

GH

GENÉTICA  
HUMANA

HUMAN  
GENETICS



## GH 1

## HALLAZGO POR ANÁLISIS MOLECULAR DE EXOMA DE UNA MUTACIÓN EN EL GEN *MYH7* RELACIONADO CON CARDIOPATÍA HIPERTRÓFICA

Della Vedova M.C.<sup>1,2</sup>, G.V. Mendoza<sup>1,2</sup>, S. Ratti<sup>3,4</sup>, S.M. Marsa<sup>1,2</sup>.  
<sup>1</sup>Universidad Nacional de San Luis (UNSL), San Luis, Argentina; <sup>2</sup>GENES, Laboratorio de Genética y Biología Molecular, San Luis, Argentina; <sup>3</sup>Laboratorio de Epigénesis y Neuropsicofarmacología Experimental, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Católica de Cuyo, sede San Luis, Argentina; <sup>4</sup>Hospital San Luis, San Luis, Argentina.  
 E-mail: ceciliadellavedova@gmail.com

La Miocardiopatía Hipertrófica Familiar (FHC, por sus siglas en inglés) está asociada con el desorden de los miocitos y la fibrosis intersticial del miocardio y podría provocar arritmias ventriculares e insuficiencia cardíaca. La enfermedad es genéticamente heterogénea, con un modo de herencia autosómico dominante. El gen *MYH7* situado en el brazo largo del cromosoma 14 (14q12), codifica una proteína cardíaca conocida como  $\beta$ -miosina de cadena pesada. Esta proteína se encuentra en el músculo cardíaco y en las fibras musculares esqueléticas de tipo I. Las mutaciones este gen son responsables de hasta el 35% de los casos de cardiomiopatía hipertrófica familiar. Ante el caso de un paciente de 11 años en estudio por sospecha de patología neuromuscular. Se solicitó estudio molecular dirigido a genes asociados a distrofias musculares y miopatías. En el paciente en estudio se ha detectado en heterocigosis una variante constituida por una transición de timina por citosina en el exón 9 del gen *MYH7* (c.788T>C) que a nivel de la proteína generaría un cambio de aminoácido en la posición 263 (p.Ile263Thr) que ocurre en la región de la proteína que corresponde al sitio de unión de ATP. Esta variante de tipo *missense* se localiza en el dominio funcional cabeza de miosina de la proteína y ha sido observada a la fecha en población general con una frecuencia del 0,0004%. La patología específica de la mutación se presenta en una etapa temprana de la enfermedad, lo que proporciona evidencia para un enfoque centrado en la fisiopatología para la prevención en familiares portadores de mutaciones de riesgo.

## GH 2

## ACTUALIZACIÓN DE LAS VARIANTES PATOGENICAS EN PORFIRIA AGUDA INTERMITENTE EN LA POBLACIÓN ARGENTINA

Varela L<sup>1</sup>, A.M. Buzaleh<sup>1,2</sup>, V. Parera<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Centro de Investigaciones sobre Porfirinas y Porfirias (CIPYP), Universidad de Buenos Aires (UBA)-CONICET, CABA, Argentina; <sup>2</sup>Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FCEN), UBA, Buenos Aires, Argentina. E-mail: lauravarela0@gmail.com

La Porfiria Aguda Intermitente (PAI) es un desorden genético autosómico dominante, debido a una deficiencia de la Hidroximetilbilano Sintetasa (HMBS). La PAI presenta crisis neuroabdominales con riesgo de vida. Se identificaron al momento más de 520 mutaciones en el gen *HMBS* en el mundo. Dada la heterogeneidad genética de la PAI, el objetivo fue hacer un análisis de los 127 pacientes de familias no relacionadas diagnosticados genéticamente en el Centro de Investigaciones sobre Porfirinas y Porfirias. El diagnóstico de PAI se realizó midiendo parámetros bioquímicos (Àc. 5-amino levúlico, porfobilinógeno, porfirinas urinarias y en plasma, HMBS en sangre) y la identificación de la variante patogénica mediante estudios genéticos. Se detectaron 49 variantes patogénicas distintas, siendo una *de novo*. La variante más frecuente fue p.G111R (49%); con una frecuencia mucho menor se detectaron las variantes: p.Q34P (5,5%), p.R173W (4%) y c.202\_203delCT (1,6%). El resto de las variantes fueron privadas de cada familia. Se encontraron tres familias con heterocigosis compuesta y una familia con porfiria dual PAI/ Porfiria Cutánea Tardía. Se sumaron cuatro variantes nuevas para la población argentina, una de las cuales no fue reportada previamente: p.(Leu49Cysfs\*49). La actividad enzimática no siempre es de utilidad diagnóstica, ya que se observa solapamiento entre los valores de pacientes PAI y de individuos sanos. El diagnóstico genético confirma la presunción de PAI y es de suma importancia para el asesoramiento médico acerca del contacto con agentes desencadenantes y/o de riesgo para evitar así su expresión clínica en los casos latentes.

### GH 3

## DISEÑO DE UNA PCR ALELO ESPECÍFICA PARA LA GENOTIPIFICACIÓN DEL RS62471572 (A>G) DEL GEN *KLF14*, POSIBLEMENTE ASOCIADO A DIABETES

Dini V.<sup>1</sup>, Y.V. Carmona Viglianco<sup>1</sup>, C. Mercado<sup>2</sup>, M.A. Fernandez<sup>3</sup>, D. Gancia<sup>1</sup>, M.E. Vasquez Gomez<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Universidad Nacional de San Luis, San Luis, Argentina; <sup>2</sup>Hospital Cerro de la Cruz, San Luis, Argentina; <sup>3</sup>Hospital San Luis, San Luis, Argentina. E-mail: eridnere@gmail.com

La Diabetes Mellitus (DM) es uno de los principales problemas de salud pública en el mundo. La forma más frecuente de la enfermedad es la DM Tipo 2 (DMT2), determinada tanto por múltiples factores ambientales como por una marcada predisposición genética. El *KLF14* es un gen fuertemente asociado con DMT2, obesidad y la regulación de señalización lipídica. El polimorfismo rs62471572 (A>G) del *KLF14* es una variante transcriptómica *upstream* 3' UTR, con un MAF de 0,35. El objetivo de este trabajo fue diseñar y optimizar una PCR alelo específica para el rs62471572 del gen *KLF14* con el fin de realizar un estudio de genotipificación de la población con DMT2 en la ciudad de San Luis. Se diseñaron dos pares *primers* específicos para cada uno de los alelos con el software PRIMER1 y se probaron a diferentes temperaturas de hibridación y concentración. Se realizó además una curva de concentración de ADN. Los amplicones fueron observados en geles de agarosa al 3% con Ecogel como colorante. Solo se logró la amplificación de uno de los pares de *primers* diseñados. Los parámetros elegidos fueron: 10 uM de *primers*, 80 ng de ADN extraído de sangre periférica y 1X de Master mix PCR Pegasus (Productos Bio-Lógicos). Se realizaron 39 ciclos en el termociclador (BioRad): 95° C por 40 segundos, 61° C por 45 segundos y 72° C por 1 minuto. La técnica desarrollada en nuestro laboratorio para el genotipificación rs62471572 (A/G) del gen *KLF14* podría ahorrar tiempo y ser rentable en comparación con los métodos disponibles para estudios de SNPs, pudiendo ser empleado en una investigación futura de la población con DMT2.

### GH 4

## ESTUDIO PRELIMINAR DEL RS290804 DE *KLF14* Y SU ASOCIACIÓN A DIABETES MELLITUS TIPO 2 EN LA POBLACIÓN DE SAN LUIS

Razzeto G.S.<sup>1</sup>, M.J. Reta Rios<sup>1</sup>, M.C. Della Vedova<sup>1</sup>, C. Mercado<sup>2</sup>, A. Orozco<sup>1</sup>, Y. Carmona<sup>1</sup>, S. Marsa<sup>1</sup>, M.E. Vasquez Gomez<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Laboratorio de Diabetes-UNSL, San Luis, Argentina; <sup>2</sup>Hospital Cerro de la Cruz, San Luis, Argentina. E-mail: eridnere@gmail.com

La Diabetes Mellitus Tipo 2 (DMT2) es consecuencia de una compleja interacción entre múltiples genes y diversos factores ambientales. Se ha demostrado que el patrón de expresión de miembros de los *KLF* se altera durante la DMT2 y se sugiere que *KLF14* es un regulador transcripcional metabólico clave. Este gen se ubica en el cromosoma 7 y una de sus variantes es el rs290804 (C/T), ubicado a ~1,9kb *upstream* del comienzo de dicho gen, del cual no hay información publicada hasta la actualidad de su relación con la DMT2. El propósito del presente estudio preliminar fue la detección del rs290804 (C/T) y evaluar su posible asociación con la DMT2 en una población de San Luis. Se utilizaron muestras de sangre periférica de 60 pacientes que asistieron al Hospital San Luis, de los cuales 41 pertenecen al grupo de pacientes controles y 19 al grupo de pacientes diabéticos. Se realizó la extracción de ADN de sangre periférica con un kit comercial (Roche) siguiendo las indicaciones del fabricante. Se diseñaron cebadores específicos para cada alelo con el software Primer1. Se realizó una PCR alelo específica para identificar los alelos C y T en la población estudiada. Esta técnica fue previamente desarrollada en el laboratorio. Los resultados se analizaron en geles de agarosa al 3% con Ecogel. Se observó que la distribución y las frecuencias relativas de este polimorfismo no fueron significativas entre los grupos diabético y control, ni presentaron relación con la dislipidemia diabética. Estas son conclusiones preliminares y se espera poder continuar aumentando el tamaño muestral.

## GH 5

## TETRA-PRIMER ARMS-PCR PARA EL RS 3087465 DEL GEN *TGFBR2*: DISEÑO Y OPTIMIZACIÓN

Lesende C.A.<sup>1</sup>, C. Mercado<sup>2</sup>, V. Biaggio<sup>1</sup>, G. Camargo<sup>2</sup>, M. Garcia<sup>2</sup>, M.E. Vasquez Gomez<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Laboratorio de Diabetes, Universidad Nacional de San Luis (UNSL), San Luis, Argentina; <sup>2</sup>Hospital Cerro de la Cruz, San Luis, Argentina. E-mail: eridnere@gmail.com

El gen *TGFBR2* está ubicado en el cromosoma 3. Entre las variantes notificadas de este gen, el rs3087465 (-875 A/G) se encuentra en la región promotora, y se la asocia a cáncer colorrectal, enfermedades renales, inflamación, entre otras, pero no a la Diabetes. Este polimorfismo posiblemente altere un sitio Sp1 el cual puede estar vinculado directamente con *KLF14*, gen que tiene una relación directa con la Diabetes Mellitus Tipo 2 (DMT2), por lo cual nos interesa estudiarlo. El objetivo de este trabajo fue diseñar una Tetra-primer ARMS-PCR para el rs3087465 del gen *TGFBR2*. Para ello, diseñamos dos pares de *primers* específicos utilizando el software PRIMER 1. Realizamos un gradiente de temperatura, una curva de concentración de *primers* y probamos la Taq Pegasus (Productos Bio-Lógicos) y Taq Master Mix PCR Pegasus (Productos Bio-Lógicos). Los amplicones fueron observados en geles de agarosa al 3% con ECO-Gel como colorante. Los mejores resultados se obtuvieron utilizando 1X de Master Mix PCR Pegasus (Productos Bio-Lógicos), *primer* Forward Outer 7,5µM, *primer* Rever Outer 10µM, *primer* Forward Inner 10µM, y *primer* Rever Inner 10µM, y 80 ng de ADN extraído de sangre periférica. En el termociclador (BioRad) se realizó un ciclo de desnaturalización a 95° C por 3 minutos, 40 ciclos de 95° C por 40 segundos, 61° C por 45 segundos y 72° C por 1 minuto, y un ciclo de extensión a 72° C por 5 minutos. Esta técnica nos permitirá realizar la genotipificación de la población con DMT2 de la ciudad de San Luis de una manera más rápida y con un menor costo.

## GH 6

## OBTENCIÓN DE PERFILES GENÉTICOS A PARTIR DE RESTOS DE DISPOSITIVOS POST-EXPLOSIÓN

Corominas F., V. Brizuela, Y. Tonda, G. Pascual, M.J. Muhamed, J. Ronelli, M. Seara, P. Nosedá. Policía Federal Argentina. E-mail: adn.lqpf@gmail.com

Existen múltiples factores externos de influencia negativa para el ADN como las altas temperaturas, producto de la explosión por detonación. Con el objetivo de perfeccionar la técnica forense de recuperación de ADN a partir de restos de objetos explosivos post detonación, se realizó un ejercicio práctico en condiciones semi-controladas, en el Campo "10 de Noviembre", donde se detonaron tres dispositivos de fabricación casera, en el marco del curso "Investigación de Post - Explosión" dictado por la Brigada de Explosivos de la Policía Federal Argentina, y un ejercicio controlado puertas adentro, en forma conjunta entre el área de Biología Molecular y dicha Brigada. En ambos experimentos, muestras de sangre y de ADN de contacto fueron "plantadas" en los dispositivos por personal del Laboratorio de Biología Molecular. Luego de la explosión los materiales fueron recolectados, limpiados superficialmente e hisopados. Se realizó extracción de ADN por columnas; los extractos fueron cuantificados y posteriormente amplificados. La electroforesis capilar se llevó a cabo en Genetic Analyzer 3500 y los electroferogramas fueron analizados mediante el software GeneMapper. Como resultado del ejercicio semi-controlado, solo se recuperó uno de los explosivos y del mismo se obtuvo un perfil completo de la sangre implantada y un perfil incompleto del ADN de toque. Por otro lado, se recuperaron perfiles completos del ejercicio controlado. Estas prácticas permitieron perfeccionar un protocolo de análisis de restos de explosivos para posibles intervenciones futuras de este laboratorio.

## GH 7

### DESAFÍOS EN EL DIAGNÓSTICO GENÉTICO DE PACIENTES CON HIPOACUSIA HEREDITARIA MEDIANTE WES: LOS SÍNDROMES OCULTOS

Buonfiglio P.<sup>1</sup>, M. Pace<sup>1</sup>, V. Lotersztejn<sup>2</sup>, B. Paoli<sup>3</sup>, S. Menazzi<sup>4</sup>, A.B. Elgoyhen<sup>1,5</sup>, V. Dalamón<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Laboratorio de Fisiología y Genética de la Audición, INGEBI-CONICET, CABA, Argentina; <sup>2</sup>Servicio de Genética del Hospital Militar Central Cirujano Mayor "Dr. Cosme Argerich", CABA, Argentina; <sup>3</sup>Servicio de Otorrinolaringología Infantil del Hospital de Clínicas "José de San Martín", CABA, Argentina; <sup>4</sup>División Genética del Hospital de Clínicas "José de San Martín", CABA, Argentina; <sup>5</sup>Tercera Cátedra de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, CABA, Argentina. E-mail: paulabuonfiglio@gmail.com

La hipoacusia es el desorden sensorial más común que afecta a 1:500 nacidos. A la fecha, más de 100 genes se relacionan con las formas no sindrómicas. La técnica Whole Exome Sequencing (WES) es una alternativa beneficiosa para analizarlos y permite ampliar el estudio a otros genes y revelar un síndrome en pacientes que no han desarrollado aún los signos extra cocleares. El objetivo del trabajo es identificar las causas genéticas en 50 pacientes argentinos. La técnica de WES fue realizada luego de excluir las variantes frecuentes en los genes *GJB2-GJB6*. Se diagnosticó a 21/50 pacientes (44%). Cabe destacar, que en cuatro casos que presentaban hipoacusia no sindrómica al momento de la consulta resultaron con variantes patogénicas en genes relacionados con distintos síndromes: dos Usher, uno Perrault y uno Waardenburg. Por ejemplo, en un caso se detectaron variantes patogénicas en *USH2A* en un paciente que sólo presentaba hipoacusia, lo cual permitió la redefinición clínica y la toma de medidas médicas inmediatas. En otro caso, un paciente con retinitis incipiente e hipoacusia, había resultado negativo para los genes de Usher. Sin embargo, la detección de una amelogénesis imperfecta en su hermana llevó a re-analizar el exoma y detectar dos variantes en *PEX6*, relacionado con Heimler. Estos resultados demuestran las ventajas del seguimiento clínico del paciente, así como también el re-análisis periódico de los datos del exoma en pacientes sin diagnóstico. De esta manera, se arriba a una mayor tasa diagnóstica y un adecuado asesoramiento genético mejorando la calidad de vida del paciente.

## GH 8

### GENOMAS DE REFERENCIA DE LA POBLACIÓN ARGENTINA. AVANCES DEL ENSAYO PILOTO DEL PROGRAMA POBLAR

Luisi P.<sup>1</sup>, M. Figueroa<sup>1</sup>, C. Bravi<sup>1</sup>, G. Bailliet<sup>1</sup>, C. Argüelles<sup>2</sup>, M. Miretti<sup>1</sup>, J. Dipierri<sup>1</sup>, E. Alfaro<sup>1</sup>, V. Ramallo<sup>1</sup>, R. Gonzales-josé<sup>1</sup>, E. Fernández<sup>3</sup>, I. Chiesa<sup>3</sup>, J. Sánchez-loria<sup>4</sup>, T. Poklepovich<sup>4</sup>, J. Campos<sup>4</sup>, H. Dopazo<sup>1</sup>. <sup>1</sup>CONICET, Argentina; <sup>2</sup>Universidad Nacional de Misiones (UNaM), Misiones, Argentina; <sup>3</sup>Biocódices SA, CABA, Argentina; <sup>4</sup>Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud (ANLIS), Buenos Aires, Argentina. E-mail: dopazoh@gmail.com

La construcción de una referencia genómica diversa es un tema de discusión recurrente en los estudios de genómica humana con aplicaciones en biomedicina. PoblAr es el Programa de Referencia y Biobanco Genómico de la Población Argentina, dependiente de la Secretaría de Planeamiento y Políticas en Ciencia, Tecnología e Innovación del MINCyT. En febrero de 2023 nos propusimos avanzar en un ensayo piloto con el objetivo de poner a punto las herramientas de análisis genómico y bioinformático que permitirán caracterizar un mínimo de 300 genomas completos de alta profundidad (30X) que representen la diversidad de haplotipos humanos de nuestras poblaciones. Los métodos de análisis utilizados están basados en *scripts* optimizados de software libre y secuenciación en plataforma Illumina Novaseq6000. En este trabajo se muestran los resultados logrados utilizando 100 genomas seleccionados por presentar indicios de un alto porcentaje de ancestría genética amerindia. Nos enfocaremos en los resultados de secuenciación de alta profundidad y en las ventajas de utilizar genomas completamente secuenciados de baja cobertura (1-2X) para imputar la ancestría genética amerindia, escasamente representada en las bases de datos de diversidad del mundo. Los métodos y herramientas ensayados en institutos de salud e investigación de nuestro país conformarán el estándar de producción y análisis de datos que se utilizará en la Fase I del Programa, la cual sumará más de 1.800 muestras humanas en el biobanco PoblAr.