

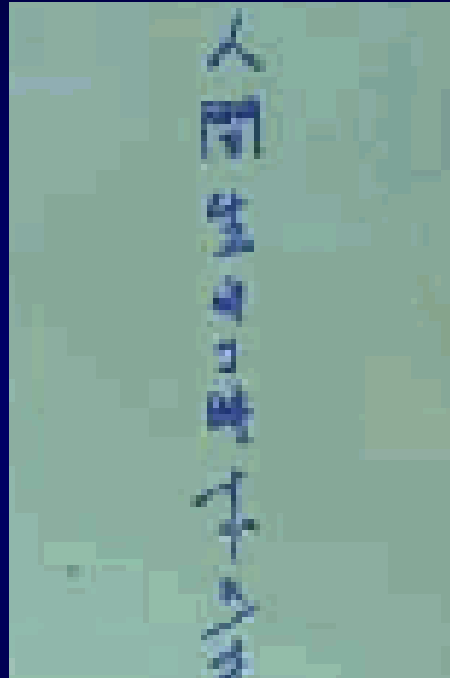
Sociedad Argentina de Pediatría  
Congreso del Centenario  
1911-2011

**Del fenotipo al genotipo: el feto como  
paciente**

*“Desde Hermógenes Álvarez en Montevideo  
hasta Dennis Lo en Hong Kong”*

Genética y epigenética - Defectos congénitos

Dr. Enrique Gadow  
Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas.  
CEMIC. Septiembre 2011



**“El niño al nacer tiene un año de vida”**

**Proverbio oriental.**

---

**“El momento más vulnerable de nuestras vidas  
no es al nacer como se creía, sino en los  
primeros  
estadios de la gestación”**

**“¿Dónde está la sabiduría que  
perdimos con el conocimiento?”**

**¿Dónde está el conocimiento que  
perdimos con la información?”**

---

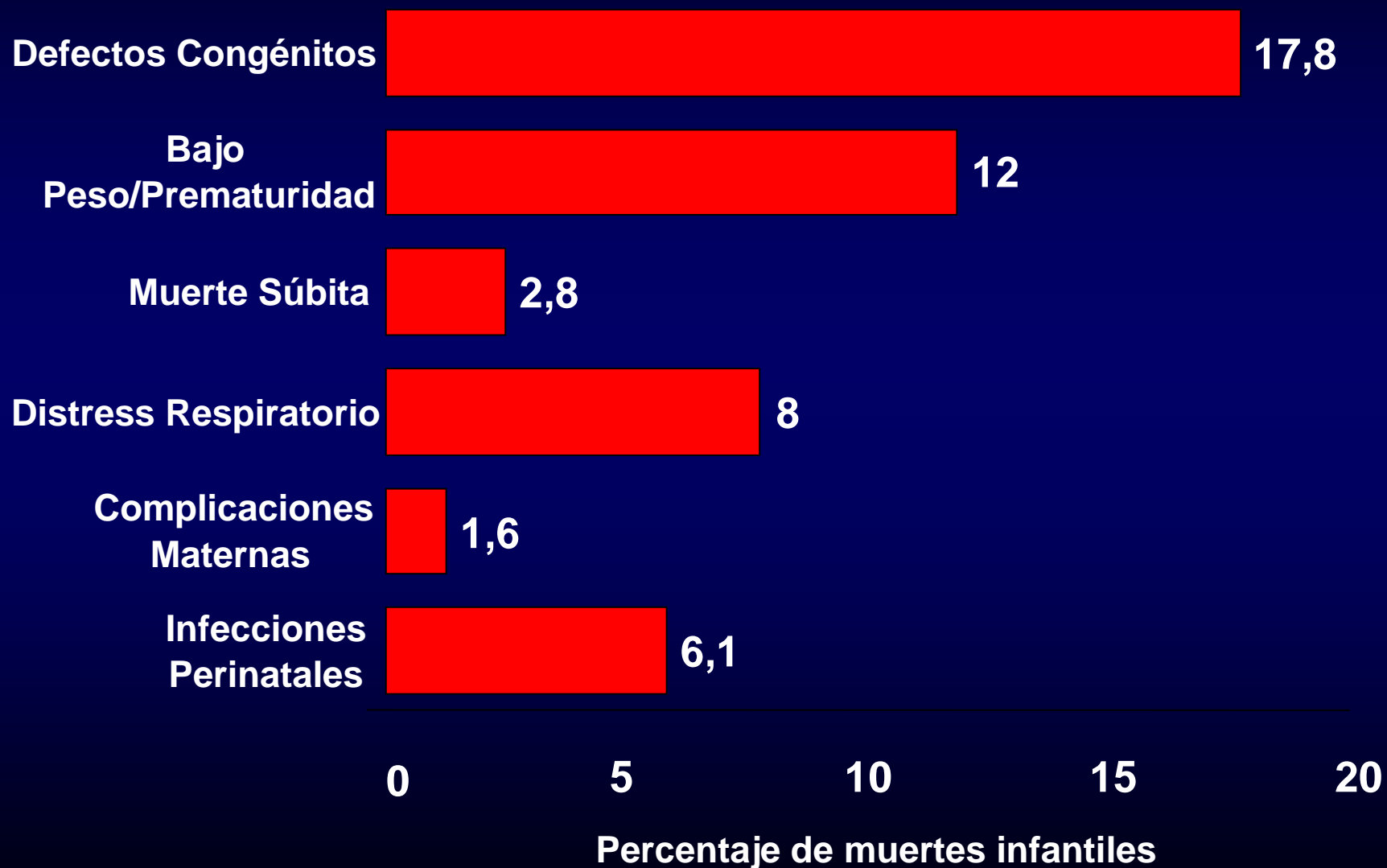
**Thomas Stearns Eliot  
1888-1965**

***“El gran peligro de la humanidad no es el desarrollo del saber. Es la ignorancia.”***

***“Con decir la verdad no basta. Es preciso además decir toda la verdad.”***

Francois Jacob. Premio Nobel de Medicina, 1965.

# Principales causas de Mortalidad Infantil en Argentina





# **Evolución en el conocimiento del Genoma Humano**

**1953: J. Watson, F Crick. Estructura del ADN**

**1972: P Berg Molecula Recombinante de ADN**

**1980: D. Boetyein Mapeo genómico por RFLP**

**1985: Factibilidad de establecer la secuencia del genoma**

**1988: NIH - DOE: Reunión. J. Watson Coordinador. HUGO**

**1992: J. Craig Venter crea el Institute Genomic  
Recombination**

**D Page logra secueenciar al cromosoma Y**

**D Cohen el cromosoma 21**



**Hermógenes Álvarez**



PRENATAL DIAGNOSIS  
*Prenat. Diagn.* 18: 870–872 (1998)

OCCASIONAL TRIBUTE

REACHING THE FETAL ENVIRONMENT: A  
TRIBUTE TO DR. HERMÓGENES ALVAREZ

ENRIQUE C. GADOW\*

*Department of Obstetrics and Gynaecology, CEMIC, Affiliated Hospital School of Medicine, University of  
Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina*

# Enfermedad hemolítica Feto neonatal: Sobrevida Perinatal

**Año 1950: Mortalidad 50%**

- Exanguinotransfusión
- Amniocentesis. Espectrofotometría de L.A.
- Transfusión Intrauterina Peritoneal
- Ultrasonido Doppler Cerebral Media
- Cordocentesis
- Transfusión Intravascular Fetal
- Localización del Gen Rh. Cromosoma 1
- PCR en células fetales

**Año 2000: Mortalidad 4%**

# DIAGNÓSTICO MÉDICO

**Fenotipo**



**Genotipo**

**Examen físico**

**Cariotipo**

**Serología**

**FISH**

**Ultrasonido**

**PCR**

**Doppler**

**Sonda**

**Resonancia Magnética**

**RFLP**

# **Proyecto Genoma Humano**

## **Impacto en la medicina**

- **Mejora nuestra comprensión y categorización de las enfermedades**
- **El tratamiento con drogas será más seguro y efectivo porque toma en cuenta la respuesta individual**
- **Crecerá el uso de estudios genéticos para predecir el riesgo de enfermedad e iniciar intervenciones preventivas.**
- **Desarrollo biotecnológico. Nuevas “herramientas” diagnósticas y terapéuticas.**

Los análisis genéticos son considerados, por la oficina de Control Tecnológico de EEUU, como el área de más rápido crecimiento en el diagnóstico médico.

---

**SE CALCULA QUE ESTE DESARROLLO  
SE INCREMENTARA HASTA 10 VECES  
EN LA PRESENTE DECADA.**

# Tipos de Muestra Diagnóstico Pre y Post-natal

- Sangre
- Líquido Amniótico
  - Células en Cultivo
  - Células sin cultivar
- Velloosidades Coriónicas
- Blastómeros
- Cuerpos Polares
- Productos de Aborto

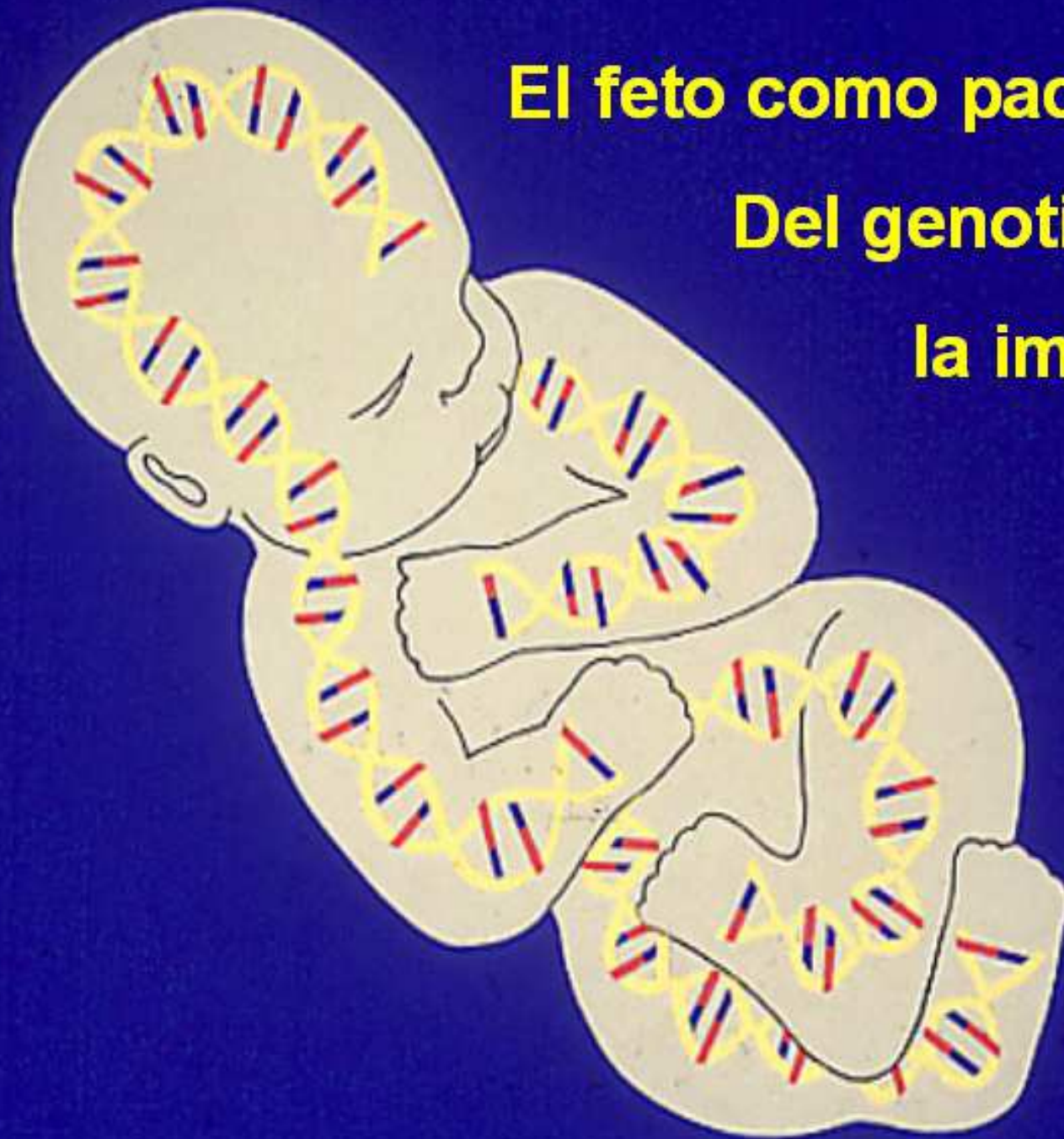
# Aplicaciones en Genética Pre y Postnatal

- Retardo mental Postnatal
  - RM idiopático asociado a telómeros
  - Síndromes por Microdelección
- Investigación en Abortos Espontáneos (POC)
- Fertilización in vitro
  - Blastómeros
- Diagnóstico Prenatal
  - Líquido Amniótico
  - Vellosidades Coriónicas

**El feto como paciente**

**Del genotipo a**

**la imagen**





# Evolución histórica del Diagnóstico Genético Prenatal Precoz

1978	1er nacimiento fertilización in Vitro	Step toe, Edwards
1985	PCR	Premio Nobel K Mullis
1989	Diagnóstico preimplantación Enf ligada al X	Handyside
1993	FISH multicolor. Diagnóstico preimplantación	Munne
1995	HUGO // ELSI	NIH
1999	Multiple round FISH. Diagnóstico preimplantación	Gianaroli
2000	FISH para translocaciones	Munne
2001	Células fetales en circulación materna	NIFTY
2002	ADN y ARN fetal en suero materno	Dennis Lo, Bishoff FZ
2004	Secuencia de ADN con "microarrays" en una célula.	D. Wells

# **Beneficios de los estudios de diagnóstico prenatal**

- **Despeja preocupaciones a la mayoría de las parejas**
- **Ayuda el manejo obstétrico**
- **Permite intervenciones perinatales especializadas**
- **Evita intervenciones obstétricas innecesarias**
- **Permite a la pareja prepararse para recibir un niño con un trastorno**

PRENATAL DIAGNOSIS

*Prenat Diagn* 2006; **26**: 885–891.

Published online 17 August 2006 in Wiley InterScience

(www.interscience.wiley.com) DOI: 10.1002/pd.1510



## **Awareness and attitude toward prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities in patients with no access to legal termination of pregnancy**

E. Gadow<sup>1\*</sup>, F. Petracchi<sup>1</sup>, L. Igarzabal<sup>1</sup>, A. Gadow<sup>2</sup>, R. Quadrelli<sup>3</sup> and H. Krupitzki<sup>4</sup>

<sup>1</sup>*Genetic Unit, Department of Obstetrics and Gynecology, Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas CEMIC, Instituto Universitario IUC, Buenos Aires, Argentina*

<sup>2</sup>*Department of Psychiatry, Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas CEMIC, Instituto Universitario IUC, Buenos Aires, Argentina*

<sup>3</sup>*Genetic Unit, Hospital Italiano, Montevideo, Uruguay*

<sup>4</sup>*Research Unit, Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas CEMIC, Instituto Universitario IUC, Buenos Aires, Argentina*

# Medicina embriofetal

## Futuro

### Del genotipo al fenotipo

- Diagnóstico preimplantación
- Células fetales en circulación materna
- Genes candidatos



*“Preimplantation Genetic Diagnosis (PGD) has evolved from a strictly narrow genetic focus to broader, novel, indications not initially envisioned by the genetic community.”*

**Joe Leigh Simpson, M.D.**

**Prof. Departments of Obstetrics & Gynecology and Molecular and Human Genetics**

# Diagnóstico Preimplantación

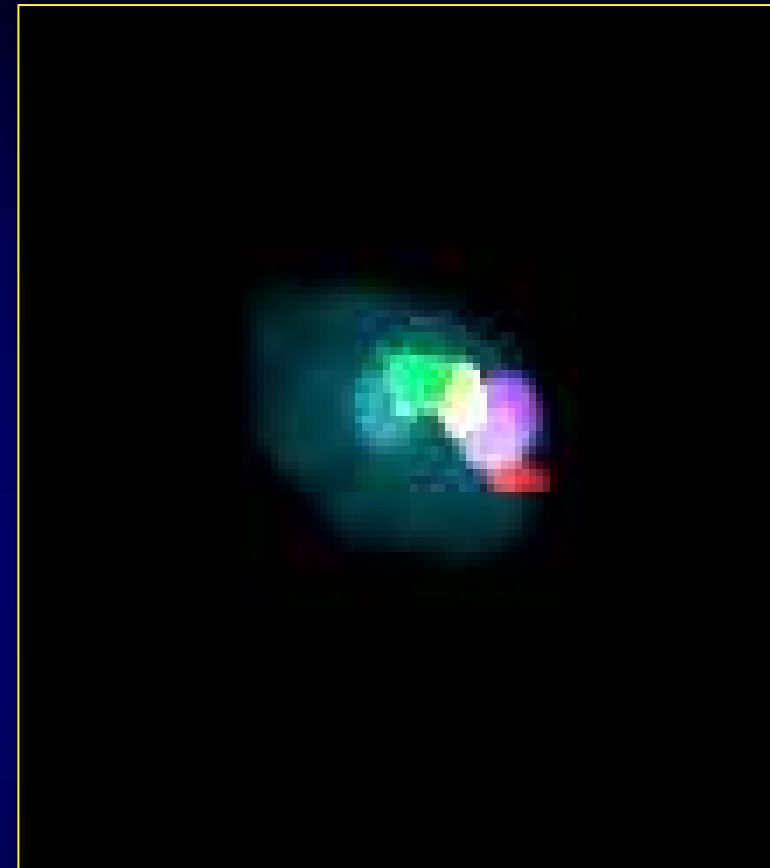
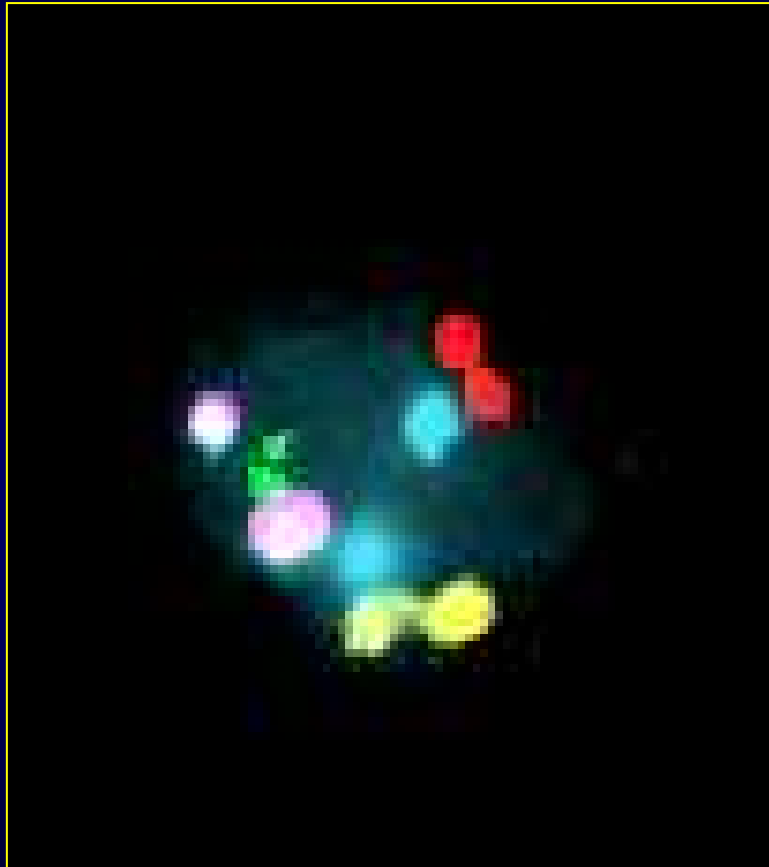
- Técnica disponible desde 1990 (Handyside)
- 1991: International Working Group on PGD.
- 1997: ESHRE PGD Consortium.
- 2000: Incorporado a la ISPD.

# Anomalías cromosómicas en ovocitos y embriones

	Ovocitos	Embriones
Aneuploidías aisladas	1:6735 (29%)	1:4000 (23%)
Aneuploidías complejas	23%	37%
Totales	52%	60%

Munne S. ISPD, Bs.As., 2002

1<sup>st</sup> POLAR BODY



2<sup>nd</sup> POLAR BODY

13 16 18 21 22



# Diagnóstico Preimplantación (PGD) Biopsia del 1º cuerpo polar

---

## Ventajas



Mantiene la integridad del embarazo

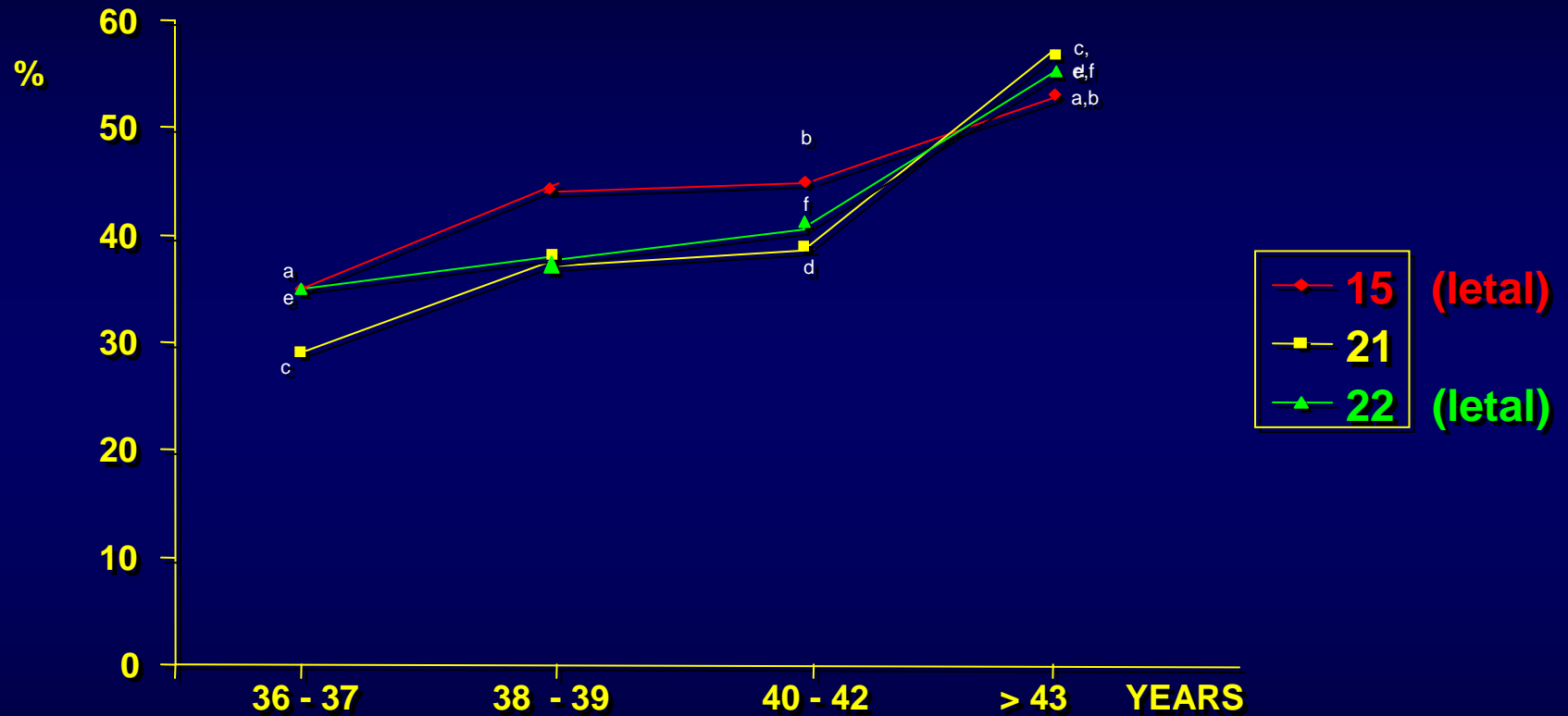
## Desventajas



No permite detectar anomalías de origen paterno

---

# Tipo de anomalías cromosómicas y edad materna. PGD



a  $P < 0.025$   
b  $P < 0.05$   
c  $P < 0.001$   
d, e, f  $P < 0.005$

# Aceptabilidad del PGD

Iguales indicaciones que el diagnóstico prenatal tradicional.

Evita procedimientos invasivos posteriores.

Evitar el aborto inducido en embarazos “clínicos”

## Conclusiones

Tal como ocurrió con el diagnóstico prenatal en la década del 80, en la presente década habrá una mayor demanda por parte de las parejas para el diagnóstico preimplantación.

Debe contemplarse tanto la autonomía de la paciente como la objeción de conciencia.

# Medicina perinatal

## Futuro

### Del genotipo al fenotipo

- Diagnóstico preimplantación
- Células fetales en circulación materna
- Genes candidatos

# Diagnóstico prenatal

## Evidencias sobre material genómico fetal

- El número de células fetales en la circulación materna es escasa. Estas células, sin embargo persisten por décadas en la madre post parto.
- El ADN y ARN fetal en suero materno puede ser identificado, aislado, amplificado e hibridizado por microarrays, permitiendo la detección de microdeleciones y rearrreglos teloméricos.
- “Microarrays” en una sola célula. Ej: ovocito, puede detectar hasta 8.500 genes



**Diana Bianchi**

**Dennis Lo**

---

International Society for Prenatal Diagnosis, ISPD



# Celulas Fetales en Circulación Materna. Conclusiones

- Nuevo abordaje para diagnóstico y monitoreo prenatal no invasivo
- Mayores aplicaciones clínicas
- Desarrollo de marcadores epigenéticos en plasma
- Desarrollo y análisis cuantitativo de marcadores de ARN en plasma
- Contribución hematopoyética de ácidos nucleicos en plasma



# Medicina embriofetal

## Futuro

### Del genotipo al fenotipo

- Diagnóstico preimplantación
- Células fetales en circulación materna
- Genes candidatos

# Genoma Humano

## Genes candidatos

- Identificación de poblaciones en riesgo
- Susceptibilidad genética

Las técnicas diagnósticas permiten aclarar mecanismos etiopatogénicos e implementar estrategias de prevención.

---

**EN EL PASADO COMPLETAR ESTA SECUENCIA  
LLEVABA DECADAS, HOY,  
LOS TIEMPOS SE HAN ACORTADO**

# Genoma humano

## Genes candidatos

### Ejemplos:

Metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR)  ACTN

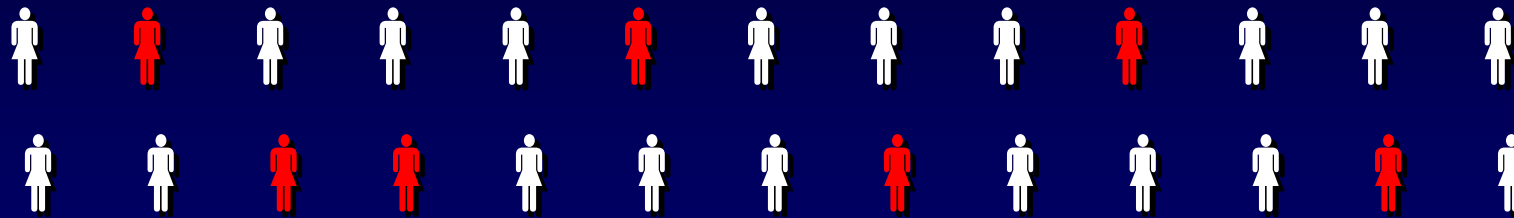
Factor alfa de crecimiento (TGF  $\alpha$ )  Labio leporino

Sonic hedgehog (SHH)  Holoprosencefalia

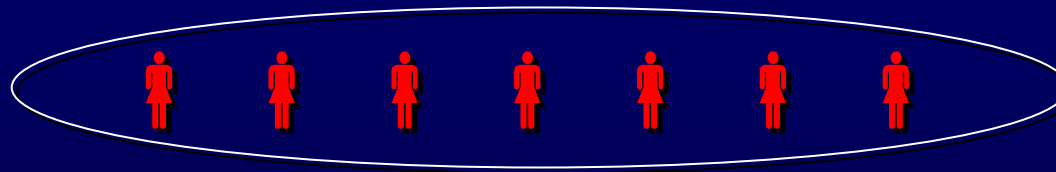
.....  Prematurez ??

# “Screening” o Tamizaje preconcepcional

PREGUNTA O PRUEBA



Grupo de Riesgo



ESTUDIO DIAGNÓSTICO

AFFECTADOS 

# STEM CELL RESEARCH



**George W. Bush**



# Potencialidades de las Stem cell

Stem cell embrionaria → Totipotente

Stem cell embrionaria → Pluripotente  
(Maciso interno del blastocisto)

Stem cell adulto → Multipotente

# The Promise of Stem Cell Research

Drug Development  
and Toxicity Tests

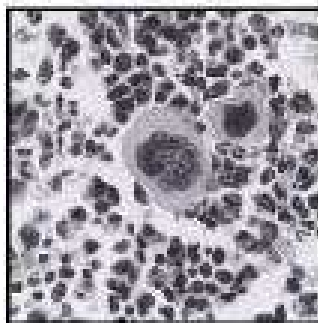


Experiments to  
Study Development  
and Gene Control

Cultured Pluripotent  
Stem Cells



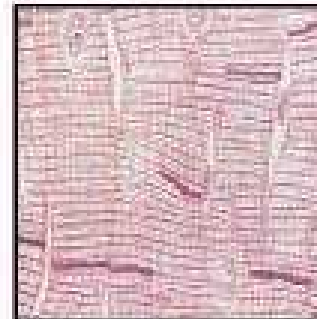
Tissues/Cells for Therapy



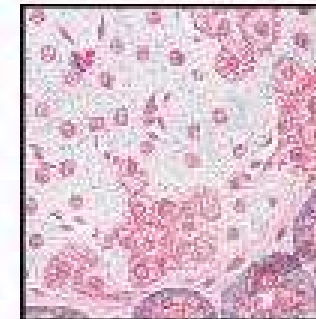
Bone Marrow



Nerve Cells

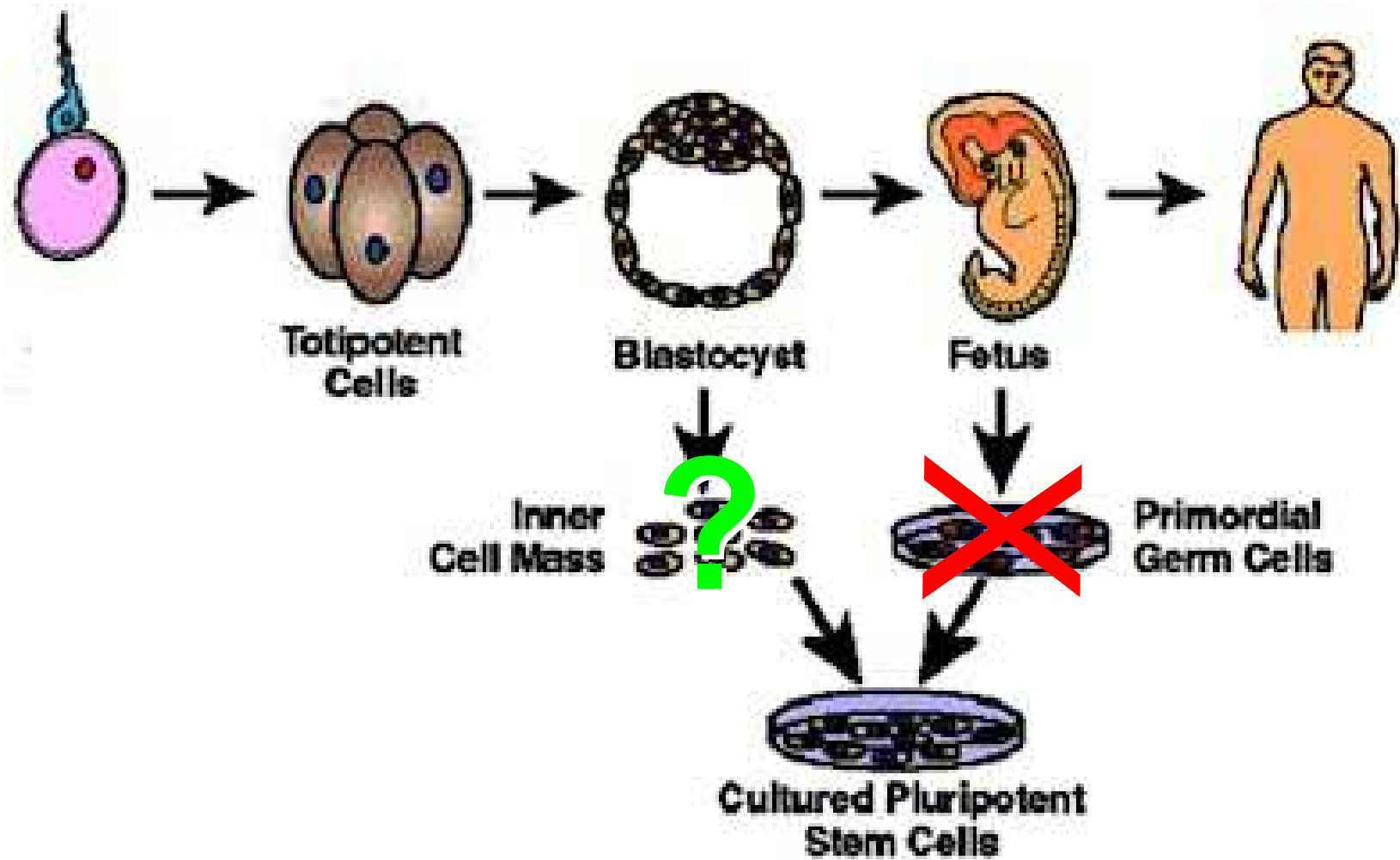


Heart Muscle  
Cells



Pancreatic  
Islet Cells





## Routine Storage of Umbilical Cord Blood for Potential Future Transplantation

“...Until there is a fuller understanding of all these issues, we must proceed with caution.

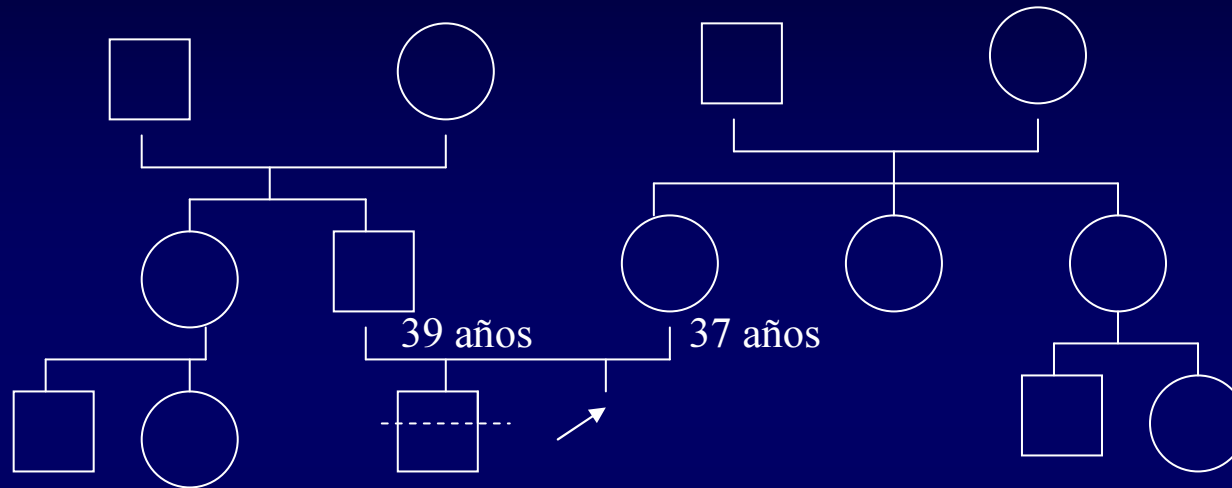
Parent should not be sold this service without a realistic assesment of their likely return on their investment.

Parents and grandparents should not be made to fell guilty if they are not eager or able to invest ...”

*Commitee Opinon 1997 –ACOG*

*Compendium ACOG 2005*

# CASO CLÍNICO



□--- Dx de Leucemia Linfoblástica Aguda a los 2 1/2 años (en remisión)

Actualmente 4 años

- Incidencia de LLA 1-4 años → 2-6 casos/100.000
- Riesgo de un hermano no gemelo de desarrollar LLA →  
ES DEL DOBLE 4-12 casos/100.000
- Opción de tratamiento: trasplante de células madres

Tipo de trasplante	Éxito
Alogénico	60%
Autólogo	20-40%

## Asesoramiento para el caso presentado

Almacenar células de cordón puede ser una estrategia con posibles beneficios futuros en caso de recaída o aparición de la misma enfermedad en nueva descendencia si existe:

- accesibilidad por parte de la familia
- normas de extracción y almacenamiento adecuadas

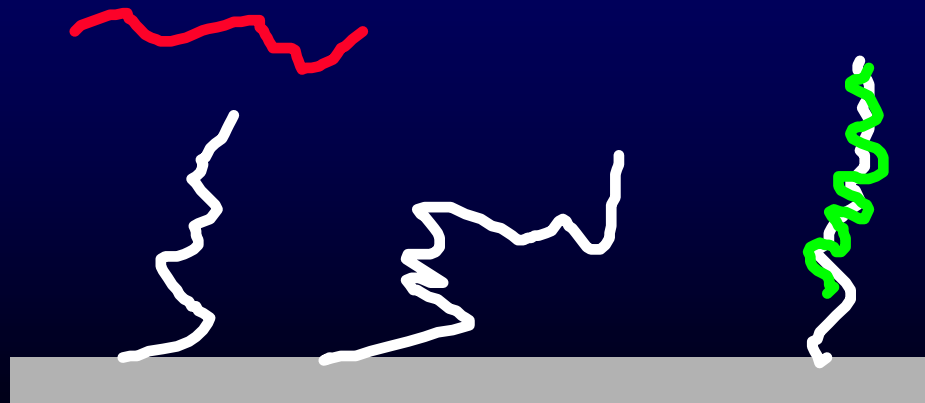
---

Es importante resistir a los embates de la sociedad que nos exige inmediatez e infalibilidad ante la **información** que obtienen las familias en sus hogares a través de las redes de comunicación.

---

# Tecnología de Microarrays de ADN

- Soporte sólido (vidrio, plástico, metal, silicona)
- Array de ADN miniaturizado (material genético)
- Trabajan con el principio de hibridación ADN/ADN
- Sondas de hibridación marcadas con fluorescencia

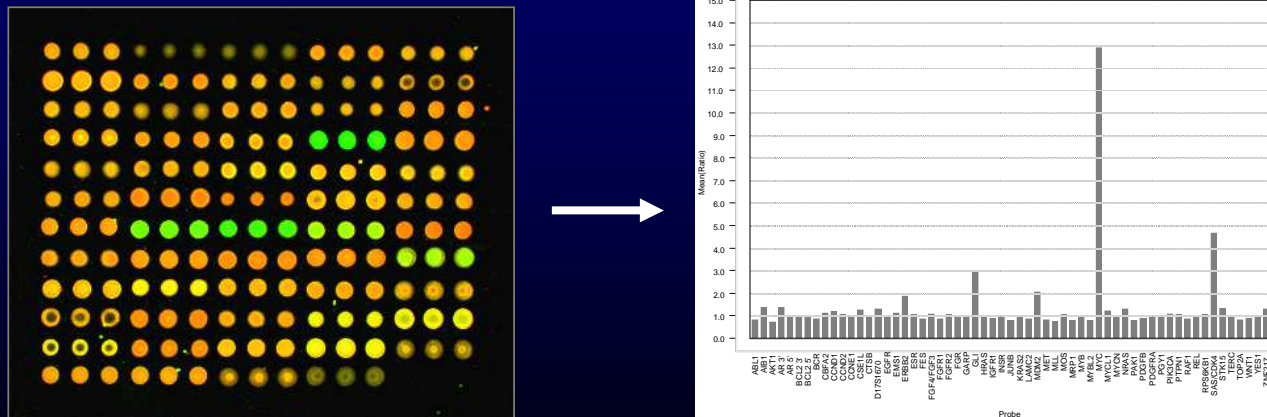


# Microarrays: ¿una CGH mejorada?

CGH



Microarray CGH



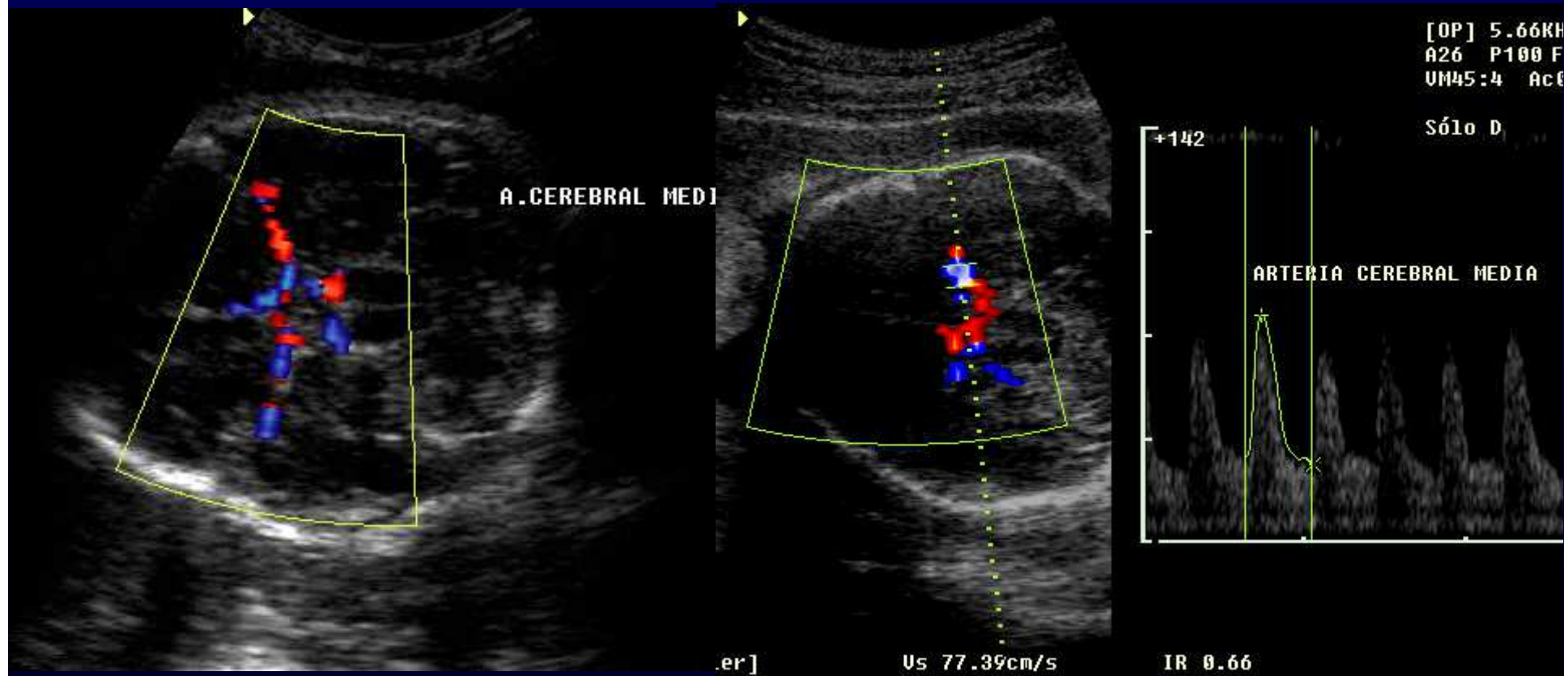
CGH: Comparative Genome Hybridization



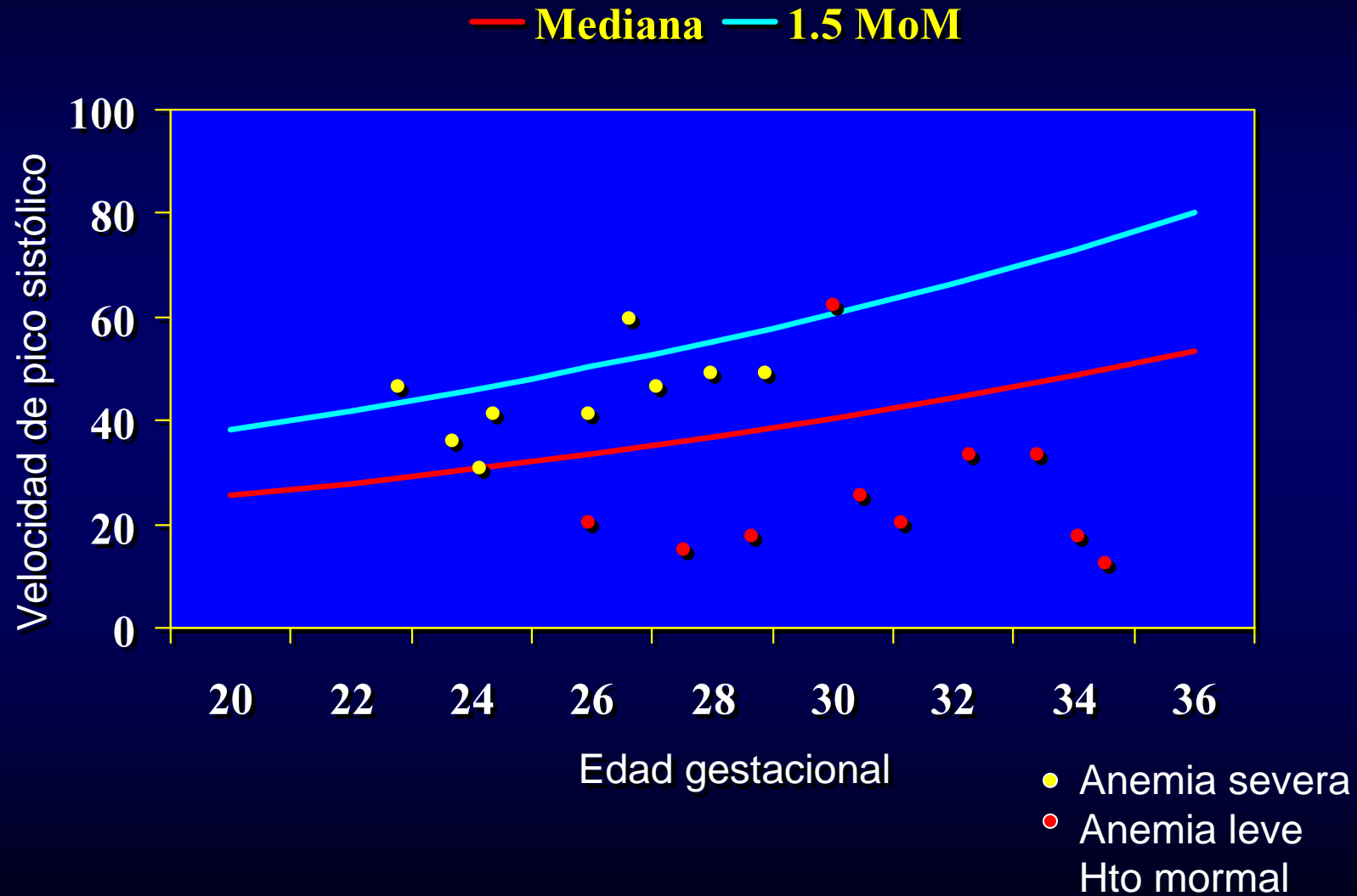
**Sem 31,1: Cordocentesis: Hto 29.5 Hb: 8.5**  
**Transfusión Intravascular**  
**Amniorreducción: 1600 ml de LA meconial**  
**PG/ PB19/CMV**



•Sem 30.6: Doppler de ACM: 86 cm / seg > 1,55 MoM. ILA: 220 mm



# Anemia: velocidad de pico sistólico



# CARDIOPATÍAS CONGÉNITAS

## Canal Aurículo-Ventricular

### FENOTIPO



### GENOTIPO

#### Sindromes de microdelección:

- Williams 7q1.23
- Rubinstein-Taybi 16p13.3
- Di George 22q11
- Gen: NKX2.5

# Hernias diafragmáticas en el ECLAMC. Periodo 1995-2003. 1,552,037 nacimientos

	Casos	Nacimientos	Tasa x 10.000	Diagnóstico Prenatal %
<b>Mat. de Tucumán</b>	51	107.284	3.0	11 (21.6)
<b>ECLAMC</b>	581	1.552.037	3.7	267 (45.9)

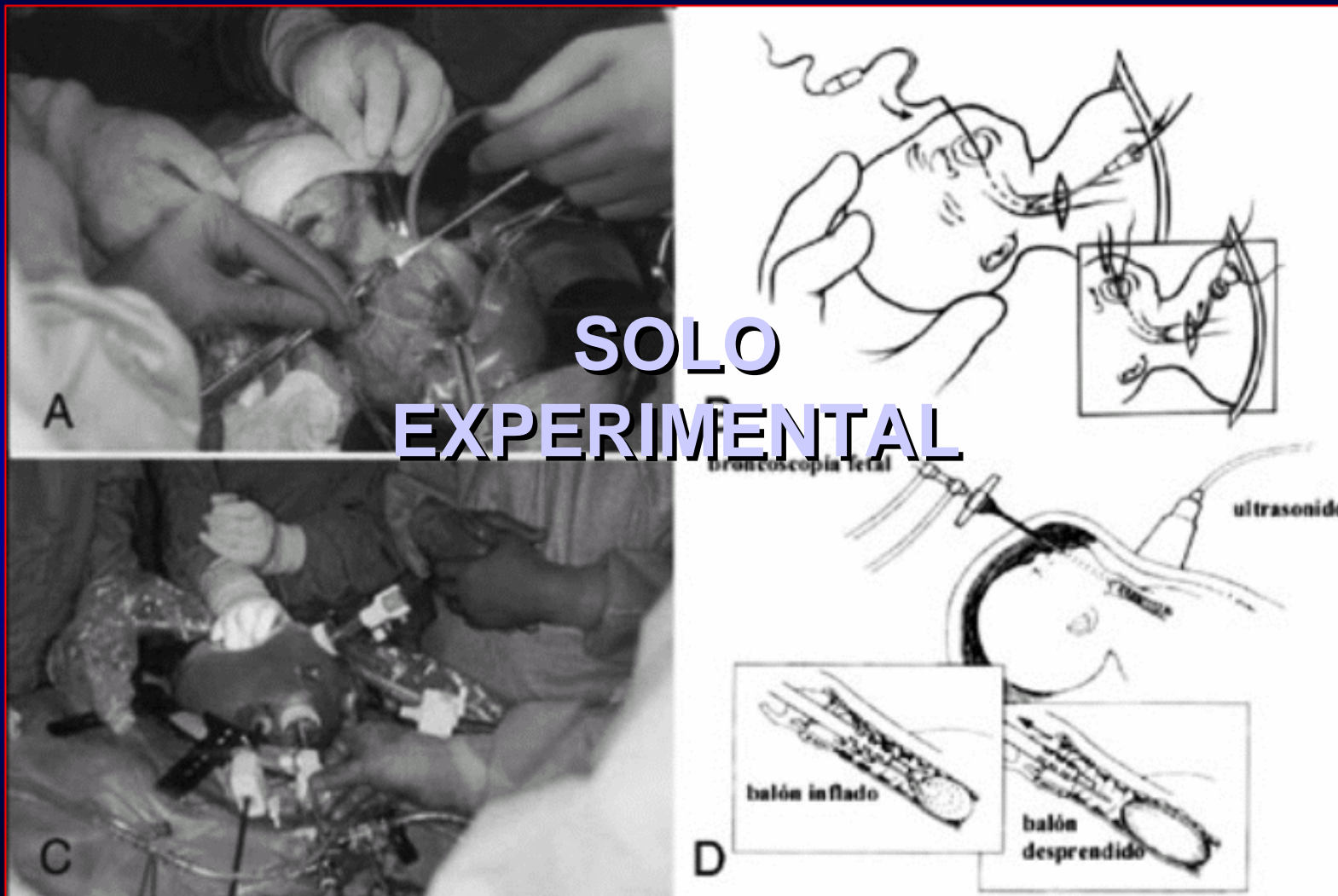
# Cernia Diafragmática: Genotipo Síndromes Monogénicos

Syndrome	Frequency of CDH in This Disorder <sup>1</sup>	Mode of Inheritance	Gene Symbol	Test Availability
Cornelia de Lange syndrome	?up to 5% <sup>2</sup>	AD	<i>NIPBL</i> <sup>3</sup> <i>SMC3</i>	Clinical <b>Testing</b>
	Unknown	XL	<i>SMC1A</i>	Clinical <b>Testing</b>
Craniofrontonasal syndrome	Rare	XL(But males less severely affected than females)	<i>EFNB1</i>	Clinical <b>Testing</b>
Denys-Drash syndrome	Rare	AD	<i>WT1</i>	Clinical <b>Testing</b>
Donnai-Barrow syndrome	~70%	AR	<i>LRP2</i>	Research only
Fryns syndrome	>80% (but ascertainment may be biased)	AR <sup>4</sup>	Unknown (possible etiologic heterogeneity)	None available
Matthew-Wood syndrome	~50%	AR	<i>STRA6</i>	Research only
Spondylocostal dysostosis (SCDO)	Rare	AR <sup>5</sup>	<i>DLL3</i>	Clinical <b>Testing</b>
	Rare		<i>MESP2</i> <sup>6</sup>	Clinical <b>Testing</b>
	Rare		<i>LFNG</i> <sup>6</sup>	Clinical <b>Testing</b>
	Rare		<i>HES7</i>	Research only
Simpson-Golabi-Behmel syndrome	Rare	XL	<i>GPC3</i>	Clinical <b>Testing</b>

Prenatal diagnosis and long survival of Fryns' syndrome. EC Gadow , S Lippold, E Serafin, LJ Salgado, C Garcia, L Prudent . *Prenat Diagn.* 1994 Aug.



# Aquí y ahora en hernia diafragmática. ¿Tratamiento intrauterino?



**1999-2003**

**27 CDH diagnosticadas  
Antes del nacimiento**

**Sin diagnóstico prenatal**

**3 nacidos vivos: 3 nacidos muertos**

**9 interrupciones  
del embarazo**

**18 nacidos vivos**

**6 nacidos fuera  
del protocolo**

**12 nacidos luego del  
Protocolo de atención  
planificada**

**1 con vida  
5 sin vida**

**11 con vida  
91,6%**

**Prenatal Diagnosis. 2004**



# EPIGENÉTICA

# EPIGENÉTICA

- **Epigenética**: cambios heredables en la expresión génica que no van acompañados de cambios en la secuencia de DNA
- Modificación por el entorno: edad, dieta, tabaco...

# Mecanismos Epigenéticos

- Metilación del ADN
- **Modificación de Histonas**
  - Metilación
  - Acetilación
  - Fosforilación
  - Ubiquitinación
- Imprinting
- Epigenética y Anomalías Congénitas

# ¿Qué es “imprinting”?

## Expresión bi-alélica

Expresión de ambos genes heredados,  
de origen materno y paterno

## Imprinting genómico

Expresión desigual de los alelos de un  
gen materno o paterno

# Anomalías Congénitas : Imprinting

## RESUMIENDO...

- *Imprinting* es un fenómeno epigenético normal
  - *Relacionado a la metilación del ADN y modificación de la cromatina*
  - *No hay alteración de la secuencia de ADN*

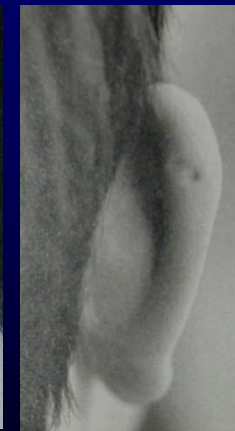
# Anomalías Congénitas : Imprinting

Síndrome de Beckwith-Wiedemann  
(BWS) 11p15.5 (OMIM 130650)

Gran variabilidad fenotípica:

Individual

Intrafamiliar



Sotelo-Avila, et al *J of pediatrics*, 96: 47-50, 1980.  
Eliot et al, *Clin Genet*, 46, 168-174, 1994.  
Shuman et al. *Am J Hum Genet*, 71:A1800-477, 2002.

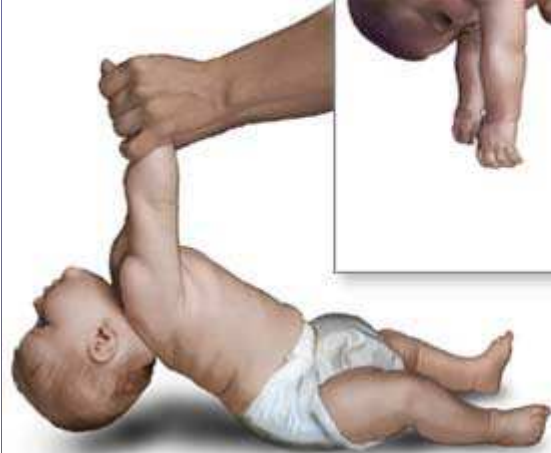
“Polysarcia” (1887)  
Síndrome de Prader-Willi(1956)  
y  
Happy Puppet(1965).Síndrome de  
Angelman

# PW- Características Clínicas- Nacimiento

- ✓ Hipotonía sin dificultad respiratoria
- ✓ Problemas en la succión.
- ✓ Quistes encía
- ✓ Saliva viscosa
- ✓ Hipoplasia genital



Hypotonia  
(decreased  
muscle tone)



ADAM.

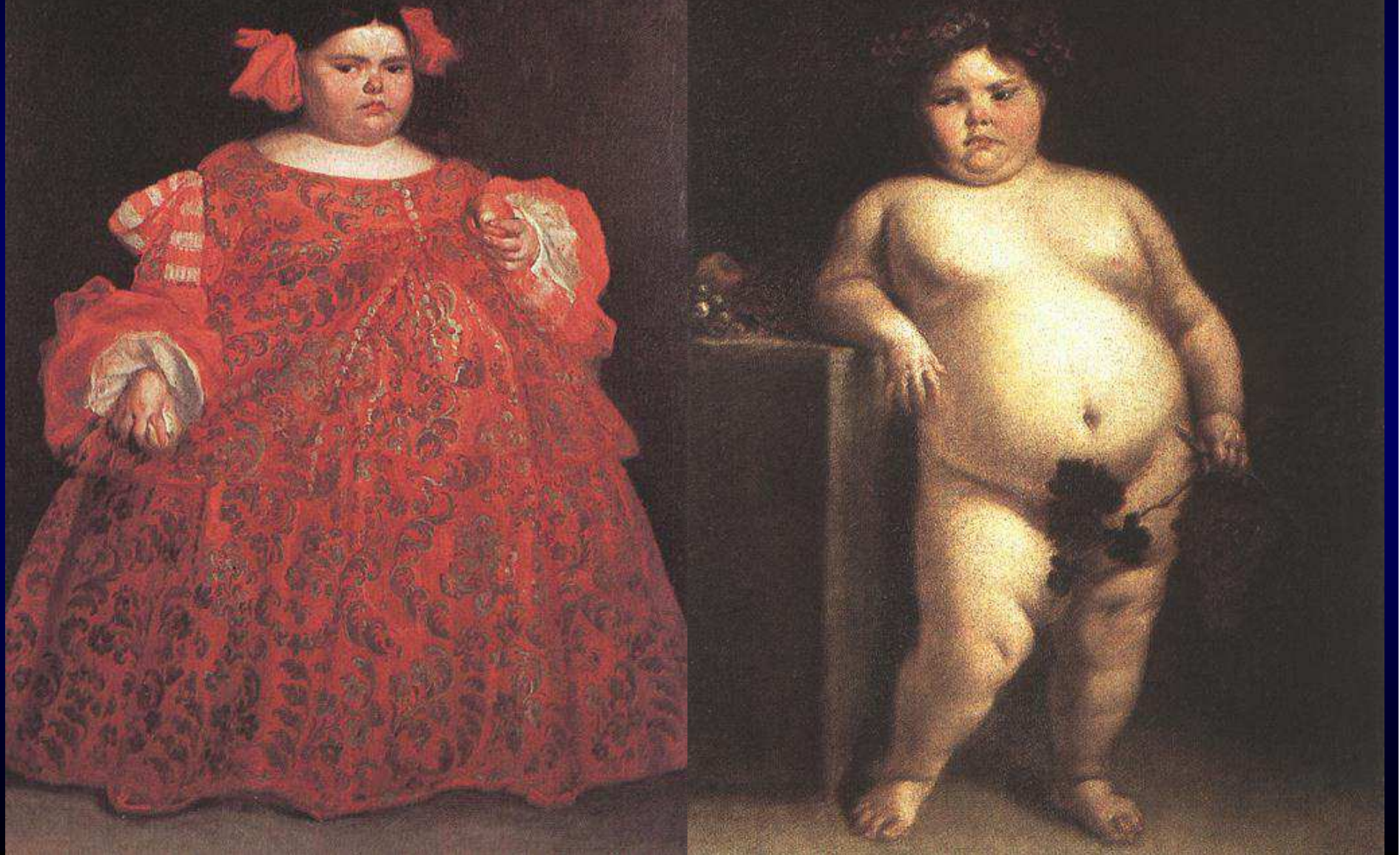


- ✓ Presentación  
pelviana
- ✓ Cesárea
- ✓ Polihidramnio



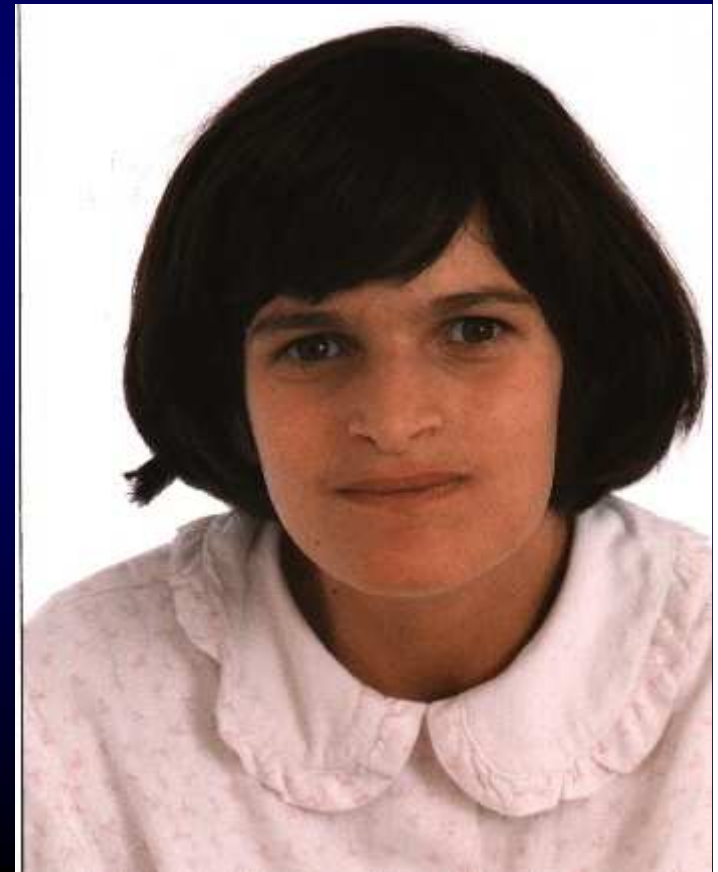
# Eugenia Martinez Valleji, llamada La Monstrua

Juan Carreño de Miranda 1614-1685





# Syndrom de Angelman

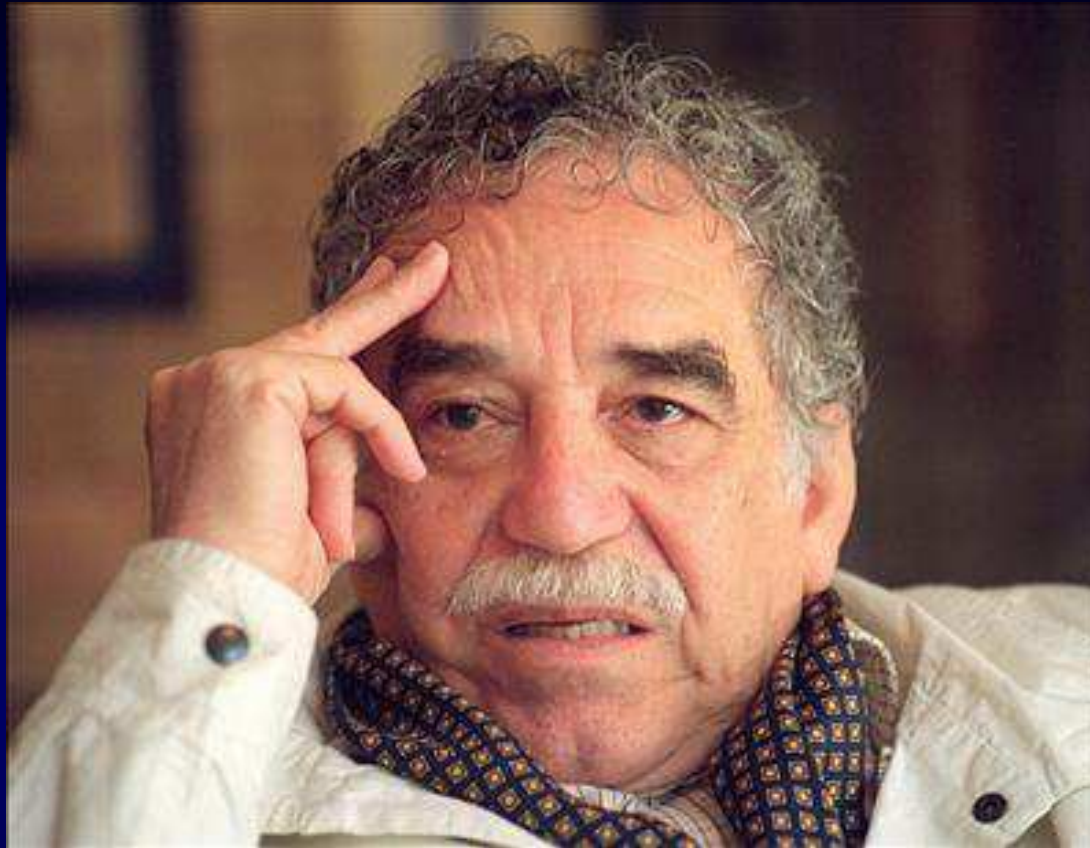


# Síndrome de Angelman

Más del **80%** de los pacientes presentan

- Retraso o crecimiento lento del perímetro cefálico, llevando a la microcefalia a los 2 años
- Convulsiones, generalmente comenzando antes de los 3 años
- EEG anormal, con patrón característico de onda de alta amplitud y picos lentos

- Usualmente causados por una deleción **15q11-q13**
- Deleción del cromosoma materno = AS
- Deleción del cromosoma paterno = PWS



**Gabriel García Márquez**  
**Nobel Prize for Literature in 1982**

# *“One Hundred Years of Solitude”*

## *Myths or fantasy?*

*Back in the XVI century, José Arcadio Buendía and Úrsula were first cousins...*

*Tradition said that babies born to related parents would be malformed, with a pig tail...*

*They did not have sexual relationship. One day he finally said ... “If you happen to deliver iguanas, we will then rear iguanas...”*



# 4 Sirenomelia cases in CALI

## Fenotipos



# ¿Hasta dónde es posible? Dilemas Futuros

Enfermedades prevalentes en el adulto  
podrán ser identificadas prenatalmente.

## ¿Cuál es el límite?



**“Es propio de nuestra naturaleza mirar  
incesantemente el futuro.”**

**“El sistema está dispuesto de manera tal  
que nuestras previsiones serán inciertas”**

---

**Francois Jacob. Premio Nobel Genética 1965  
“La souris, la mouche et l’homme”**

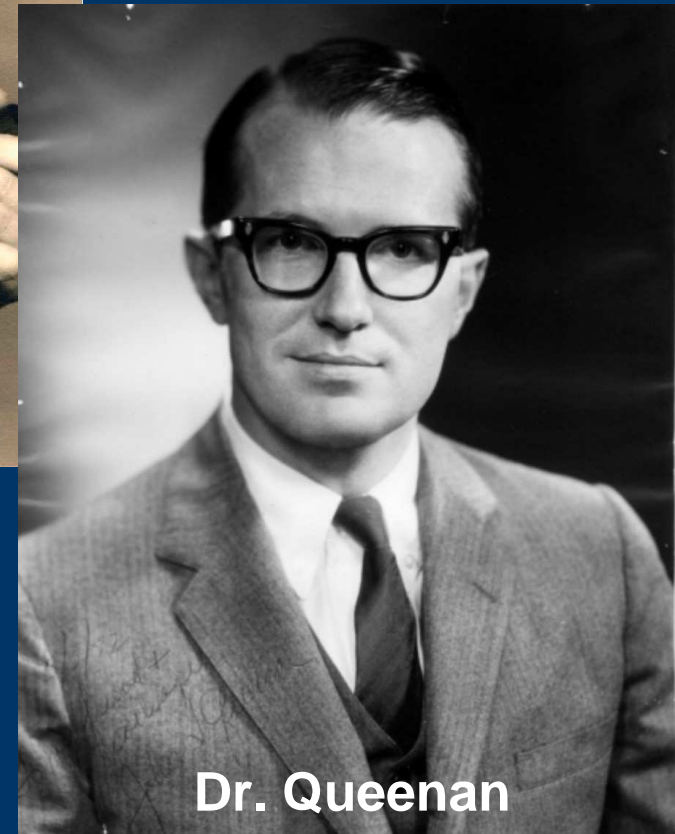
## Reconocimientos



Dr. Fuchs



Dr. Simpson



Dr. Queenan

**Tetsuji Matayoshi**

**Mariana Ogawa**

**Mónica Sakurai**

**Andrea Figueroa**

**Celina Oyuela**

**María Marta Soto**

**Cristina Matt**

**M.Teresa Barcovich**

**Valeria Melia**

**Norma Ginzo**

**Paula Echavarría**

**Ana Turrín**

**ECLAMC**

**Diego Calvo**

**Horacio Aiello**

**Viviana Cosentino**

**Andrea Gadow**

**Laura Igarzábal**

**Santiago Lippold**

**Lucas Otaño**

**Jorge López Camelo**

**Hugo Krupitzki**

**Florencia Petracchi**

**Enrique Gadow**

---

**\*Grupo de genética médica**

[www.cemic.edu.ar](http://www.cemic.edu.ar)  
[genetica@cemic.edu.ar](mailto:genetica@cemic.edu.ar)

