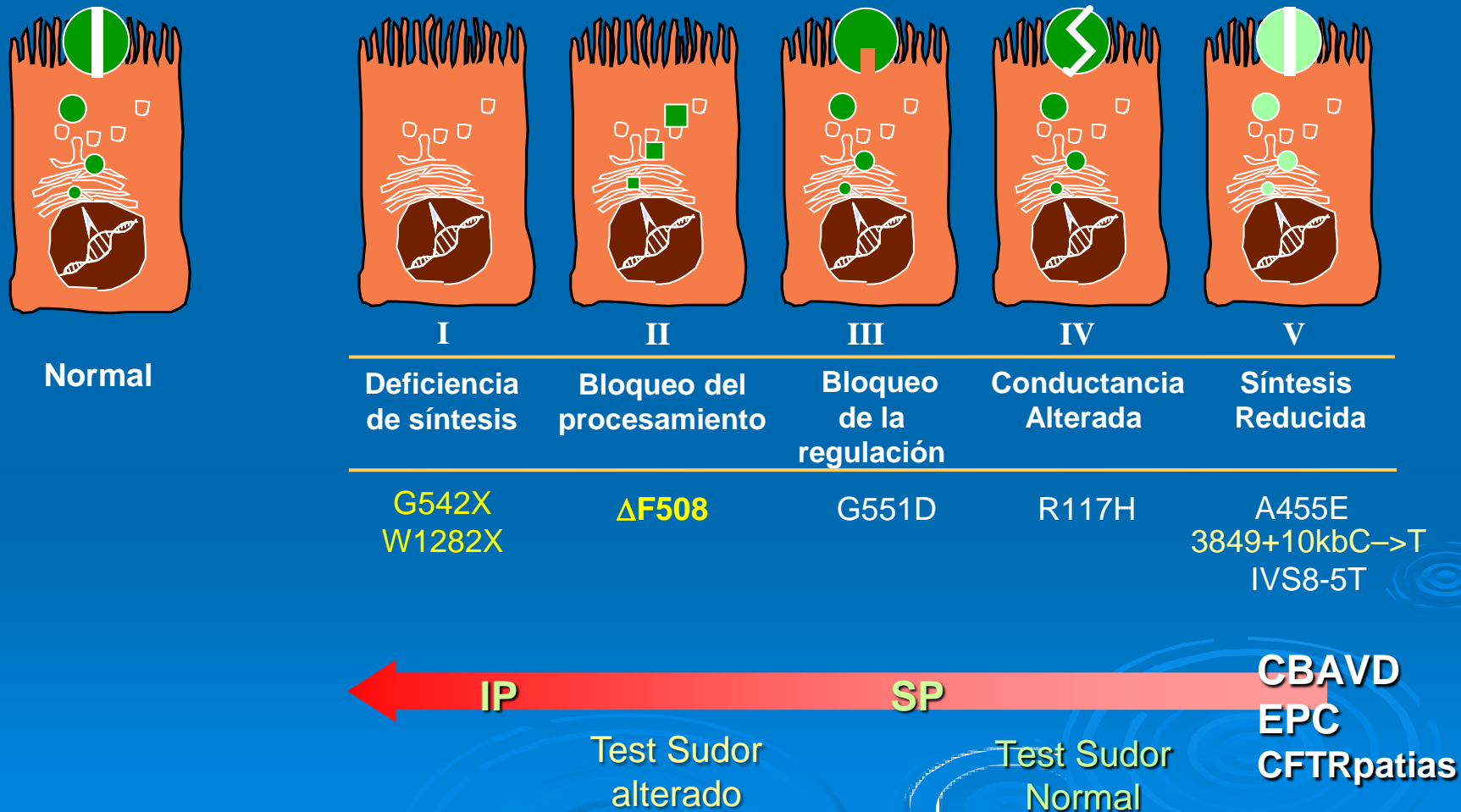
Marco de lectura  
394delTT

Pérdida de aa  
 $\Delta$ F508

Sitio de *splicing*  
1717-1G→A

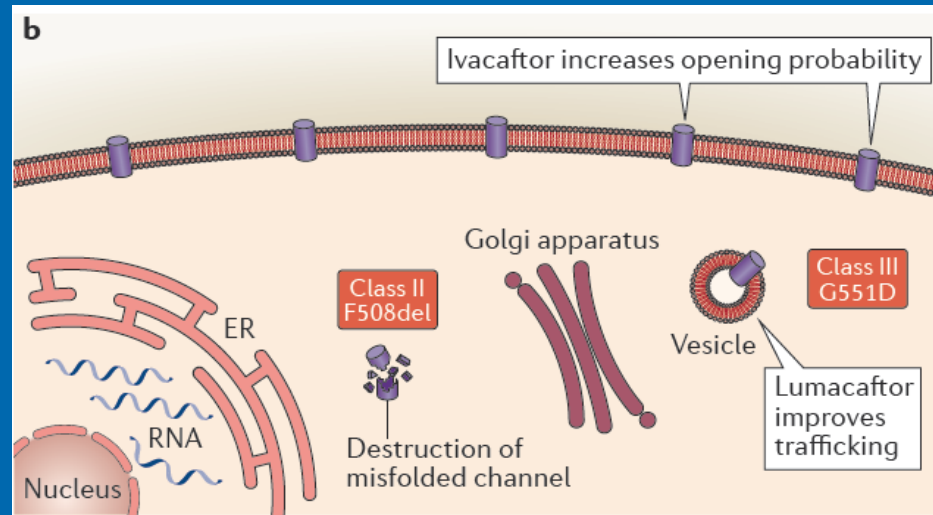
*Splicing* alternativo  
3849+10kbC→T  
IVS8-5T

# Correlación entre tipo de mutación en el gen CFTR y la variabilidad clínica de Fibrosis Quística



# Medicina de precisión en FQ

## primera droga aprobada para mutaciones clase III

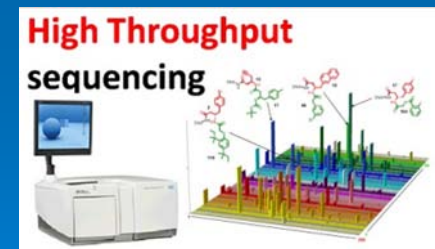


Subcategory	Functional effect	Example variant
I	No functional protein	G542x
II	Trafficking defect	F508del
III	Defective regulation	G551D
IV	Decreased conductance	R117H
V	Reduced synthesis	3120+1G>A
VI	Reduced stability	Q1412x

# El diagnóstico molecular de Fibrosis Quística requiere el estudio de un numerosas mutaciones

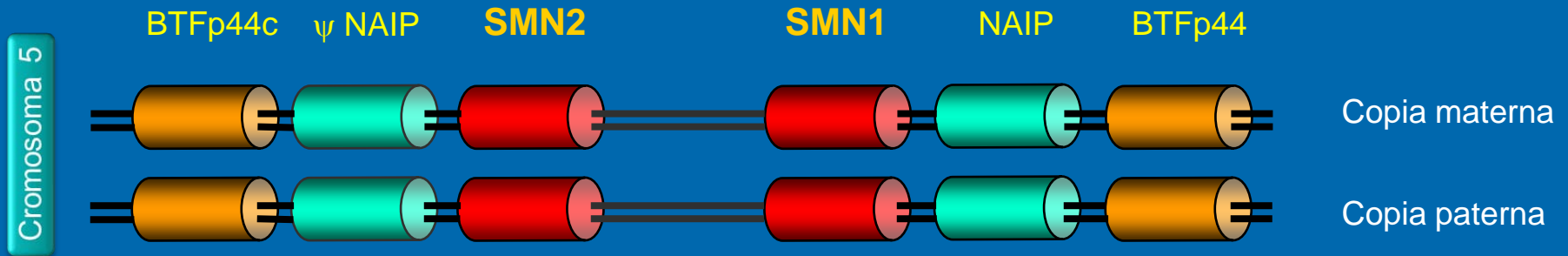
Mutación	Nº de alelos	%
<b>ΔF508</b>	<b>679</b>	<b>58,64</b>
G542X	57	4,92
N1303K	25	2,16
W1282X	17	1,47
1717-1G→A	12	1,04
3849+10Kb	12	1,04
R334W	11	0,95
ΔI507	9	0,78
2183AA→G	9	0,78
G85E	9	0,78
2789+5G→A	7	0,60
R1162X	6	0,52
621+1G→T	5	0,43
1811+1,6Kb	4	0,35
3120+1G→A	4	0,35
2789+2T→A	3	0,26
R553X	3	0,26
D1152H	3	0,26

- ✓ Los Kits diagnósticos incluyen a menos las **25** mutaciones más frecuentes según el ACMG
- ✓ Cuando no se detectan mutaciones por métodos tradicionales, se recomienda la secuenciación completa del gen



# Atrofia Muscular Espinal

Autosómica recesiva



En el 95% de los pacientes con AME se encuentra una deleción homocigota del gen SMN1

El estudio de esta deleción es la primera opción diagnóstica. Evita la biopsia muscular en la gran mayoría de los casos.

✓ La detección de portadores requiere una técnica denominada **MLPA**

**Terapia específica:** activación de los genes SMN2. Fase III  
(protocolo en curso en nuestro hospital)

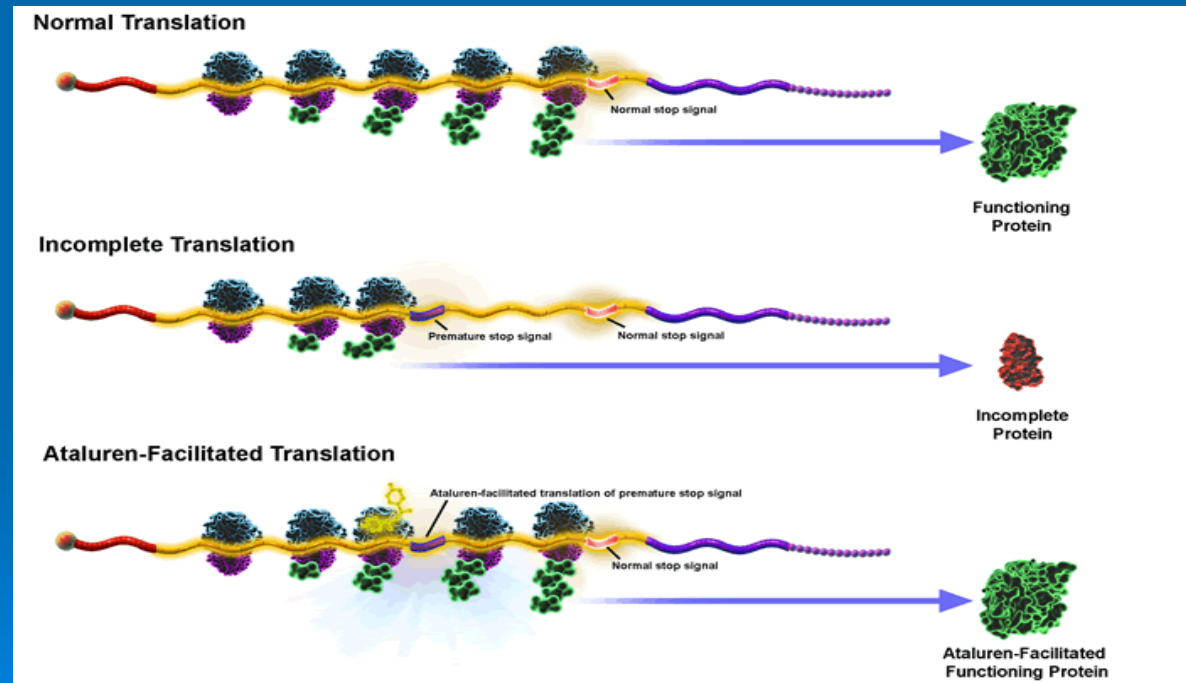
# Distrofia Muscular de Duchenne

Causada por alteraciones en el gen de la distrofina

Deleciones: 70% de los casos

Mutaciones puntuales: 30%

Mutaciones sin  
sentido (10-12%)



Aprobada para uso comercial por la FDA 2015

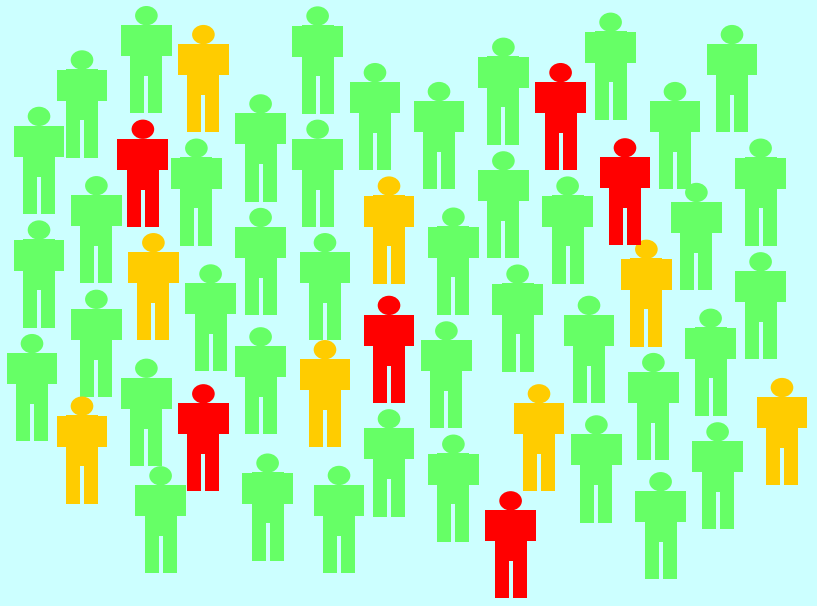


# Numerosas alteraciones genéticas adquiridas que causan distintas formas de **cáncer**

## Estudio de marcadores moleculares en Cáncer

ROLE	DNA/GENE EXPRESSION BIOMARKER	CANCER TYPE (COMMENT)
Diagnostic	<i>BCR-ABL1</i>	chronic myeloid leukemia (see Figure 10.7)
	<i>JAK2</i>	myeloproliferative disease (mutations confirm diagnosis of clonal MPD)
	<i>EWS-FLI1</i>	Ewing sarcoma
Predictive	<i>HER2</i>	breast cancer (amplification predicts response to anti-HER2 antibodies)
	<i>BRAF</i>	melanoma (mutations predict response to specific BRAF inhibitors)
	<i>KIT, PDGFRA</i>	gastrointestinal stromal tumors (mutations predict response to c-KIT/PDGFRA inhibitors)
Prognostic	<i>TP53</i>	chronic lymphocytic leukemia (mutations are indicative of poor outcome)
	<i>BRAF</i>	metastatic colorectal cancer (mutations are indicative of poor outcome)
	<i>MammaPrint</i> (70-gene expression signature)	breast cancer (risk stratification)
	<i>OncotypeDx</i> (21-gene expression signature)	breast cancer (risk stratification)
Disease monitoring	<i>BCR-ABL1</i>	chronic myeloid leukemia (detection of minimal residual disease)
	<i>PML-RARA</i>	acute promyelocytic leukemia (detection of minimal residual disease)

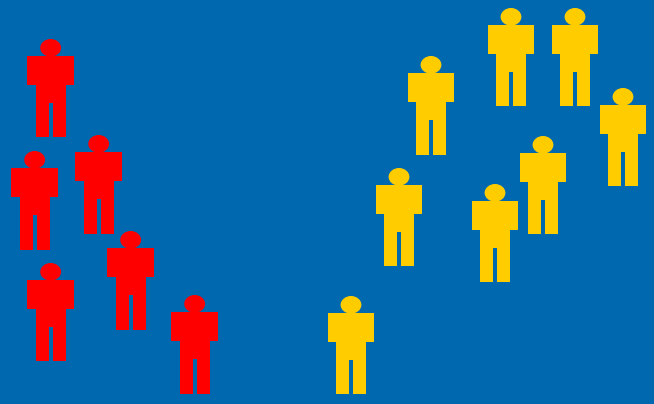
# Pacientes tratados con la misma dosis



# Terapia alternativa

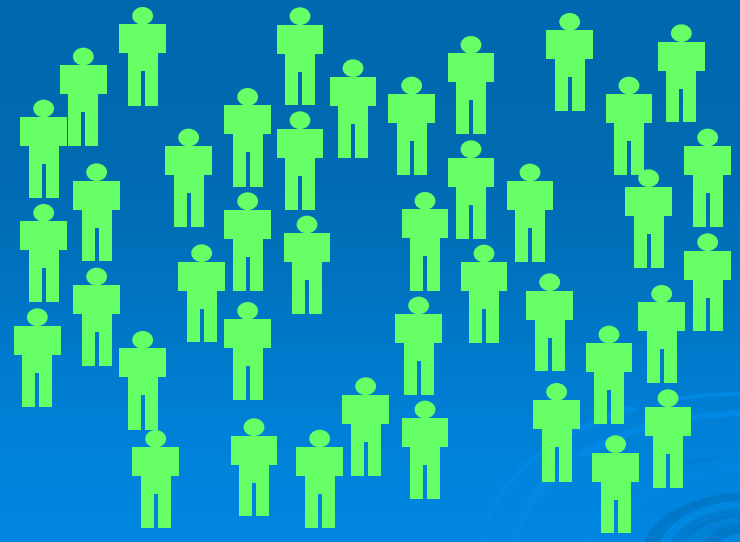
No respondedores

Respuestas tóxicas



# Terapia Standard

Respondedores  
sin predisposición a toxicidad



# Factores implicados en la variabilidad de la respuesta farmacológica

**PATOLOGICOS** Patogénesis y severidad de la enfermedad

**FISIOLOGICOS** Edad, sexo, estado nutricional, función renal y hepática

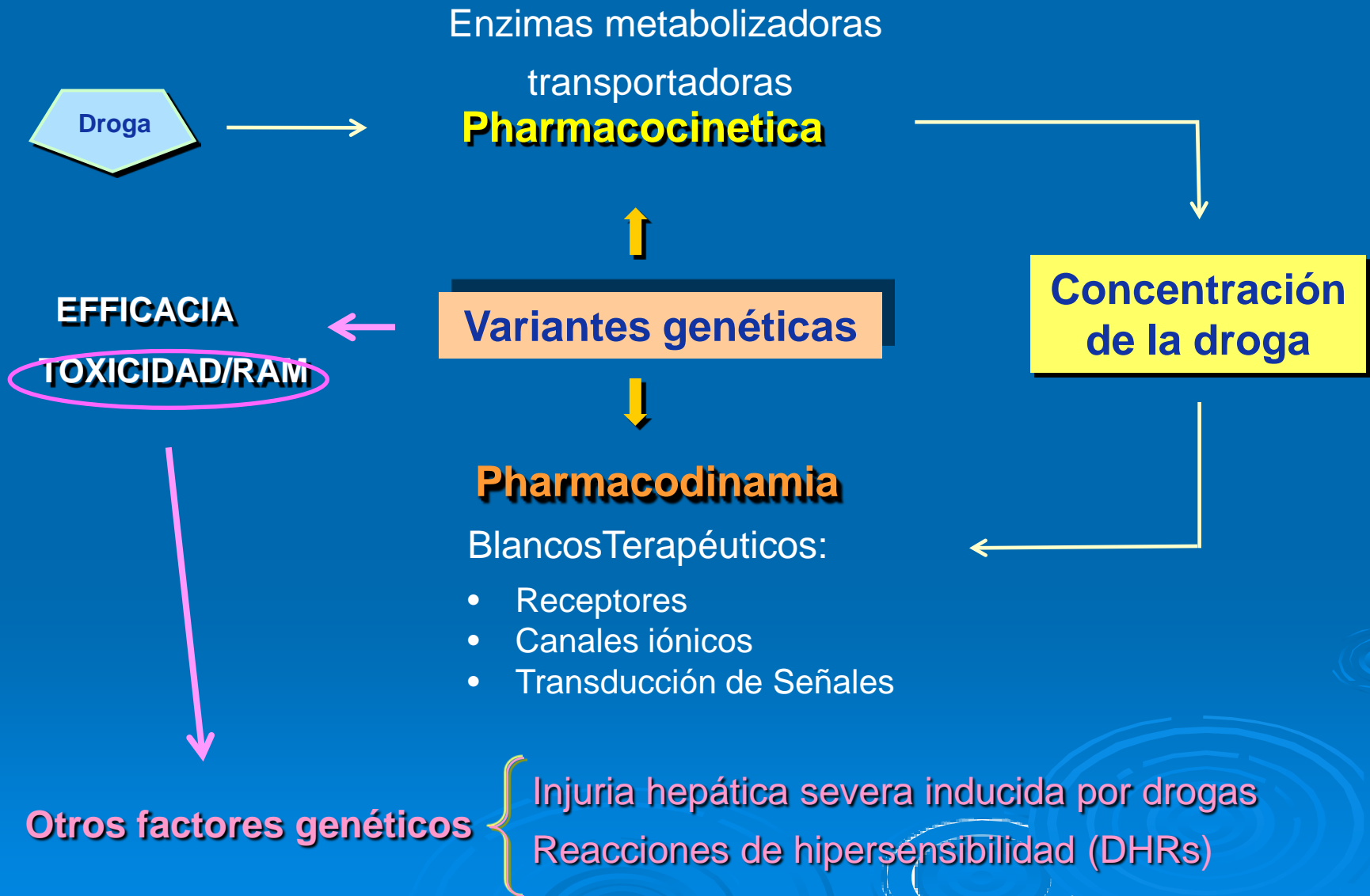
**XENOBIOTICOS** Interacciones droga-droga

**AMBIENTALES** Alcohol, tabaco, etc

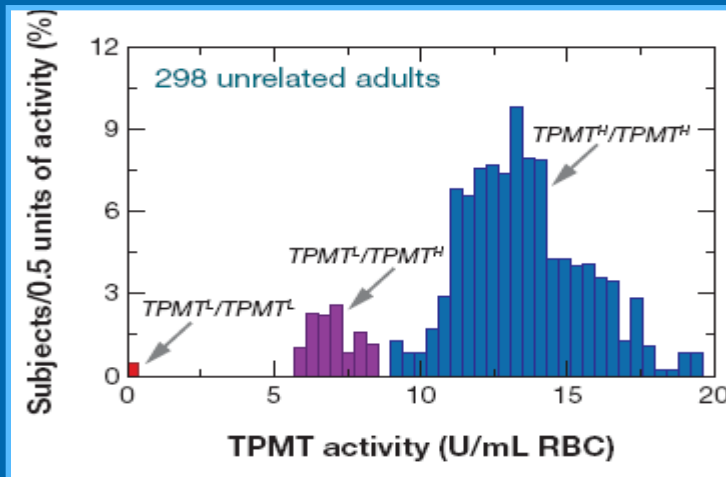
**ADHERENCIA**

**GENETICOS** 20%-90% biodisponibilidad  
Eficacia  
efectos adversos (ADR)

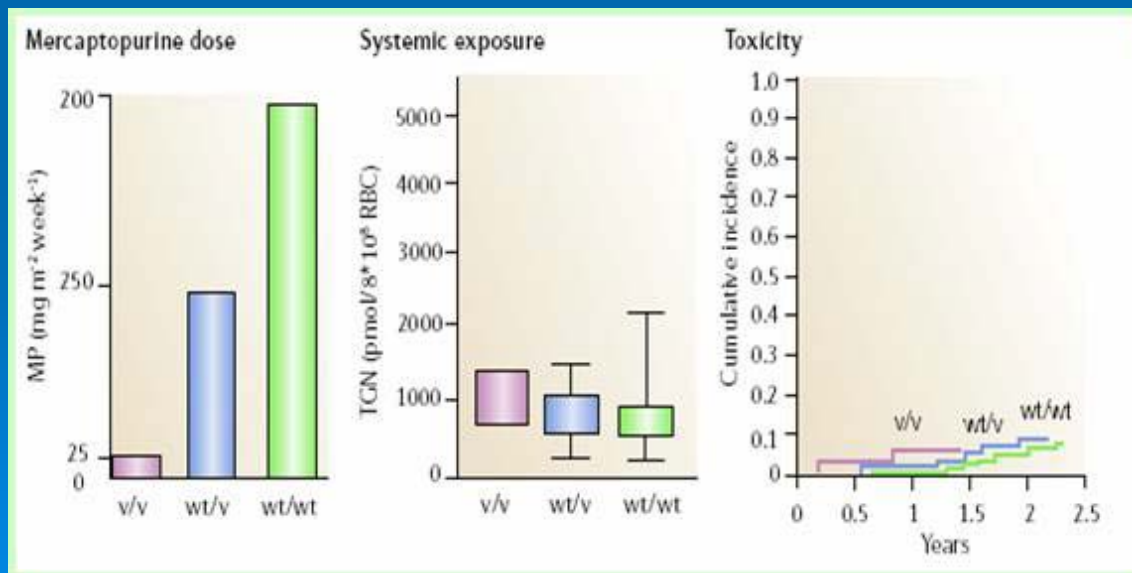
# Pharmacogenómica



# Actividad de la TPMT según genotipo



- Normal
- Intermedia
- Deficiente



**dosis estándar**  
75 mg/m<sup>2</sup>/día

65% de dosis

6-10% de dosis

# Pharmacogenomic Biomarkers in Drug Labels

<http://www.fda.gov/Drugs/ScienceResearch/ResearchAreas/Pharmacogenetics/ucm083378.htm>

<b>Drug</b>	<b>Therapeutic Area</b>	<b>Biomarker</b>	<b>Label Sections</b>
Abacavir	Antivirals	HLA-B*5701	Genetic testing required prior to initiating treatment
Imatinib	Oncology	C-Kit	Genetic testing required prior to initiating treatment
Gefitinib	Oncology	EGFR	Indications and Usage, Warnings and Precautions
Cetuximab	Oncology	KRAS	Indications and Usage
Carbamazepine	Neurology	HLA-B*1502	Genetic testing required in Chinese population
Ivacaftor	Neumonology	CFTR G551D	Genetic testing required prior to initiating treatment
Arsenic trioxide	Oncology	PML/RAR	Genetic testing required prior to initiating treatment
Warfarin	Hematology	VKORC1 CYP2C9	Dosage and Administration, Precautions
Irinotecan	Oncology	UGT1A1	Dosage and Administration, Warnings,
Azathioprine Mercaptopurine	Rheumatology Oncology	TPMT	Dosage and Administration, Warnings and Precautions, Drug Interactions, Adverse Reactions
Rifampin, Isoniazid,	Antiinfectives	NAT1; NAT2	Adverse Reactions, Clinical Pharmacology
Aripiprazole Atomoxetine	Psychiatry	CYP2D6	Dosage and Administration, Warnings and Precautions, Drug Interactions,

***FDA***

<http://www.fda.gov/Drugs/ScienceResearch/ResearchAreas/Pharmacogenetics>

PharmGKB

The Pharmacogenomics Knowledgebase

[www.pharmgkb.org](http://www.pharmgkb.org)

**¡Gracias por su atención!**

A decorative graphic consisting of several sets of concentric circles in a lighter shade of blue, scattered across the bottom right portion of the slide.



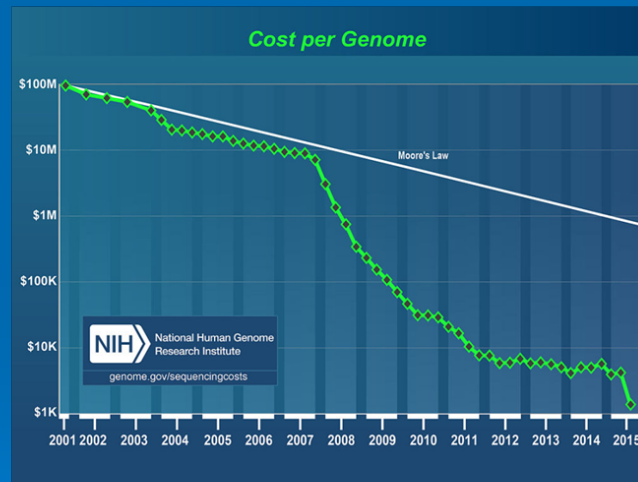


# 25 años del Proyecto Genoma Humano

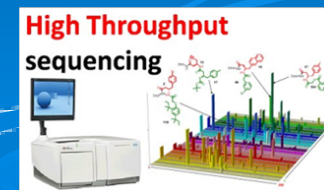
Se han identificado ~ 3500 genes humanos causantes de 5000/7500 patologías heredadas registradas en OMIM



La secuenciación del primer genoma  
6-8 años  
\$1.000.000.000



Secuencia del genoma  
Semanas / \$ 10.000



# RAM: Falla hepática severa derivada del uso de Acido Valproico

El ácido valproico está contraindicado en pacientes con patología mitocondrial confirmada o sospechada en niños por debajo de los 2 años de edad

Mutaciones en el gen que codifica para la DNA polimerasa  $\gamma$  (POLG)

Las mutaciones A467T y W748S están presentes en 2/3 de los pacientes con enfermedades mitocondriales relacionadas a este gen

Prospecto de Depakene por  
indicación de la FDA

# Un fenotipo puede estar causada por un mutaciones diferentes **genes**

- Inmunodeficiencias Primarias (250 genes)
- Enf. Neuromusculares
- Cardiomiopatías (Ras/MAPK, Noonan)
- Encefalopías epilépticas (Síndrome de Dravet)
- Defectos de la diferenciación sexual
- Enfermedades mitocondriales
- Enfermedades neuro-metabólicas

**Diagnóstico propuesto: Secuenciación simultánea de paneles de genes / Estudio de exomas**

Acelera el tiempo diagnóstico, evita estudios adicionales, focaliza el manejo del paciente y orienta el tratamiento

