



Genómica predictiva y muerte súbita en el deporte

Juan C. Carril. Departamento de Genómica Humana. EuroEspes Biotecnología. Bergondo, Coruña.

“En Europa se estima una incidencia de muerte súbita de 2.1 muertes por cada 100.000 atletas al año por complicaciones cardiovasculares con base genética”

La muerte súbita de deportistas de élite es un suceso especialmente trágico, no sólo porque estas tragedias ocurren a menudo ante el público, sino porque estos deportistas son individuos jóvenes y considerados como verdaderos privilegiados de nuestra sociedad. Pocas noticias resultan más impactantes que ver caer fulminado a un deportista en mitad de un partido, y todos recordamos casos en nuestro país, tan sonados como los de los futbolistas Daniel Jarque y Antonio Puerta, ocurridos en los últimos tiempos.

La incidencia real de la muerte súbita en atletas jóvenes es un dato a día de hoy incierto y que varía mucho de unos estudios a otros. Así en EEUU se baraja la cifra de 1 muerte por cada 200.000

jóvenes atletas por año en los institutos de Minnesota; mientras que en Italia, en un estudio hecho en la región de Veneto, se calculó una incidencia de 2.1 muertes por cada 100.000 atletas al año por complicaciones cardiovasculares. De hecho, las causas más comunes de este tipo de muertes son las enfermedades cardiovasculares hereditarias. Según datos de la Asociación Americana del Corazón (AHA), la miocardiopatía hipertrófica (MCH) es la responsable del 36% de estas muertes, seguida por las anomalías congénitas de las arterias coronarias con un 17%. La miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho (DAVD) y las canalopatías hereditarias (síndrome del QT largo y de Brugada) representan el 4% y el 3%, respectivamente. »

“La muerte súbita consiste en la pérdida abrupta de la función cardíaca debida a un problema eléctrico, por lo que no debemos confundirla con el ataque cardíaco, causado por problemas en la circulación sanguínea”

En Europa la principal causa parece ser la miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho, con un 22%, seguida de las anomalías coronarias (12%), mientras que la miocardiopatía hipertrófica parece ser la causa de tan sólo el 2% de las muertes súbitas en jóvenes atletas.

Pero, ¿en qué consiste la muerte súbita? Ésta no es sino la pérdida abrupta de la función cardíaca debida a un problema eléctrico, por lo que no debemos confundirla con el ataque cardíaco, causado por problemas en la circulación sanguínea. Se desencadena principalmente por arritmias, como bradicardia, taquicardia ventricular y, con más frecuencia, por fibrilación ventricular.

Así, la causa más importante suele ser la existencia de una enfermedad cardiovascular previa, es decir, toda alteración de la función cardíaca

causada por una dilatación del corazón, por una válvula dañada o por anomalías congénitas en el músculo del corazón, podrían motivar el episodio. No obstante, también se han dado casos de personas que no habían padecido ninguna patología de este tipo.

Entre las principales enfermedades cardíacas que pueden desencadenar la muerte súbita y que poseen un componente genético preponderante se encuentran la miocardiopatía hipertrófica (MCH), la miocardiopatía dilatada (MCD), la displasia arritmogénica del ventrículo derecho (DAVD), el síndrome del QT largo, el síndrome de Brugada y la taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica.

Miocardiopatía Hipertrófica

La miocardiopatía hipertrófica (MCH) es una patología heterogénea tanto desde el punto de vista morfológico como desde el punto de vista clínico pudiendo presentarse con sintomatología variada que puede llegar hasta la muerte súbita, siendo la principal causa de muerte súbita en adultos jóvenes (menores de 50 años), quienes desconocen padecer esta enfermedad. La herencia de esta miocardiopatía es autosómica dominante, es decir que con heredar la mutación o las mutaciones responsables de uno solo de los progenitores ya se padece la enfermedad. Los descendientes de un paciente afectado tienen el 50% de probabilidades de poseer la mutación y desarrollar la enfermedad. Su prevalencia es de 1 de cada 500 individuos.

Se caracteriza por la hipertrofia del ventrículo izquierdo y/o derecho, usualmente asimétrica y que compromete al tabique interventricular. Histopatológicamente se caracteriza por miocitos hipertróficos que se disponen de forma desorganizada (*disarray*) en una matriz de tejido conectivo prominente e hipertrofia de la íntima de las arterias coronarias intramurales. La desorganización de los miocitos se considera la característica patológica de la miocardiopatía hipertrófica.

Se han identificado más de 20 genes asociados con esta patología (*Tabla 1*), de los cuales 9 codifican proteínas sarcoméricas: *MYL2*, *MYL3*, *ACTC*, *TPM1*, *TNNT2*, *TNNI3*, *TTN* (*PRKAG2*), *MYH7* y *MYBPC3*. Si bien se han descrito muchas mutaciones asociadas a esta miocardiopatía en todos esos genes, las más recurrentes hasta el momento se encuentran en los genes *MYBPC3* y *MYH7*.

Tabla 1. Genes involucrados en la Miocardiopatía Hipertrófica

Gen	Locus	OMIM	Producto Génico	Frecuencia
<i>MYH7</i>	14q12	160760	β-myosin heavy chain	30-40%
<i>MYBPC3</i>	11p11.2	600958	myosin-binding protein C	30-40%
<i>TNNT2</i>	1q32	191045	cardiac troponin T	5%
<i>TNNI3</i>	19q13.4	191044	cardiac troponin I	5%
<i>TPM1</i>	15q22.1	191010	α-tropomyosin 1	1-2%
<i>MYL2</i>	12q23-q24.3	160781	cardiac myosin light chain 2	
<i>MYL3</i>	3p	160790	myosin light chain 3	1%
<i>ACTC</i>	15q14	102540	cardiac actin	1%
<i>TTN</i>	2q31	188840	titin	< 1%
<i>MYH6</i>	14q12	160710	α-myosin heavy chain	1%
<i>TCAP</i>	17q12	604488	titin cap or telethonin	< 1%
<i>MYOZ2</i>	4q26-q27	605602	myozenin 2	< 1%
<i>CSRP3</i>	11p15.1	600824	muscle LIM protein	< 1%
<i>MYLK2</i>	20q13.3	606566	myosin light chain kinase 2	< 1%
<i>LDB3</i>	10q22.2-q23.3	605906	LIM domain-binding 3	< 1%
<i>VCL</i>	10q22.1-q23	193065	metavinculin	< 1%
<i>ACTN2</i>	1q42-q43	102573	α-actinin 2	< 1%
<i>PLN</i>	6q22.1	172405	phospholamban	< 1%
<i>JPH2</i>	20q12	605267	junctionophilin 2	< 1%
<i>CAV3</i>	3p25	601253	caveolin 3	< 1%
<i>CALR3</i>	19p13.12	611414	calreticulin	< 1%

Miocardiopatía Dilatada

La miocardiopatía dilatada (MCD) se define por la presencia de dilatación y disfunción sistólica ventricular izquierda en ausencia de condiciones anormales de sobrecarga (hipertensión, enfermedad valvular) o enfermedad de las arterias coronarias suficiente para causar empeoramiento global de la función sistólica. Afecta aproximadamente a 1 de cada 3000 individuos y representa la tercera causa más común de fallo cardíaco, siendo la primera causa de trasplante cardíaco. Hasta un 50% de los casos de miocardiopatía dilatada tienen una presentación familiar y causa genética. Hasta la fecha se han identificado mutaciones asociadas con esta enfermedad en más de 25 genes diferentes, relacionados con proteínas del citoesqueleto, el sarcómero, las uniones intercelulares, la membrana nuclear, canales iónicos y proteínas mitocondriales (Tabla 2). El modo predominante de herencia es autosómico dominante (*ACTC*, *TPM1*, *MYH7*, *TNNT2*, *MYBPC3*, *TTN*, *TCAP*, *DES*, *DMD*, *VCL*, *SGSD*, *ACTN2* y *LMNA/C*), siendo las formas recesivas ligadas al sexo y la herencia mitocondrial menos frecuentes (*DMD*, *TAZ/G4.5*, *TNNI3*).

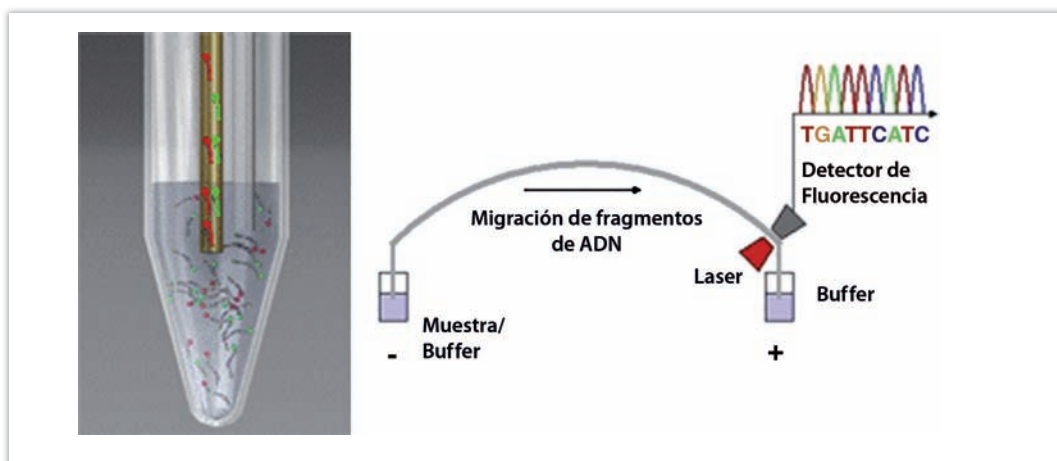
Tabla 2. Genes involucrados en la Miocardiopatía Dilatada

Gen	Locus	OMIM	Producto Génico	Frecuencia
<i>LMNA</i>	1q21.2	150330	lamin A/C	4–8%
<i>MYH7</i>	14q12	160760	β-myosin heavy chain	4–6%
<i>TNNT2</i>	1q32	191045	cardiac troponin T	3%
<i>SCN5A</i>	3p21	600163	sodium channel	2–3%
<i>MYH6</i>	14q12	160710	α-myosin heavy chain	2–3%
<i>DES</i>	2q35	125660	desmin	<1%
<i>VCL</i>	10q22.1-23	193065	metavinculin	<1%
<i>LDB3</i>	10q22.2-23.3	605906	LIM domain-binding 3	<1%
<i>TCAP</i>	17q12	604488	titin-cap or telethonin	<1%
<i>PSEN1</i>	14q24.3	104311	presenilin 1	<1%
<i>PSEN2</i>	1q31-q42	600759	presenilin 2	<1%
<i>ACTC</i>	15q14	102540	cardiac actin	<1%
<i>TPM1</i>	15q22.1	191010	α-tropomyosin 1	<1%
<i>SGCD</i>	5q33-34	601411	δ-sarcoglycan	<1%
<i>CSRP3</i>	11p15.1	600824	muscle LIM protein	<1%
<i>ACTN2</i>	1q42-q43	102573	α-actinin 2	<1%
<i>ABCC9</i>	12p12.1	601439	SUR2A	<1%
<i>TNNC1</i>	3p21.3-p14.3	191040	cardiac troponin C	<1%
<i>TTN</i>	2q31	188840	titin	
<i>MYBPC3</i>	11p11.2	600958	myosin-binding protein C	
<i>PLN</i>	6q22.1	172405	phospholamban	
<i>EYA4</i>	6q23	603550	eyes-absent 4	
<i>TMPO</i>	12q22	188380	thymopoietin	
<i>DMD</i>	Xp21.2	300377	dystrophin	
<i>TAZ/G4.5</i>	Xq28	300394	tafazzin	
<i>TNNI3</i>	19q13.4	191044	cardiac troponin I	<1%

Displasia Arritmogénica del Ventrículo Derecho

La Displasia Arritmogénica del Ventrículo Derecho es una enfermedad del corazón de herencia autosómica dominante, con expresividad variable y penetrancia en los familiares de los afectados que varía entre el 15 y el 25%. Se caracteriza por la pérdida progresiva de miocitos, los cuales son reemplazados por tejido fibroadiposo. Si bien afecta al ventrículo derecho, también puede comprometer al ventrículo izquierdo. Esta enfermedad se presenta con más frecuencia

en los jóvenes, afectando en el 80% de los casos a menores de 40 años. Su diagnóstico clínico es difícil, de manera que en muchas ocasiones la primera manifestación de la enfermedad es la muerte súbita, principalmente en personas menores de 30 años. La DAVD es tres veces más frecuente en varones, y suele presentarse en edades comprendidas entre 5 y 40 años. La prevalencia de esta condición se estima en 1:10000, pero se encuentra infradiagnosticada por la dificultad a la hora de detectarla.



◀ Fig. 1. Fundamento del método de secuenciación de Sanger

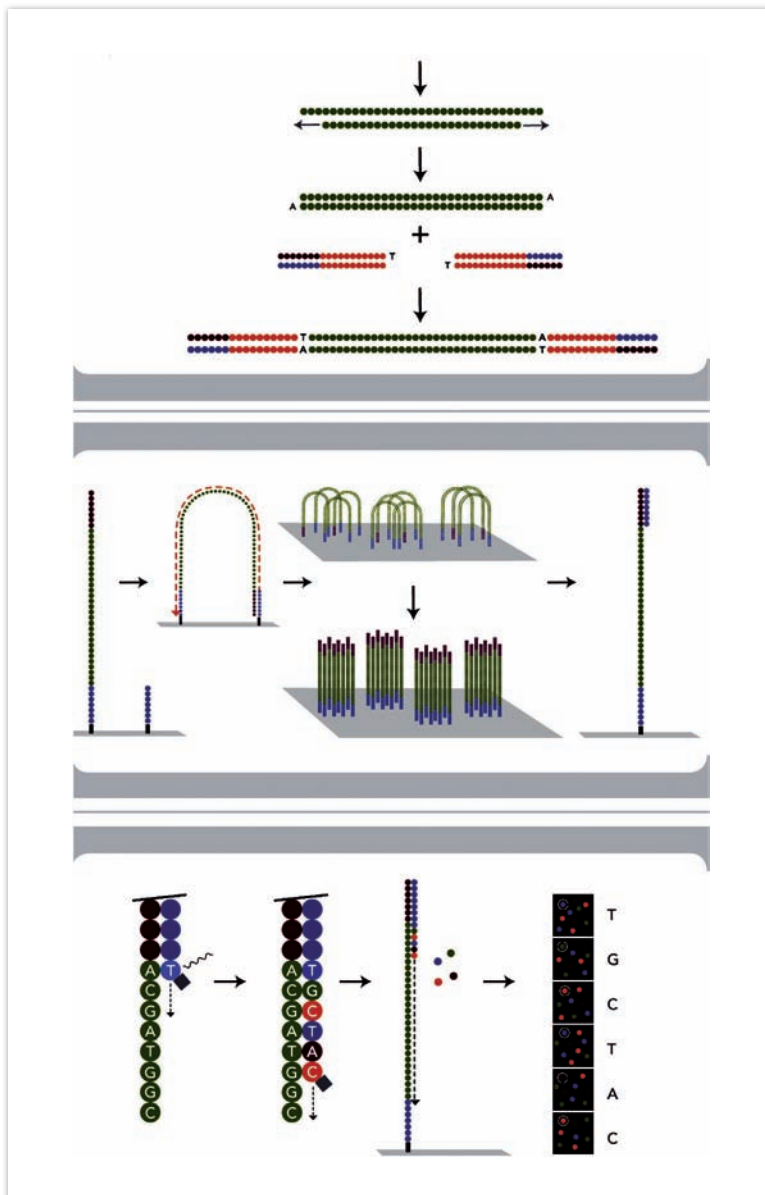


Fig. 2. ▲ Método de "secuenciación por síntesis" del sistema Genome Analyzer Iix de Illumina

Tabla 3. Genes involucrados en la Displasia Arritmogénica del Ventrículo Derecho

Gen	Locus	OMIM	Producto Génico	Frecuencia
<i>PKP2</i>	12p11	602861	plakophilin 2	11-43%
<i>DSG2</i>	18q12	125671	desmoglein 2	12-40%
<i>DSP</i>	6p24	125647	desmoplakin	6-16%
<i>DSC2</i>	18q12	125645	desmocollin 2	<1%
<i>JUP</i>	17q21	173325	junction plakoglobin	<1%
<i>RYR2</i>	1q42	180902	ryanodine receptor 2	<1%
<i>TGFB3</i>	14q24	190230	transforming growth factor β-3	<1%
<i>TMEM43</i>	3p25	612048	transmembrane protein 43	<1%
<i>PKP2</i>	12p11	602861	plakophilin 2	<1%

Se han identificado mutaciones responsables en 9 genes (Tabla 3), de los cuales 4 codifican proteínas del desmosoma: Desmocolina 2, Desmogleína 2, Plakofilina 2 y Desmoplaquina. En el 25% de los casos, la Plakofilina 2 está mutada.

Síndrome del QT Largo

Bajo este nombre genérico se han descrito 4 síndromes hereditarios: síndrome de Romano-Ward, síndrome de Andersen-Tawil, síndrome de Timothy y síndrome de Jervell-Lange-Nielsen. El primero es el más común, con una prevalencia de 1:5000 y representando el 85% de los QT largos. Los tres primeros son de herencia autosómica dominante, mientras que el último es de herencia autosómica recesiva (hay que heredar la mutación patógena tanto del padre como de la madre).

En todos los casos la enfermedad se caracteriza por arritmias cardíacas, las cuales pueden evidenciarse en el electrocardiograma como un aumento del intervalo QT. Estas arritmias son consecuencia de anomalías estructurales en los canales de sodio y potasio del corazón. Los síntomas pueden aparecer en situaciones de estrés o bien como reacciones adversas de algunos medicamentos, aunque hay pacientes que permanecen asintomáticos durante toda su vida.

Se conocen 12 genes asociados con el desarrollo de esta enfermedad (Tabla 4). Estos genes codifican proteínas que regulan el transporte de sodio, potasio o calcio a través de las membranas plasmáticas de los miocitos. Los genes *KCNQ1*, *KCNH2*, *SCN5A*, *KCNE1* y *KCNE2* están asociados al síndrome de Romano-Ward; el gen *KCNJ2*, al síndrome de Andersen-Tawil; el gen *CACNA1C*, al síndrome de Timothy; y los genes *KCNQJ* y *KCNE1*, al síndrome de Jervell-Lange-Nielsen.

Entre el 60% y el 70% aproximadamente de los sujetos con este síndrome presentan mutaciones en alguno de estos once genes. No obstante, se ha identificado un nuevo gen, el *ANK2*, que codifica la ankyrina B, y que es el único no implicado en los canales iónicos.

Síndrome de Brugada

Esta enfermedad se caracteriza por episodios de taquicardia ventricular polimórfica.

ca rápida, pudiendo originar episodios de síncope (desmayos) o muerte súbita. Se hereda de manera autosómica dominante y afecta mayoritariamente a individuos varones (8:1). Se estima que entre un 4% y un 12% de las muertes súbitas se dan como consecuencia de este síndrome, teniendo lugar en menores de 50 años sin síntomas previos. Se calcula que puede tener una prevalencia de 5 de cada 10000 individuos. El único gen relacionado hasta la fecha con la enfermedad es *SCN5*.

Taquicardia Ventricular Polimórfica Catecolaminérgica

Es una enfermedad caracterizada por desencadenarse ante episodios de liberación de catecolaminas (hormonas producidas por las glándulas suprarrenales, entre ellas la adrenalina y noradrenalina) en situaciones de estrés físico o emocional.

Los síntomas suelen aparecer entre los 5 y los 10 años, aunque los casos de muerte súbita en estos rangos de edad son raros. Un 30% de los casos presentan historia familiar de síncope y muerte súbita. Su prevalencia, aunque no bien conocida, se estima en 1 por cada 2000 habitantes.

Suele presentar un patrón de herencia autosómica dominante, fundamentalmente debido a una mutación en el gen *RYR2*.

“El interés médico del test genético es evidente, tanto desde el punto de vista de la prevención de la muerte súbita, como para el consejo genético de familiares del individuo objeto de estudio”

También aparece con patrón de herencia autosómica recesiva con mutaciones en el gen *CASQ2*, que codifica a la proteína calciestrina.

Genómica de las Miocardiopatías

Existen diversas guías con recomendaciones para la detección de las causas genéticas de miocardiopatías y canalopatías. La justificación del test genético, para éstas y otras enfermedades que involucran tantos genes, reside en la identificación de la mutación causante de la enfermedad. El interés médico es evidente, tanto desde el punto de vista de la prevención de la muerte súbita, como para el consejo genético de familiares del individuo objeto de estudio. No obstante, con las tecnologías disponibles hasta la fecha, el esfuerzo de “screening” es, en muchos casos, inabordable desde el punto de vista del personal requerido y, sobre todo, no resulta viable económicamente.

Fig. 3. ▼

Método de “secuenciación por ligamiento” del sistema Applied Biosystems SOLiD™ 4

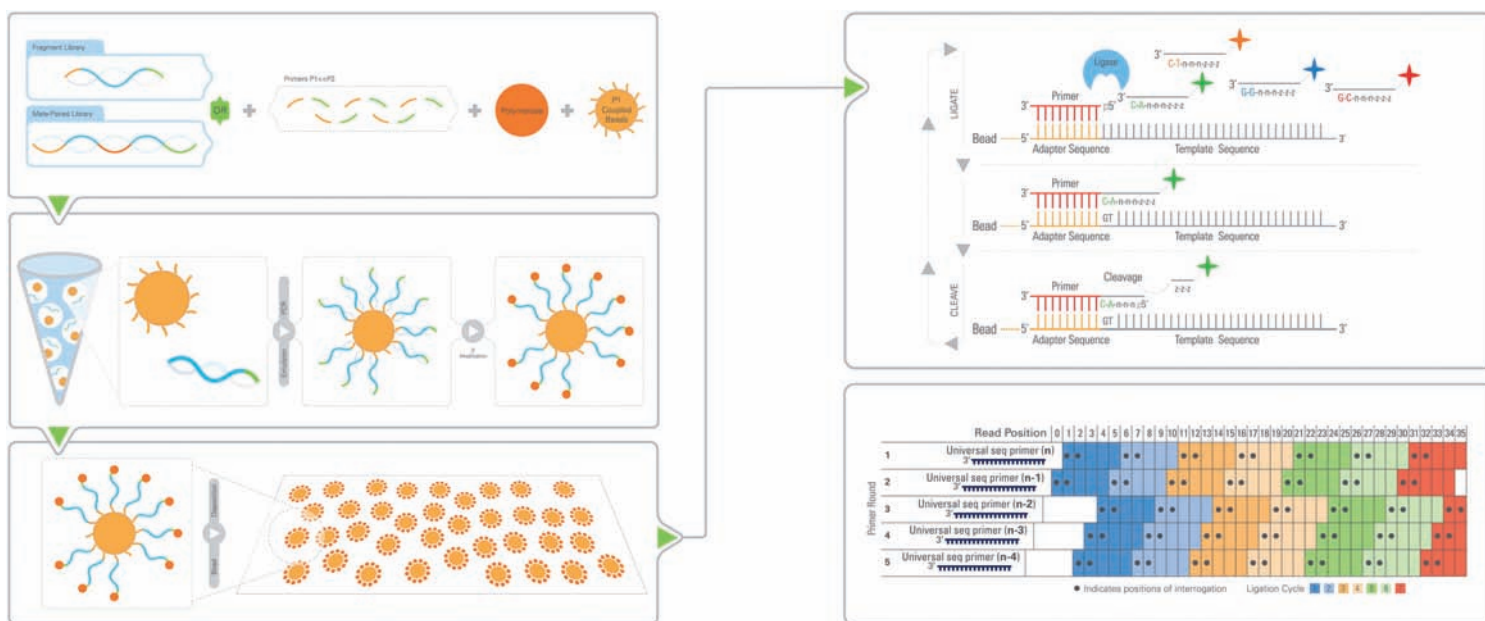


Tabla 4. Genes involucrados en el Síndrome del QT Largo

Gen	Locus	OMIM	Producto Génico	Frecuencia
KCNQ1	11p15.5	607542	potassium voltage-gated channel, KQT-like subfamily, member 1	35-40%
KCNH2	7q35-q36	152427	potassium voltage-gated channel, subfamily H (eag-related), member 2	30-35%
SCN5A	3p21	600163	sodium channel, voltage-gated, type V, alpha subunit	5-10%
ANK2	4q25-q27	106410	ankyrin 2, neuronal	
KCNE1	21q22.12	176261	potassium voltage-gated channel, Isk-related family, member 1	
KCNE2	21q22.12	603796	potassium voltage-gated channel, Isk-related family, member 2	
KCNJ2	17q23.1-q24.2	600681	potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 2	
CACNA1C	12p13.3	114205	calcium channel, voltage-dependent, L type, alpha 1C subunit	
CAV3	3p25	601253	caveolin 3	
SCN4B	11q23.3	608256	sodium channel, voltage-gated, type IV, beta	
AKAP9	7q21-q22	604001	A kinase (PRKA) anchor protein	
SNTA1	20q11.2	601017	syntrophin, alpha 1	

Secuenciación de 2ª generación

Desde que la secuenciación del ADN fue descrita en 1977, sucesivas mejoras en las técnicas y equipos de análisis, así como en la bioinformática necesaria para el análisis, han permitido la automatización y han mejorado el coste de este tipo de análisis genéticos y su utilidad en la práctica médica (Fig 1).

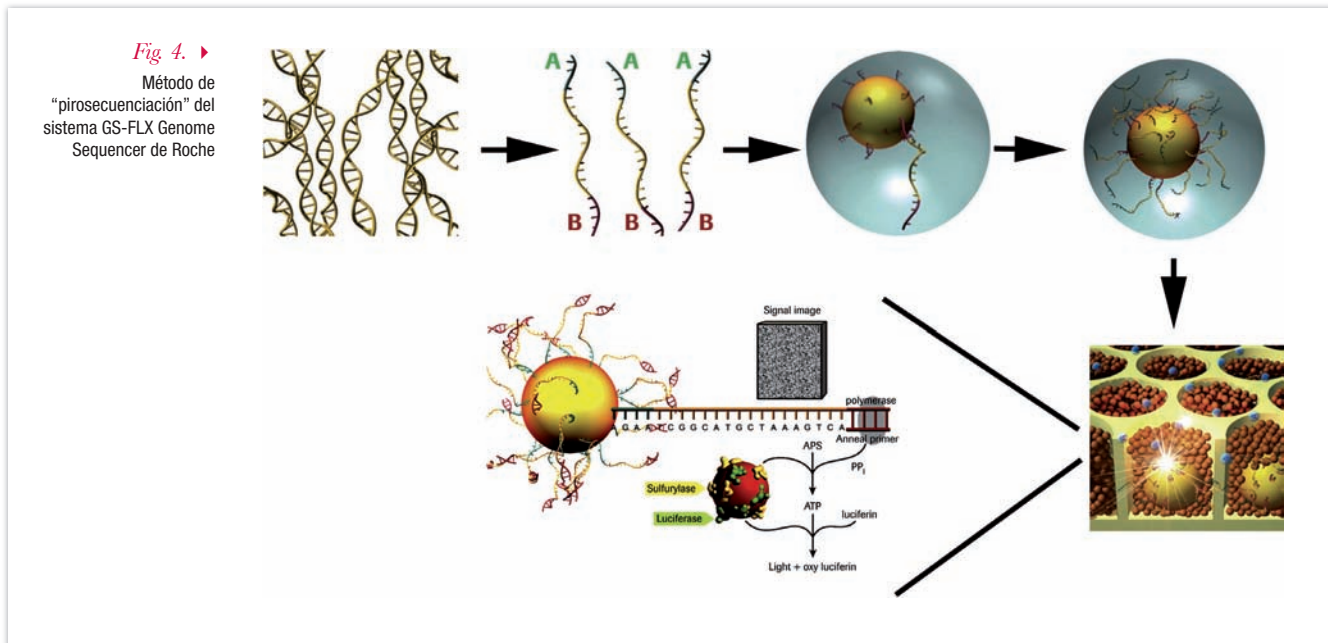
En los últimos dos años han surgido en el panorama de la genómica médica diversos métodos de secuenciación masiva en paralelo denominados genéricamente como “next-generation

sequencing” o secuenciación de segunda generación, que permiten la secuenciación de grandes extensiones de ADN de manera rápida y asequible.

La secuenciación de segunda generación aún no tiene un gran impacto en la clínica diagnóstica, pero con la promesa del “genoma de 1000 dólares” de la mano del proyecto “1000 genomes”, parece cuestión de tiempo para que esta nueva tecnología se implante de manera rutinaria en todos los laboratorios de diagnóstico molecular.

La secuenciación de 2ª generación permite buscar simultáneamente mutaciones en cientos de loci para desórdenes genéticamente heterogéneos, entre los que podemos citar la muerte súbita, así como las principales enfermedades complejas: cáncer, enfermedades degenerativas y accidentes cardio- y cerebrovasculares. Además, la secuenciación masiva en paralelo permitirá abordar de manera más comprensiva disciplinas tales como la farmacogenética y la epigenética, integrando datos globales que permitan interpretar interacciones génicas y mecanismos epigenéticos de regulación en la expresión.

El genoma humano comprende 6000 millones de nucleótidos en dos dotaciones de 23 cromosomas. Las variaciones interindividuales abarcan aproximadamente 6 millones de SNPs (“Single Nucleotide Polymorphisms”), unas 1000 variantes estructurales (SVs) de más de 3 kb y muchas más variaciones estructurales pequeñas, responsables de la variación fenotípica entre individuos.



Las estrategias actualmente empleadas para detectar esta variabilidad pasan por la utilización de arrays de hibridación de SNPs, PCR en Tiempo Real y secuenciación cíclica de Sanger, con lo que la capacidad de detección de variaciones responsables de cambios fenotípicos es relativamente limitada. La llegada de la secuenciación “next-generation” permitirá cambiar la escala en la longitud de la secuencia analizada, pasando de estudios de kilobases a megabases y, a medio plazo, estudios genómicos completos.

Conceptos tales como la PCR en emulsión (“emPCR”), la pirosecuenciación y la “profundidad” de la secuenciación en paralelo, son términos que, por la naturaleza del presente artículo, no podemos abordar en extenso, pero que pronto nos serán ciertamente familiares a los profesionales del diagnóstico molecular.

Sin entrar en grandes complejidades técnicas, haremos a continuación un breve repaso de los fundamentos de las tres principales plataformas de secuenciación masiva, actualmente disponibles: Illumina Genome Analyzer, Applied biosystems SOLID Sequencer y Roche GS-FLX 454 Genome Sequencer.

La tecnología de Illumina utiliza “secuenciación por síntesis” para generar lecturas sencillas de 75 bp con un rendimiento de 17 GB de secuencia en 7 días (*Fig. 2*).

El secuenciador SOLID de Applied se fundamenta en la “secuenciación por ligamiento” secuenciando fragmentos de 50 bp con un rendimiento de 10-15 GB en 3-7 días (*Fig. 3*).

“La capacidad predictiva de la secuenciación masiva se incrementará de manera exponencial acercando el cálculo de riesgo a niveles próximos al diagnóstico correcto”

En cuanto a la tecnología utilizada por Roche y su GS-FLX Genome Sequencer, ésta se basa por un lado en la em-PCR, al igual que Applied, y por otro lado en la “pirosecuenciación”, una metodología que aprovecha la liberación de los pirofosfatos que tiene lugar durante la incorporación de nucleótidos, para generar luz mediante una cascada enzimática. La ventaja sobre sus competidores es que genera secuencias de 400-500 bp, dando lugar a 400-600 Mb de datos en 10 horas, si bien el coste en reactivos es bastante superior al de sus competidores (*Fig. 4*).

Actualmente, cuando hablamos de paneles genéticos predictivos que abarcan 30 o 40 genes, realmente estamos analizando unas decenas de SNPs, con lo que el esfuerzo de análisis se queda en la superficie de la variabilidad de estos genes y, por lo tanto, en la superficie de los cambios fenotípicos que explican el riesgo de padecer la enfermedad. La secuenciación masiva permitirá abordar el análisis de estos 30 o 40 genes de manera global, toda la secuencia y toda la variabilidad que puedan entrañar, por lo que la capacidad predictiva de estos análisis se incrementará de manera exponencial acercando el cálculo de riesgo a niveles próximos al diagnóstico correcto. ■



Juan C. Carril

geneticaforense@ebiotec.com

Referencias Bibliográficas:

- Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP et al. Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry. *Nature* 2008; 456:53-9.
- Corrado D, Basso C, Rizzoli G, Schiavon M, Thiene G. Does sports activity enhance the risk of sudden death in adolescents and young adults? *J Am Coll Cardiol* 2003; 42:1959-63.
- Corrado D, Pelliccia A, Bjornstad HH et al. Cardiovascular pre-competition screening of young competitive athletes for prevention of sudden death: proposal for a common European protocol. Consensus Statement of the Study Group of Sport Cardiology of the Working Group of Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology and the Working Group of Myocardial and Pericardial Diseases of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2005; 26:516-24.
- Fedorco M, Romieu A, Williams S, Lawrence I, Turcatti G. BTA, a novel reagent for DNA attachment on glass and efficient generation of solid-phase amplified DNA colonies. *Nucleic Acids Res* 2006; 34:22.
- Korbel JO, Urban AE, Affourtit JP et al. Paired-end mapping reveals extensive structural variation in the human genome. *Science* 2007; 318:420-6.
- Maron BJ, Carney KP, Lever HM et al. Relationship of race to sudden cardiac death in competitive athletes with hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41:974-80.
- Maron BJ, Gohman TE, Aeppli D. Prevalence of Sudden Cardiac Death During Competitive Sports Activities in Minnesota High School Athletes. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32:1881-4.
- Maron BJ. Hypertrophic cardiomyopathy and other causes of sudden cardiac death in young competitive athletes, with considerations for preparticipation screening and criteria for disqualification. *Cardiol Clin* 2007; 25:399-414.
- Maxam AM, Gilbert W. A new method for sequencing DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1977; 74:560-4.
- Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1977; 74:5463-7.
- Siva N. 1000 Genomes project. *Nat Biotechnol* 2008; 26:256.
- Tucker T, Marra M, Friedman JM. Massively parallel sequencing: the next big thing in genetic medicine. *Am J Hum Genet*. 2009; 85:142-54.