

MÁSTER EN HEPATOLOGÍA



Asignatura: Oportunidades en Hepatología

“Genética clínica en Hepatología”

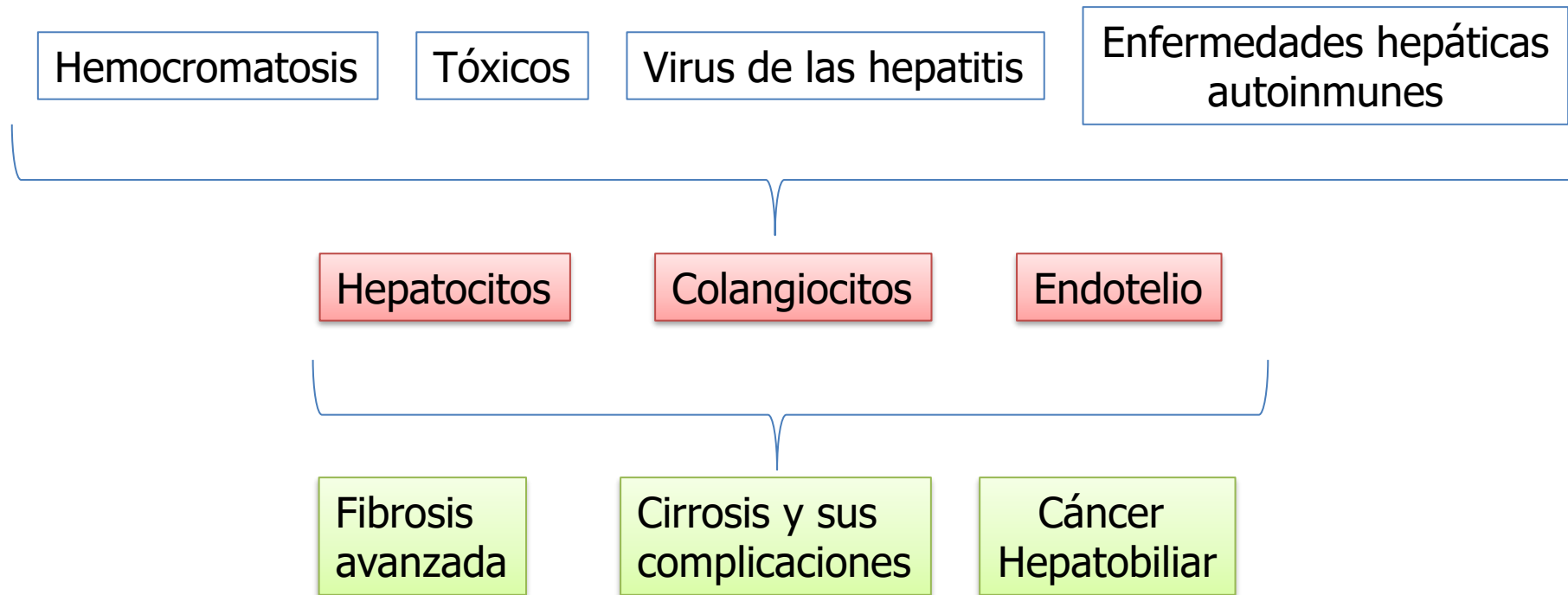
Rafael Bañares



ciberehd



Mecanismos de desarrollo de las enfermedades hepáticas: Una visión clásica



¿Qué papel juega la genética en las enfermedades hepáticas?

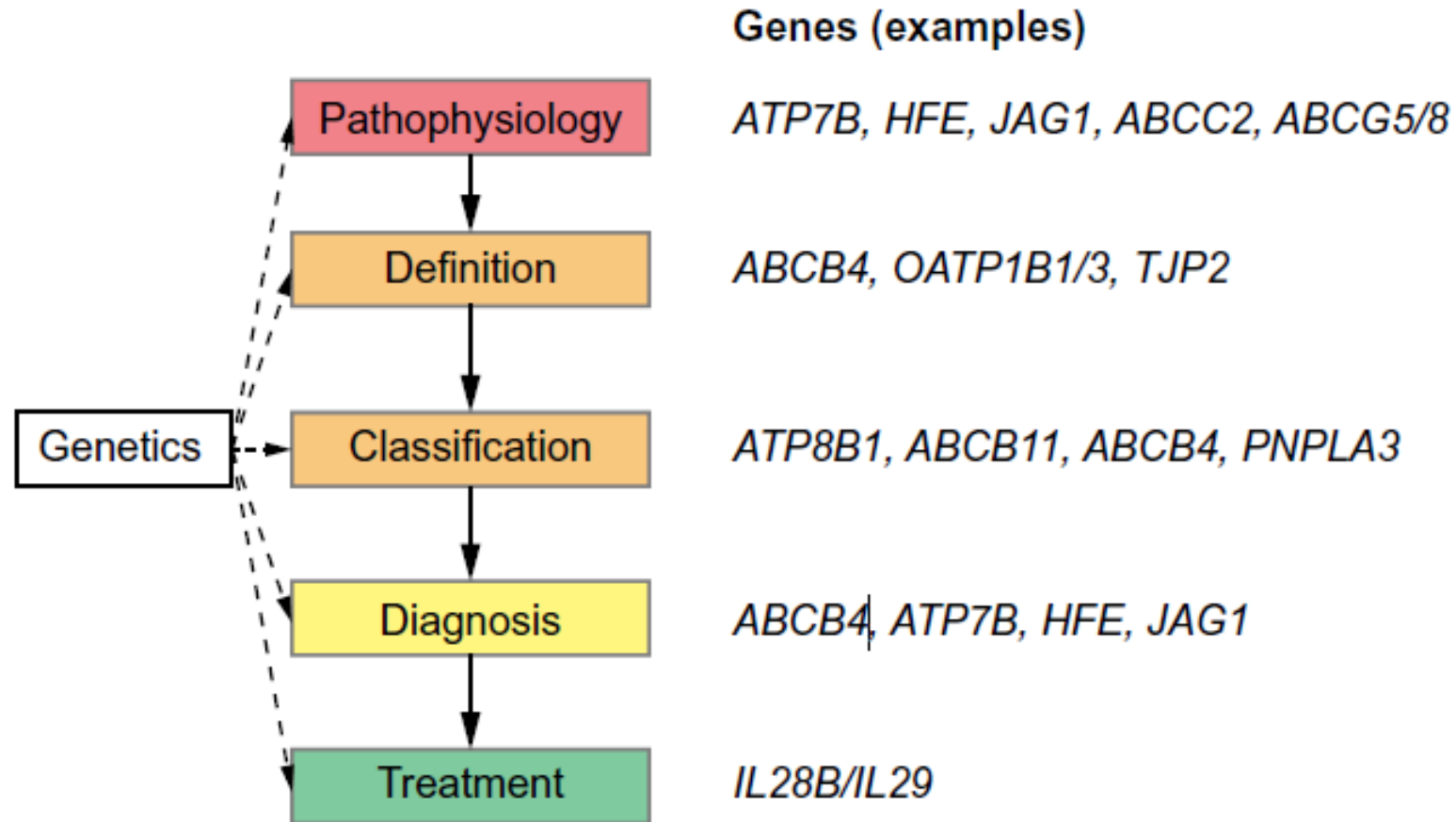
Causalidad

Estratificación del riesgo

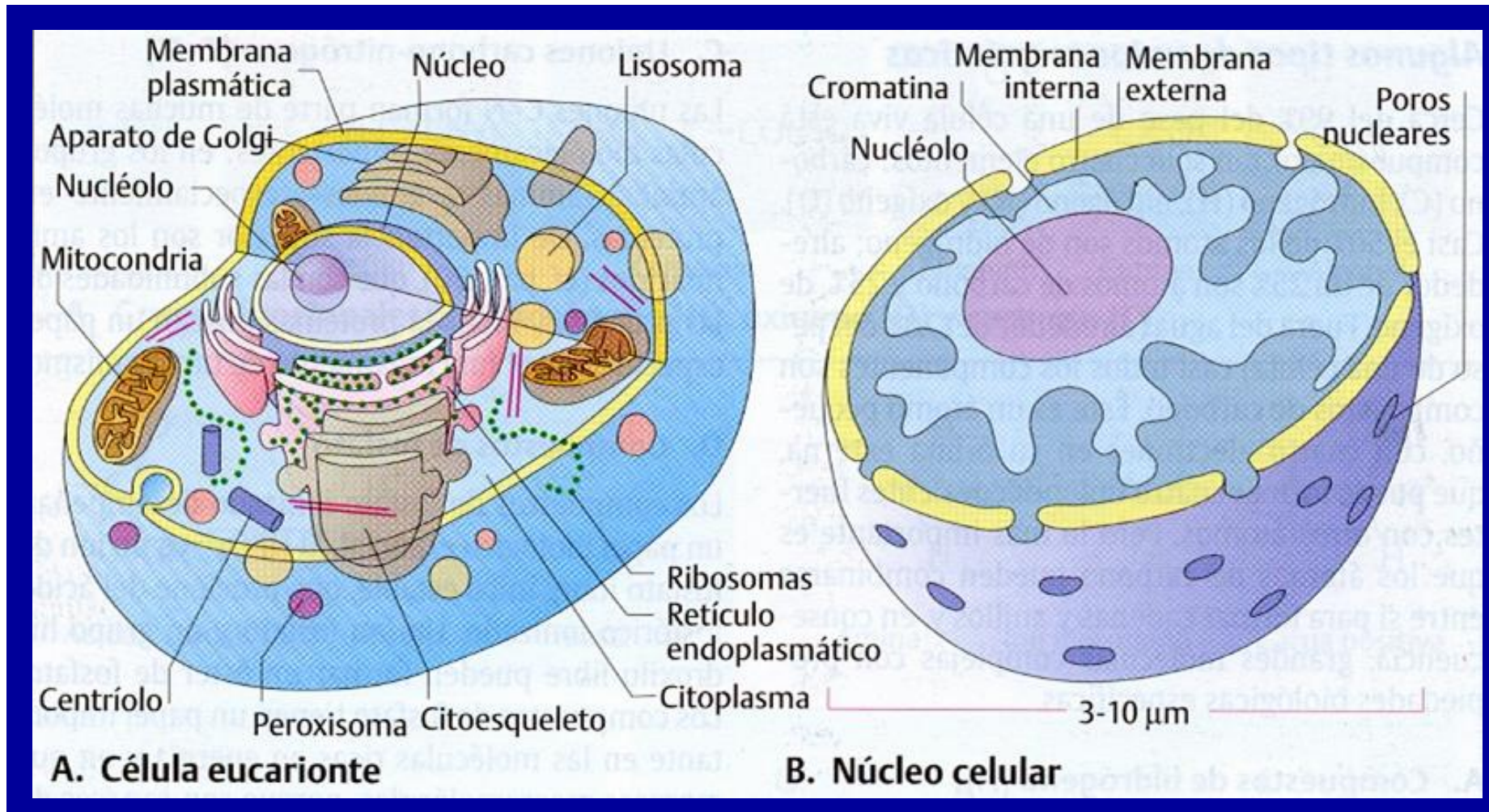
Respuesta al tratamiento

Mecanismos de enfermedad

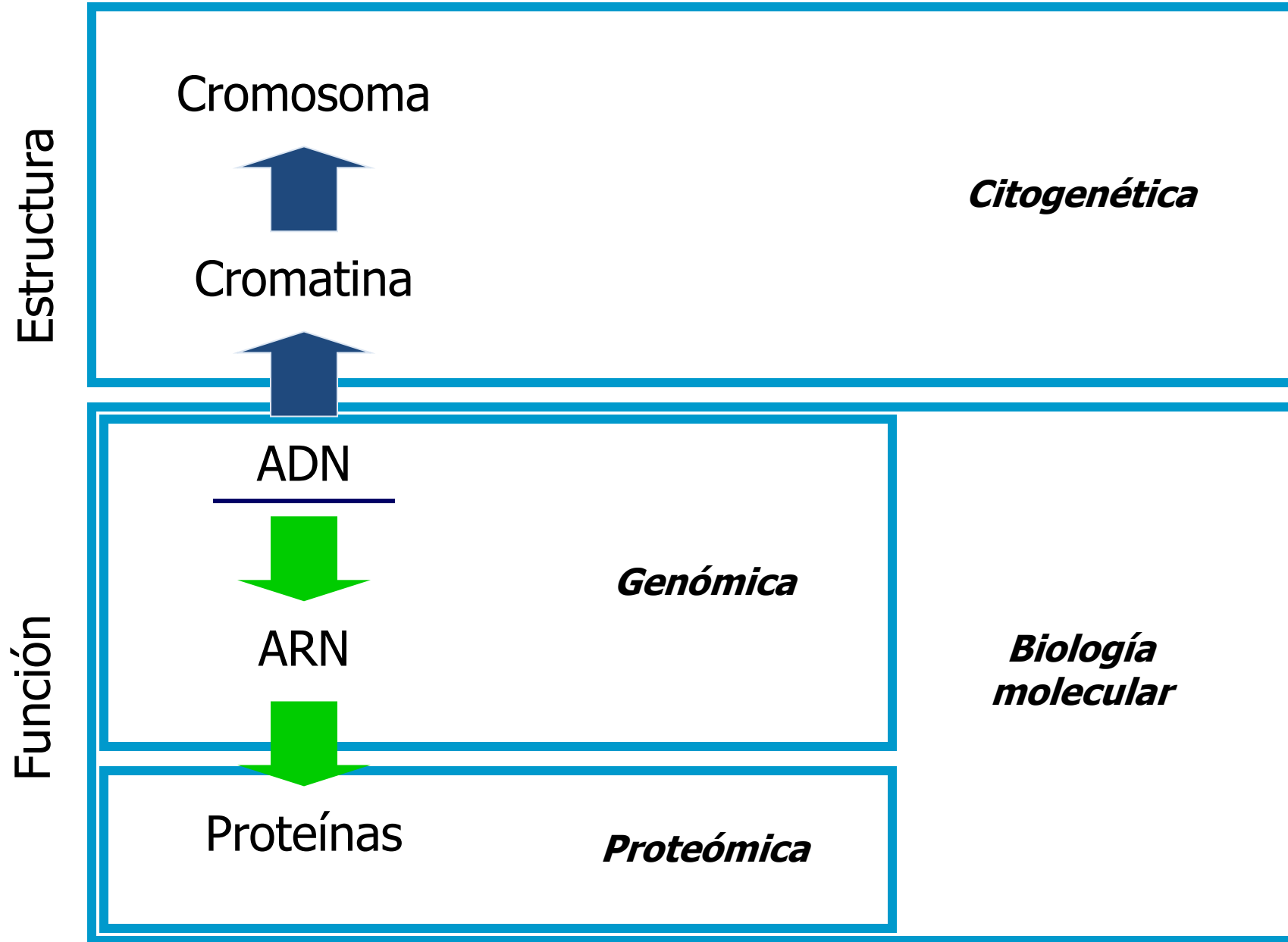
Panorama general de la utilidad de la genética en las enfermedades hepáticas



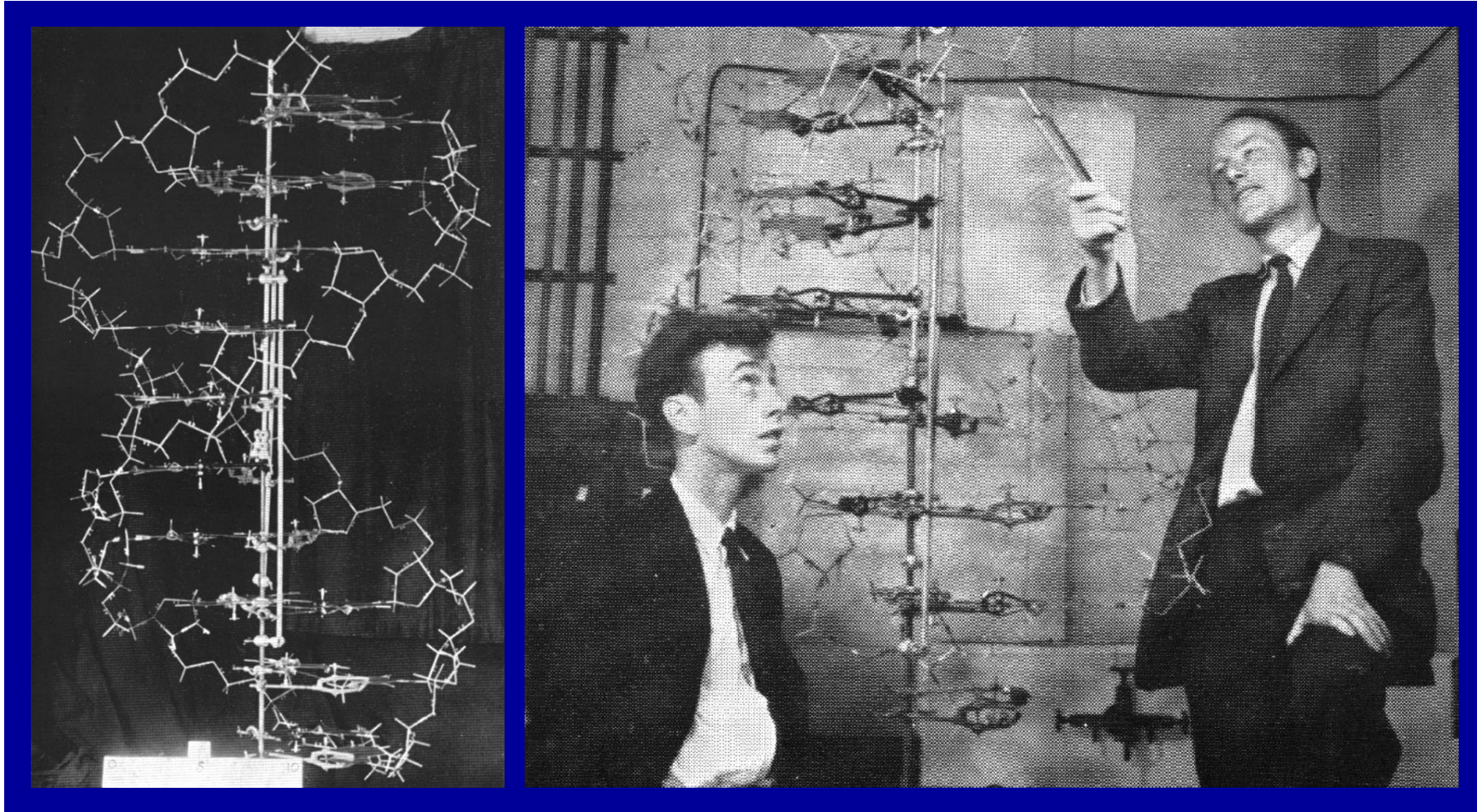
Estructura de la célula



Entonces, ¿de qué hablamos cuando hablamos de genética?



Estructura del ADN (Watson & Crick 1953)



Longitud ADN de un cuerpo humano

Distancia base-base = $3.4 \text{ \AA} = 3.4 \times 10^{-10} \text{ m}$

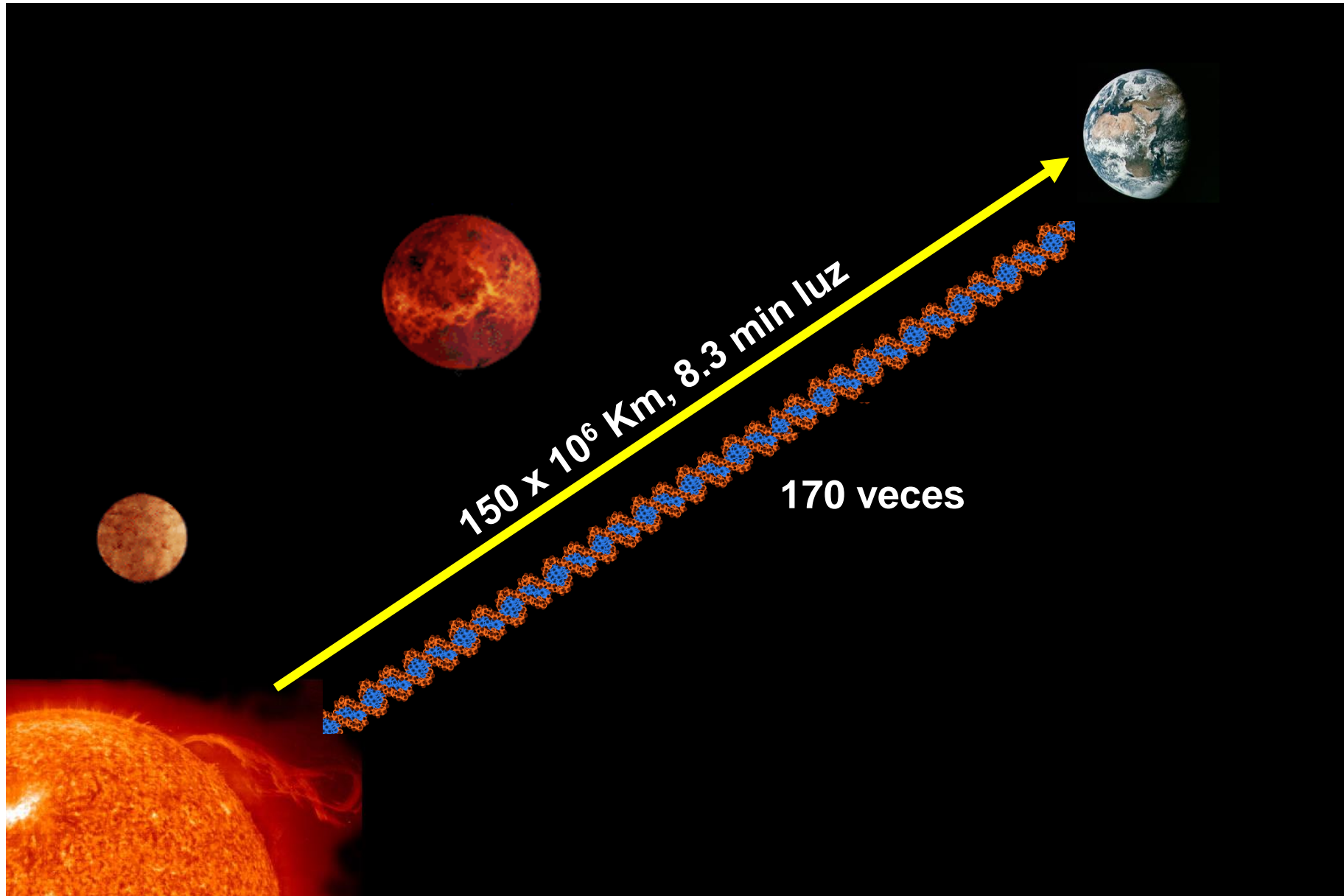
No. nucleótidos por célula = 3×10^9

Longitud ADN por célula = 1.02 m

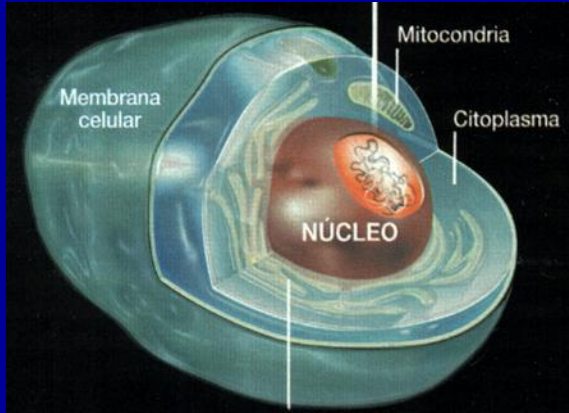
No. células nucleadas en un cuerpo humano = 2.5×10^{13}

Longitud ADN de un cuerpo humano = $2.55 \times 10^{13} \text{ m}$

Longitud del ADN total de un humano

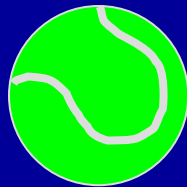


Condensación de la cromatina



Núcleo = 5 μm de diámetro

Contiene 1,02 m de ADN



6,5 cm

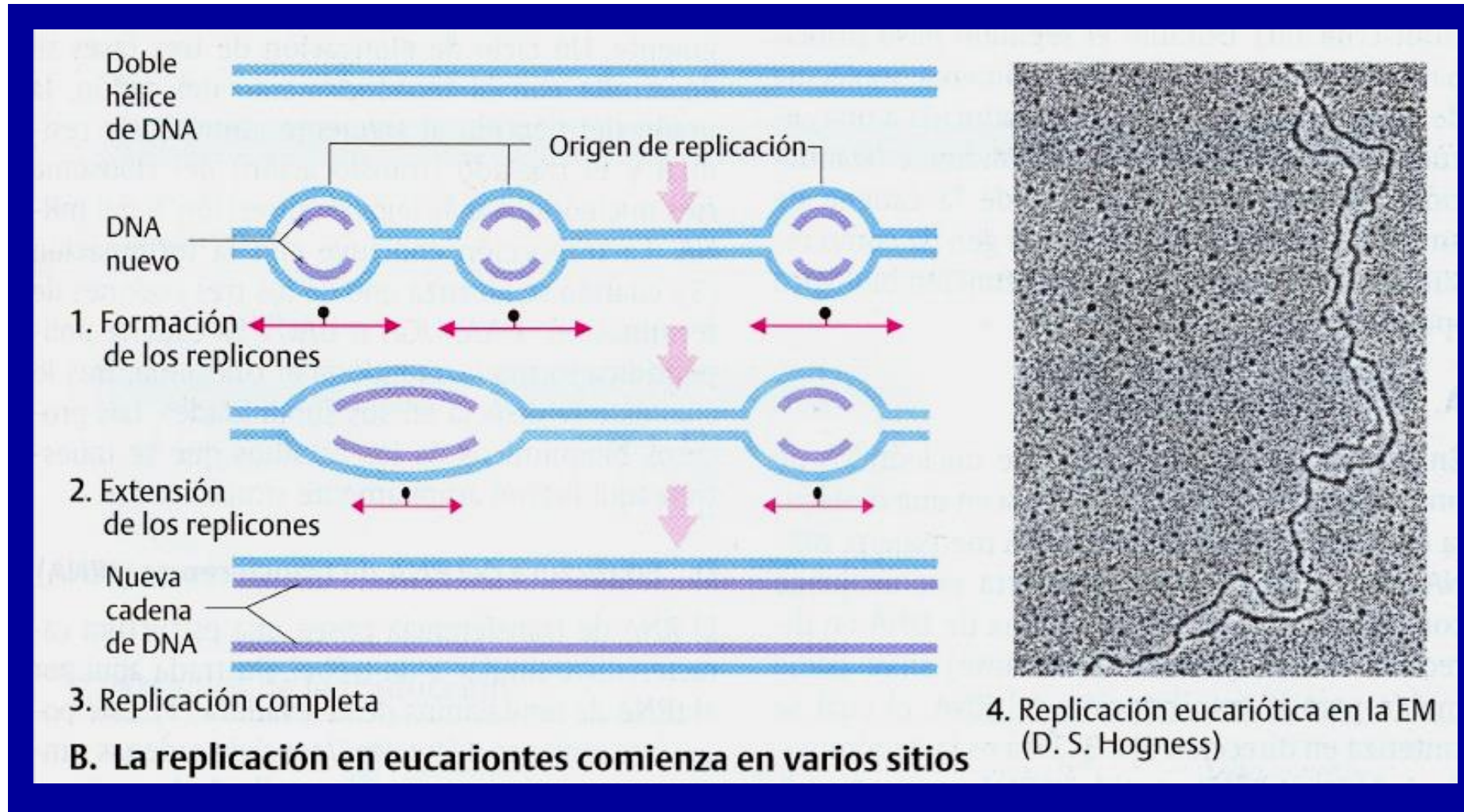


13.2 Km

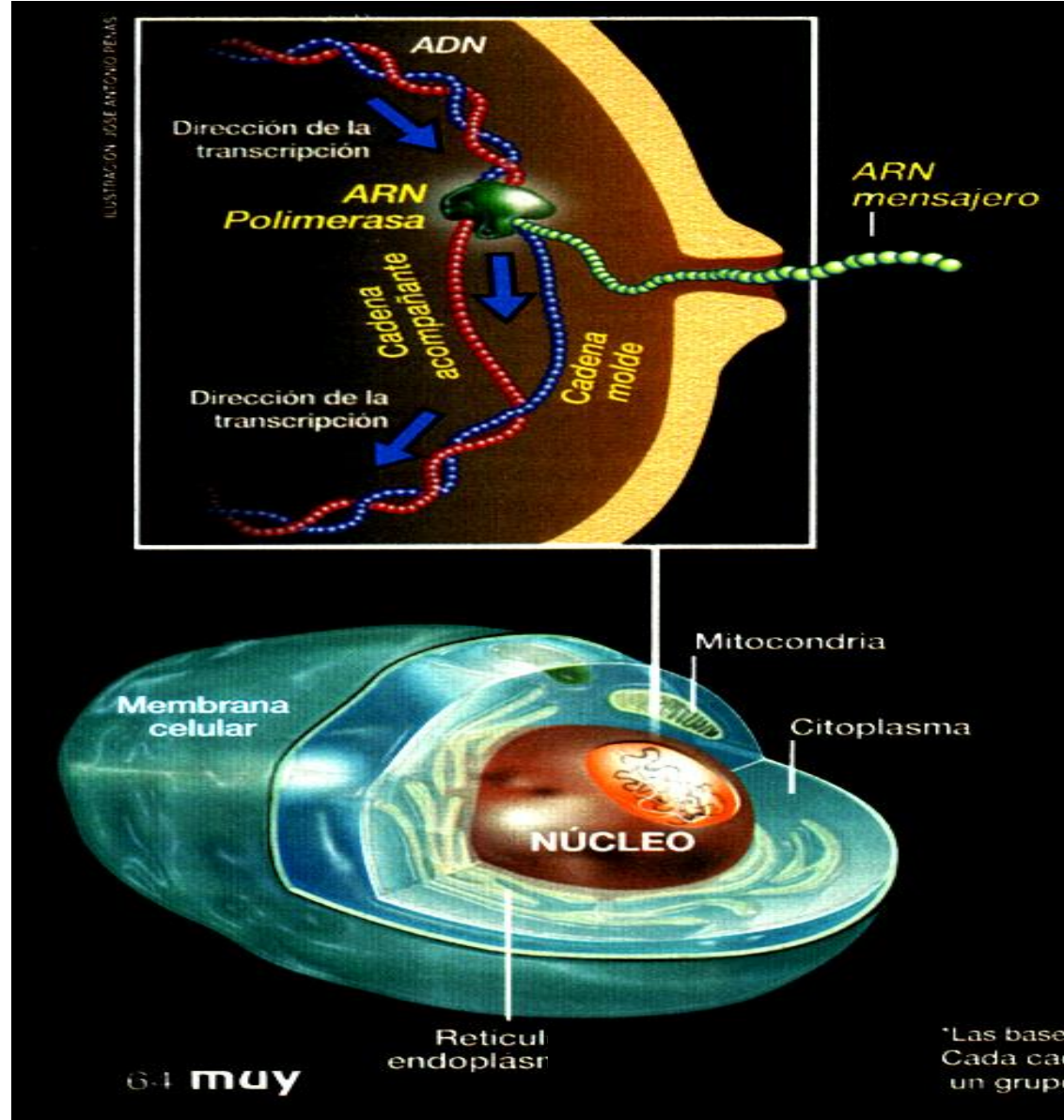
Los “deberes” del ADN

- Perpetuarse
- Expresarse

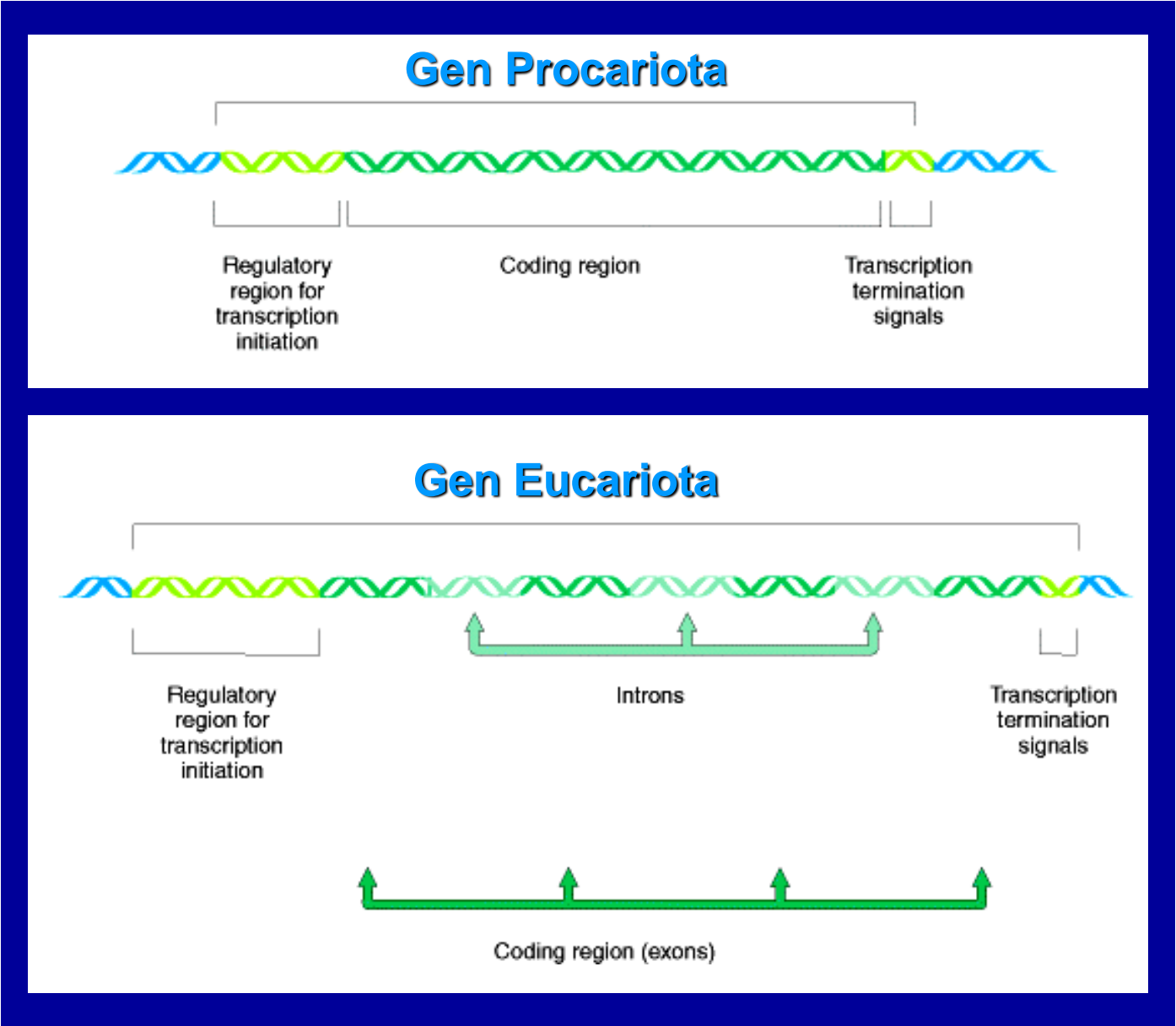
Replicación del ADN



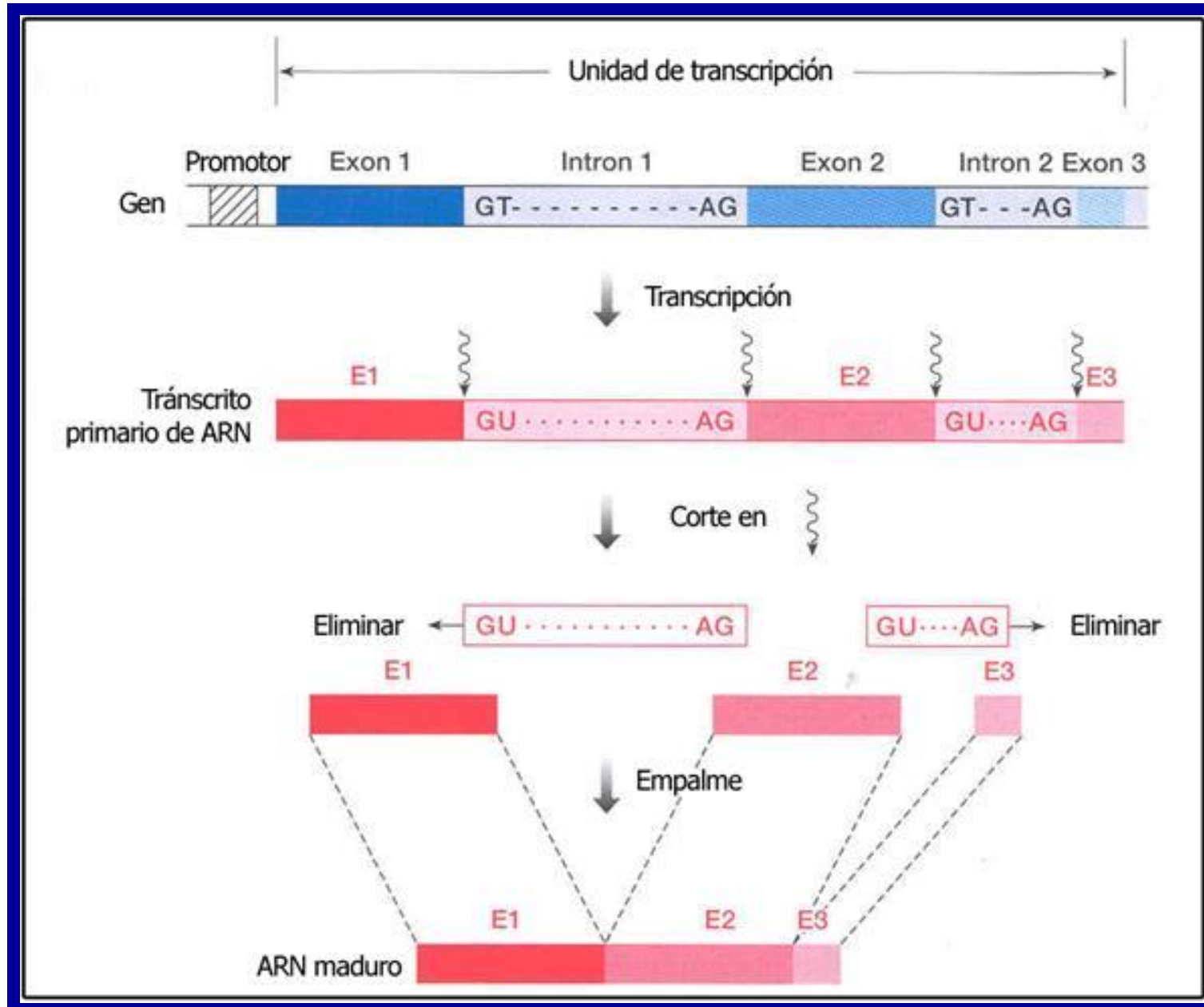
Transcripción del ADN (ARNm)



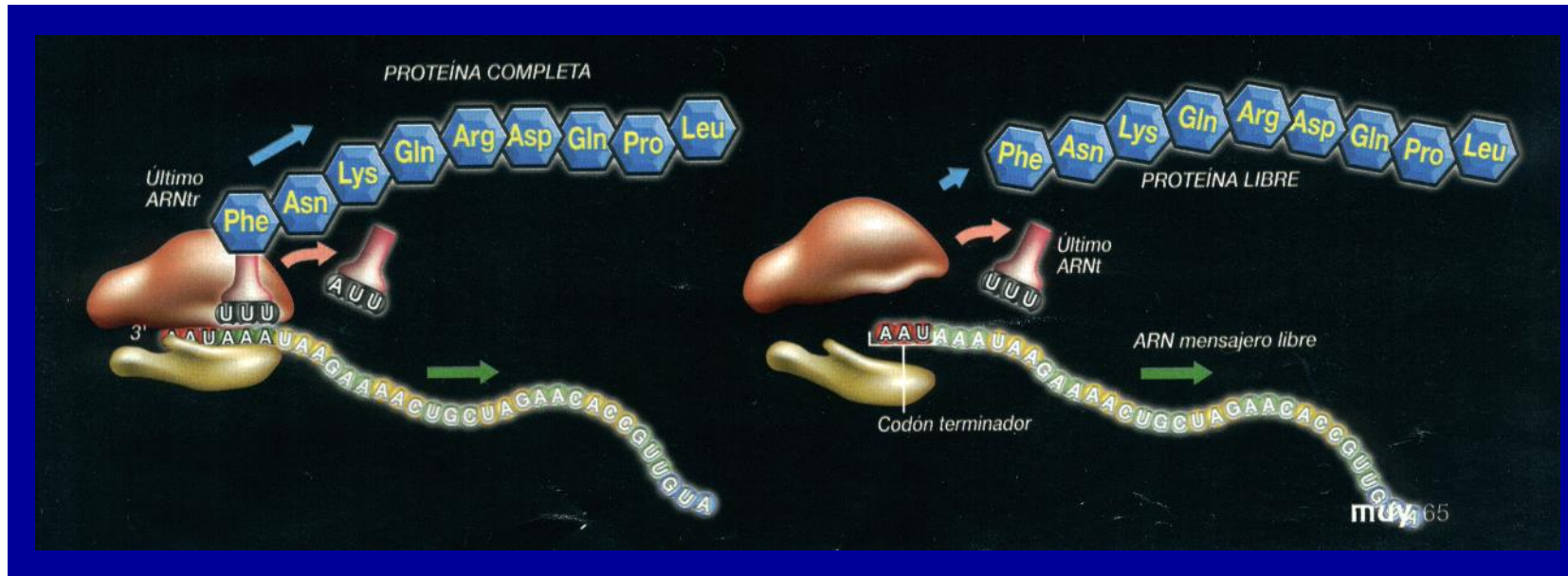
Estructura de un gen



Procesamiento o “splicing” del RNAm



Traducción



Base molecular de la mutación

La información genética reside en la ordenación de bases en el ADN que al ser transcrita al ARN mensajero determina la secuencia de aminoácidos en el polipéptido sintetizado.

Un cambio o “mutación” en el material hereditario puede tener una consecuencia en dicho proceso.



Mutaciones

- Tasa de mutación: 10^{-5} (disminuye hasta 10^{-7} - 10^{-9} gracias a los mecanismos de reparación)
- Espontáneas *vs* inducidas
 - Mutágenos
 - Radiaciones
 - Ionizantes (rayos X, gamma, alfa, beta, etc.)
 - no-ionizantes (UV)
 - Sustancias químicas (agentes alquilantes, etc.)
 - Otros (ultrasonidos, ondas electromagnéticas?, sistemas biológicos)

La variabilidad genética

La **mutación** y la **recombinación** son la base de la variabilidad genética.

La **mutación** es la fuente primaria de la variabilidad genética. Imprescindible para que tenga lugar la evolución.

La **recombinación** explota esa variabilidad para ofrecer un mayor espectro de variación genética sobre el que puedan actuar los mecanismos que subyacen al proceso evolutivo.

Origen de la vida: hace 3.800 m.a.



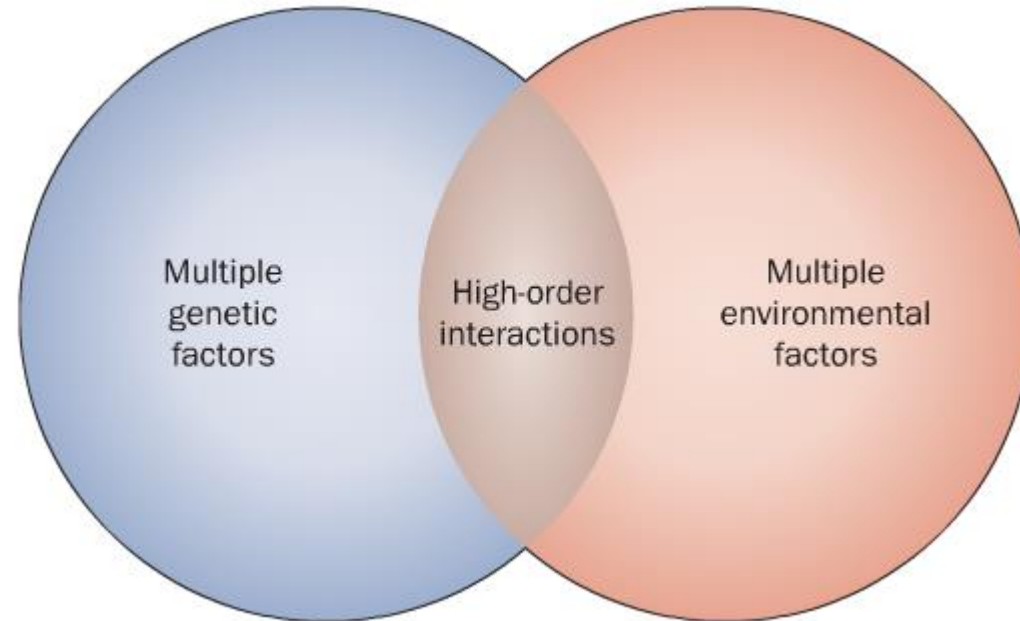
No todo es el genoma: la epigenética

- Cambios fenotípicos causados por mecanismos no relacionados con la secuencia primaria de ADN
 - Micro RNA
 - Pequeñas moléculas de RNA monocadena que regula la degradación o la traslación del mRNA
 - Modificación de histonas
 - Metilación de ADN
 - Ubiquitinación

Fenotipo = Genotipo + Ambiente.



Genética y factores ambientales en las enfermedades hepáticas

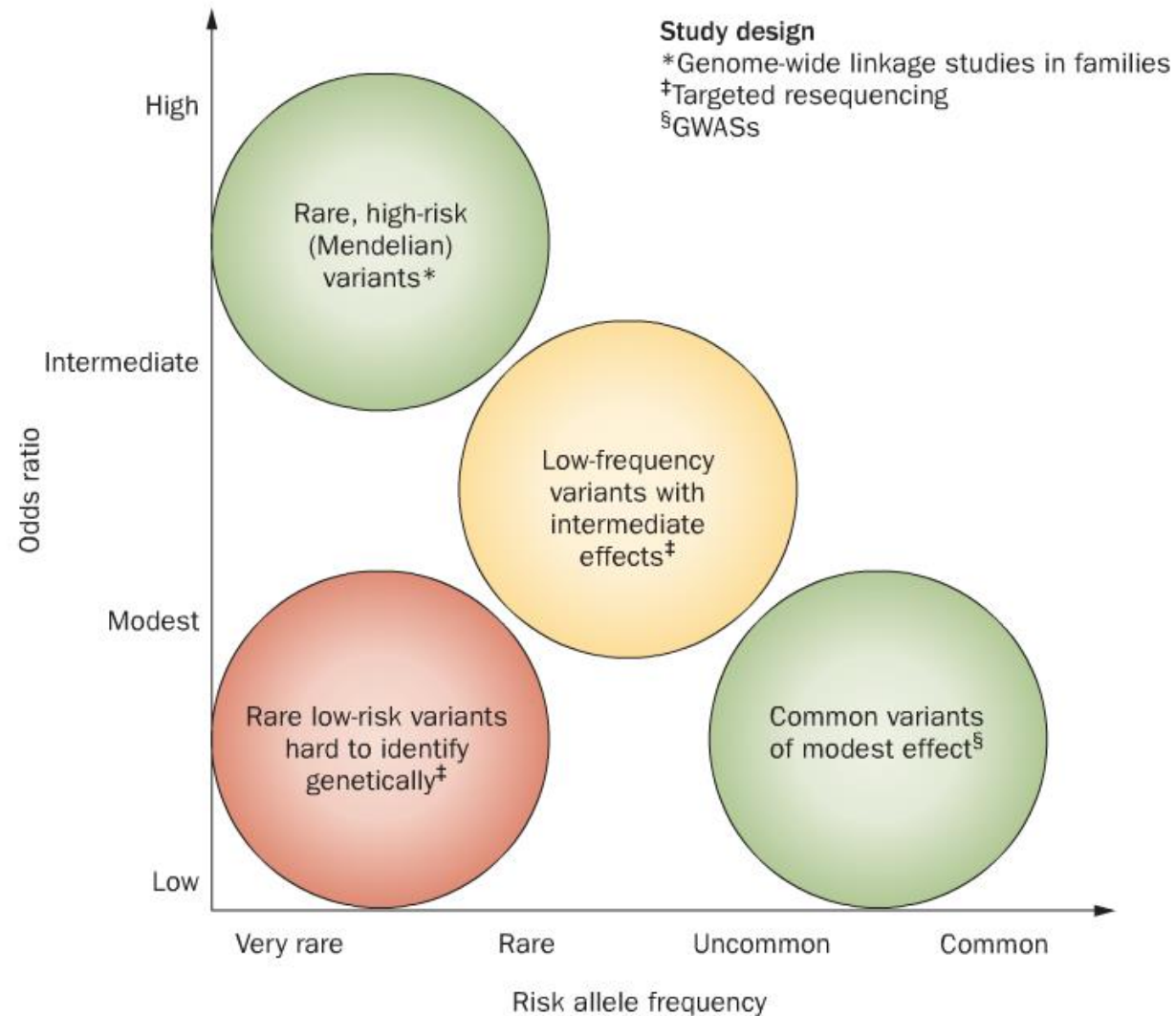


Factores genéticos múltiples
con efecto individual
poco potente

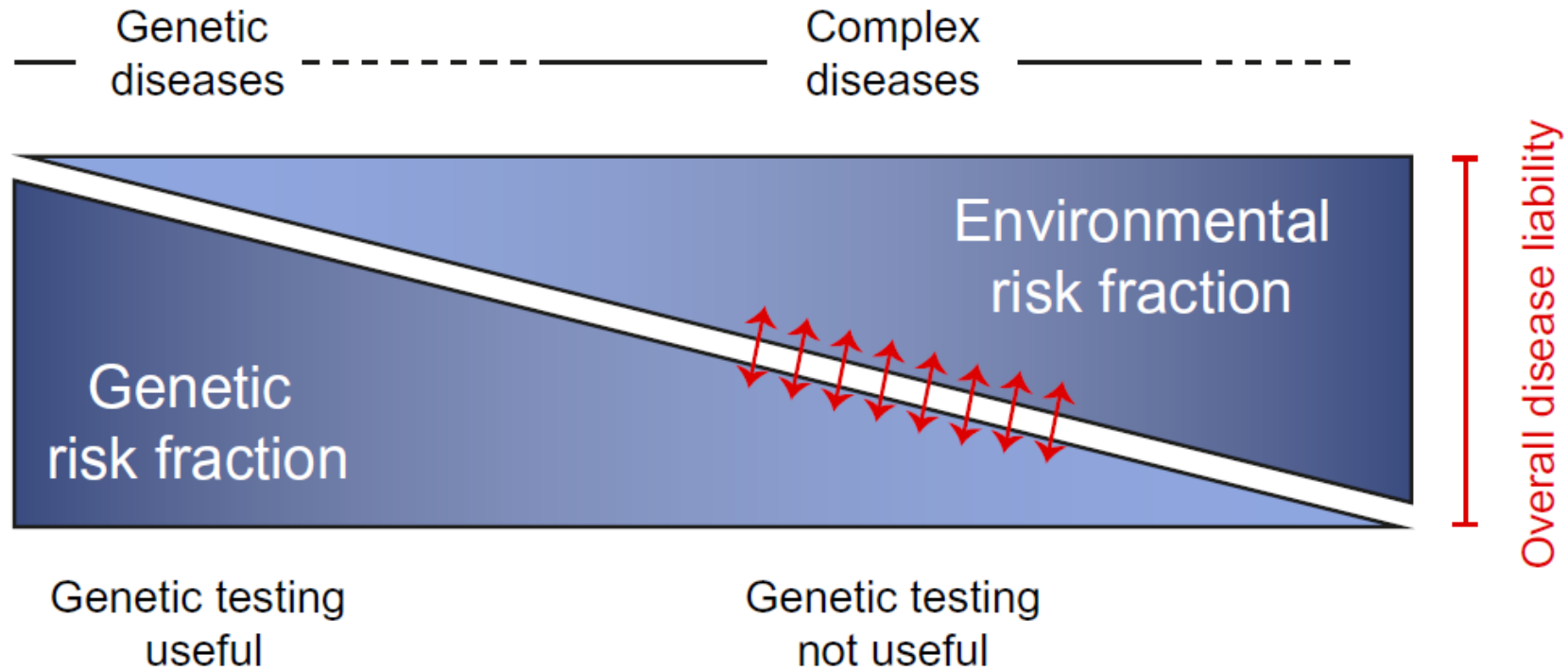
Epistasis

Factores ambientales múltiples
(estilo de vida,
hábitos tóxicos etc.)

Factores de riesgo genético para las enfermedades hepáticas: una aproximación



Visto de otra manera



Tecnologías para el estudio genético

Tipo de análisis	Fundamento	Ventajas	Dificultades	Tecnología requerida
Genes Candidatos	Búsqueda en locus determinado	Intensidad de la asociación encontrada ¿causalidad?	Elección del gen o genes candidatos Selección de genes sesgada	Relativamente fácil
GWAS	Búsqueda de determinados SNP en todo el genoma	Permite encontrar asociaciones no buscadas Asociaciones que permiten evaluar hipótesis futuras	Depende de la capacidad del chip Tamaño muestral Intensidad de la asociación habitualmente débil	Más compleja
Exome sequencing	Determinación de cualquier alteración en todo el exoma implicado		Más costoso Enorme cantidad de información producida Necesidad de proceso altamente sofisticada	Mayor complejidad
Whole Genome sequencing	Determinación de alteraciones en todo el genoma			Mayor complejidad Mayor coste

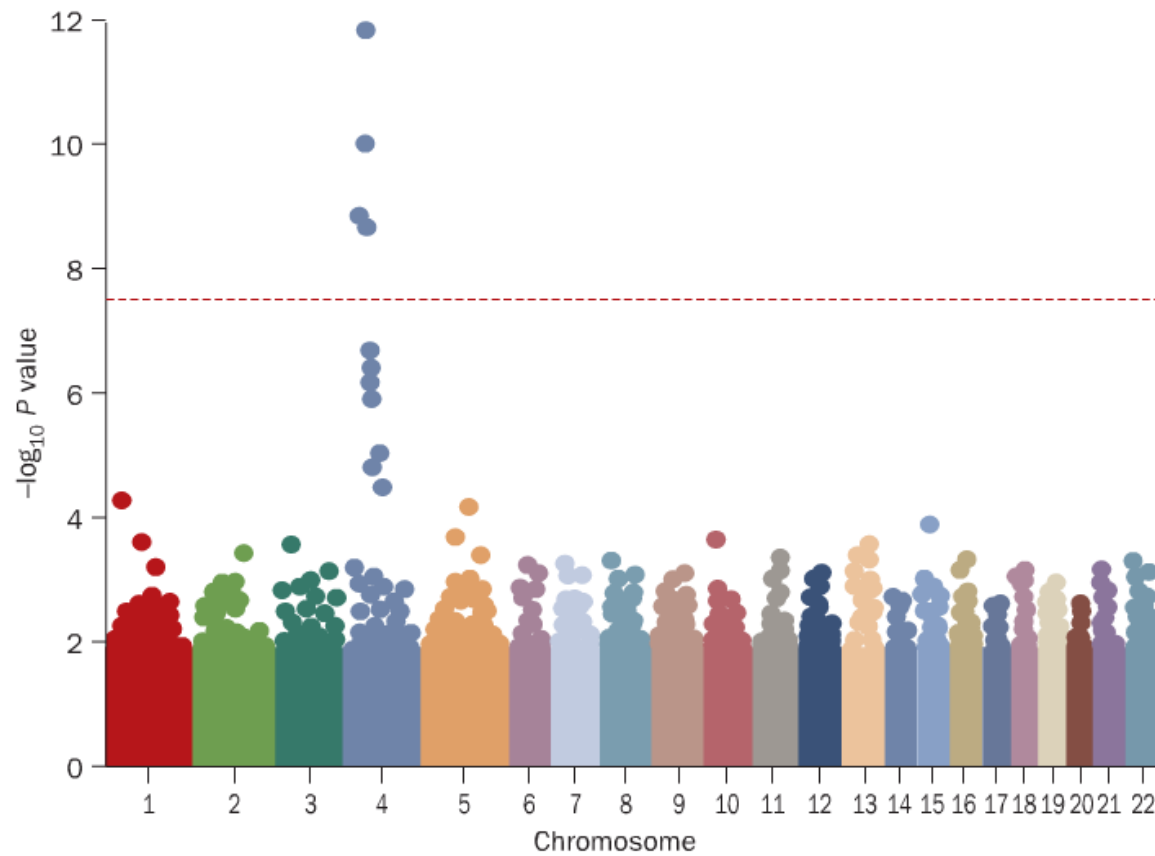
Tecnologías para el estudio genético

Tipo de análisis	Fundamento	Ventajas	Dificultades	Tecnología requerida
Genes Candidatos	Búsqueda en locus determinado	Intensidad de la asociación encontrada ¿causalidad?	Elección del gen o genes candidatos Selección de genes sesgada	Relativamente fácil
GWAS	Búsqueda de determinados SNP en todo el genoma	Permite encontrar asociaciones no buscadas Asociaciones que permiten evaluar hipótesis futuras	Depende de la capacidad del chip Tamaño muestral Intensidad de la asociación habitualmente débil	Más compleja
Exome sequencing	Determinación de cualquier alteración en todo el exoma implicado		Más costoso Enorme cantidad de información producida Necesidad de proceso altamente sofisticada	Mayor complejidad
Whole Genome sequencing	Determinación de alteraciones en todo el genoma			Mayor complejidad Mayor coste

¿Qué es un análisis “GWAS”?

- Investigar la posible asociación entre las variaciones a lo largo del genoma completo y el fenotipo de interés
- No precisa de relación patogénica previa conocida
- Básicamente es un estudio caso-control
- Más de 100000 SNP (el diseño del chip es crítico)
- Cohortes con adecuado tamaño muestral
- Metodología estadística precisa
 - Evitar asociaciones por azar: valores de p exigentes < 0.000000005
 - OR relevantes
 - Modelos multivariantes
 - Aplicación de herramientas diagnósticas (ROC, LR etc)

Ejemplo de análisis GWAS



Enfermedades hereditarias monogénicas

¡Qué fácil: un gen-una enfermedad!

- Hemocromatosis ligada al gen HFE
 - C282Y
 - Baja penetrancia del rasgo genético
- Déficit de alfa-1-antitripsina
 - AR. Mutaciones en SERPINA1
 - Variante PiZ en heterocigosis es cofactor del desarrollo de fibrosis en otras enfermedades hepáticas
- Enfermedad de Wilson
 - ATP7B gen (>380 variantes)

Ejemplos de asociaciones patogénicas reveladas por GWASs

- Litiasis biliar
 - Gen ABCG8: hemitransportador de colesterol

Disease	Number of patients (controls)	Geographic region or country	Number of SNPs	Risk gene or allele	SNP or amino acid change	P value	Odds ratio (95% CI)
Gallstones	280 (360) 2,000 (1,202)*	Germany, Chile	382,492	ABCG8	Asp19His	1.4×10^{-14}	2.20 (1.80–2.60)

Disease	Number of patients (controls)	Geographic region or country	Number of SNPs	Risk gene or allele	SNP or amino acid change	P value	Odds ratio (95% CI)
NAFLD	2,111	USA	9,229	PNPLA3	Ile148Met	5.9×10^{-10}	NA
NAFLD activity score	236	USA	324,623	FDFT1	rs2645424	6.8×10^{-7}	0.40 (0.27–0.60)

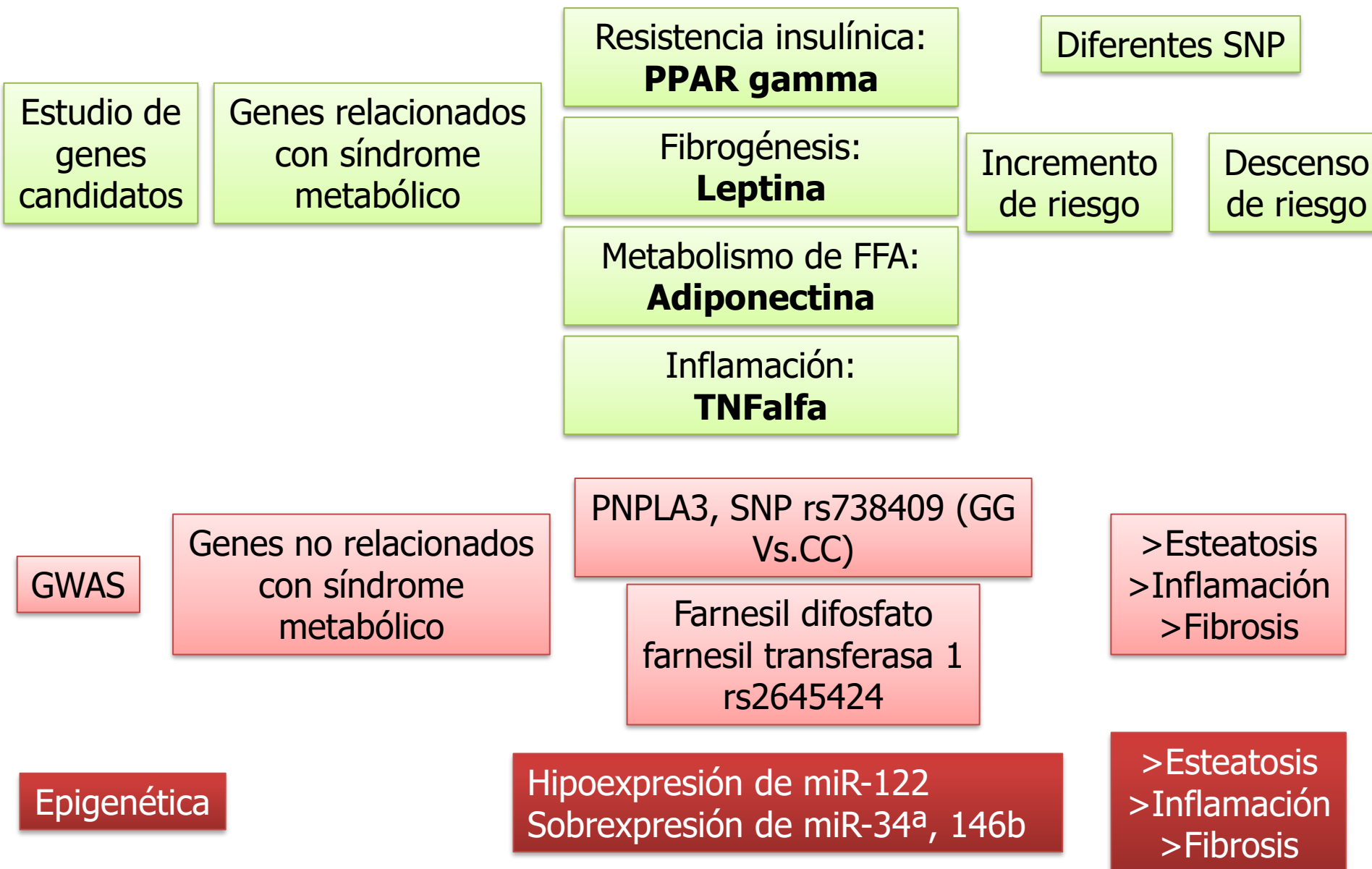
- Enfermedades colestásicas

Disease	Number of patients (controls)	Geographic region or country	Number of SNPs	Risk gene or allele	SNP or amino acid change	P value	Odds ratio (95% CI)
Primary biliary cirrhosis	505 (1,507) 526 (1,306)*	North America	305,724	<i>HLA-DQB1</i>	rs2856683	1.8×10^{-19}	1.75 (1.55–1.98)
				<i>IL12</i>	rs6441286	2.4×10^{-14}	1.54 (1.38–1.72)
				<i>IL12RB2</i>	rs3790567	2.8×10^{-11}	1.51 (1.33–1.70)
Primary biliary cirrhosis	453 (945) 481 (3,706)*	Italy, Canada, USA	34,000	<i>SPIB</i>	rs3745516	7.9×10^{-11}	1.46
				<i>IRF5-TNPO3</i>	rs10488631	2.8×10^{-11}	1.63
Primary sclerosing cholangitis	285 (298) 766 (2,935)*	Europe	443,816	<i>HLA-B</i>	rs3099844	2.6×10^{-26}	4.8 (3.6–6.5)
					rs2844559	4.2×10^{-26}	4.7 (3.5–6.4)

Ejemplos de asociaciones de respuesta terapéutica reveladas por GWASs

Disease or trait	Number of patients (controls)	Geographic region or country	Number of SNPs	Risk gene	SNP or amino acid change	P value	Odds ratio (95% CI)
Chronic HBV infection	179 (934) 607 (1,267)*	Japan, Thailand	499,544	<i>HLA-DPA1</i> <i>HLA-DPB1</i>	rs3077	2.3×10^{-38}	0.56 (0.51–0.61)
					rs9277535	6.3×10^{-39}	0.57 (0.52–0.62)
Treatment response in chronic HCV infection	571 (566)	USA	565,759	<i>IL28B</i>	Lys70Arg	1.4×10^{-28}	2.0 (1.8–2.3)
Treatment response in chronic HCV infection	162 (131) [†] 261 (394) ^{*†}	Australia, Europe	311,159	<i>IL28B</i>	rs8099917	9.3×10^{-9}	1.98 (1.57–2.52)
Treatment response in chronic HCV infection	64 (78) [†] 122 (50) ^{*†}	Japan	621,220	<i>IL28B</i>	rs8099917	1.2×10^{-18}	12.1 (6.5–22.4)
Treatment response in chronic HCV infection	297 (168) [†]	Europe	>500,000	<i>IL28B</i>	rs8099917	3.1×10^{-8}	5.19 (2.90–9.30)
Spontaneous clearance of acute HCV infection	1015 (347)	Europe	>500,000	<i>IL28B</i>	rs8099917	6.1×10^{-9}	2.31 (1.74–3.06)
Anemia during therapy of chronic HCV infection	1,286	USA	565,759	<i>ITPA</i>	Pro32Thr rs7270101	1.7×10^{-58} 8.5×10^{-76}	NA
Anemia during therapy of chronic HCV infection	665 (258)*	Japan	510,537	<i>DDRGK1</i> <i>ITPA</i>	rs6051639 rs1127354	6.0×10^{-14} 3.5×10^{-44}	NA

El ejemplo de NASH



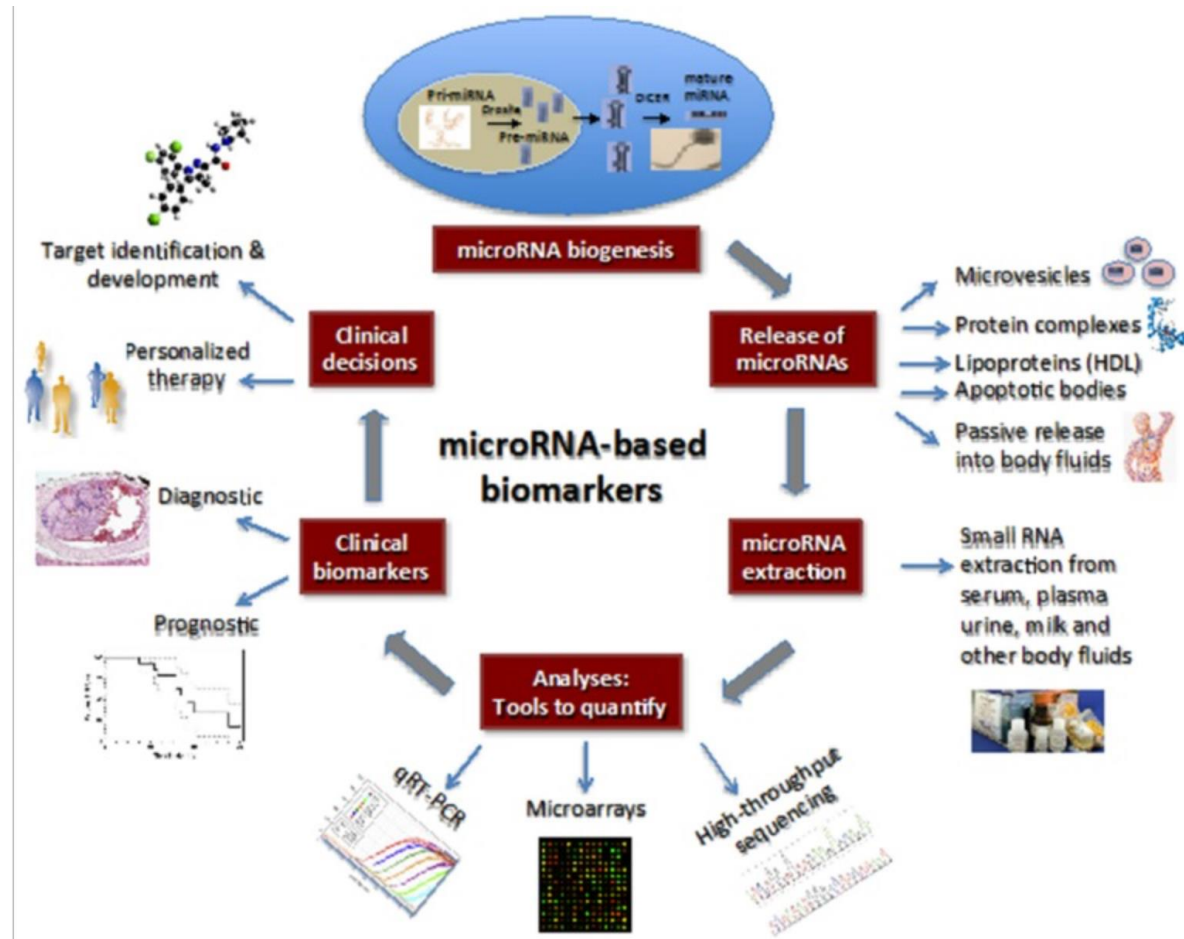
MicroRNAs and liver disease.

Otsuka M^{1,2}, Kishikawa T¹, Yoshikawa T¹, Yamagami M¹, Ohno M¹, Takata A¹, Shibata C¹, Ishibashi R¹, Koike K¹.

[MicroRNAs in the Evaluation and Potential Treatment of Liver Diseases.](#)

5. Mahgoub A, Steer CJ.

J Clin Med. 2016 May 10;5(5). pii: E52. doi: 10.3390/jcm5050052. **Review.**



Para qué necesita un hepatólogo las “pruebas genéticas”

- Pruebas para el diagnóstico de enfermedades monogénicas
- “Screening” de enfermedades hereditarias
 - Generales
 - A poblaciones específicas
 - Familiares
- Evaluación de predisposición poligénica a diferentes enfermedades (pruebas de susceptibilidad genómica)
- Evaluación de potencial respuesta terapéutica diferencial
- Biomarcadores: Medicina “personalizada”

Problemas de la aplicación clínica de los estudios genéticos

- Muchos estudios simples no proporcionan un alto rendimiento diagnóstico
 - C282Y en hemocromatosis

Ethical, Social and Legal Implications of Genetic Testing in Liver Disease

Dirk J. van Leeuwen¹ and James L. Bernat²

- Necesidad de incorporación al “lenguaje” hepatológico

“Am I my genes?”: Questions of identity among individuals confronting genetic disease





MÁSTER EN HEPATOLOGÍA



UAM
Universidad Autónoma
de Madrid



Universidad
de Alcalá