



## ¿Genética molecular versus genética clínica?

La biología molecular ha provocado una revolución en el área del diagnóstico de enfermedades genéticas. En el pasado, el diagnóstico genético estaba basado exclusivamente en criterios clínicos o en pruebas bioquímicas que estudiaban el producto génico o las consecuencias de su ausencia. Sin embargo, en muchos casos estos criterios pueden resultar ambiguos, a la vez que las características de una patología hereditaria pueden llevar años en manifestarse y desarrollarse. En contraposición a esto, los métodos moleculares pueden determinar la presencia o ausencia de una mutación en un gen, tanto en una persona afectada como en un portador. También pueden distinguir dos patologías con fenotipos similares, como es el caso de las diferentes neuropatías motoras-sensoriales hereditarias (tipo Charcot-Marie-Tooth) y las ataxias que se presentan con síntomas clínicos similares (especialmente en los primeros estadios) pero que son el producto de mutaciones en genes diferentes.

Los diagnósticos genéticos requieren sólo de una pequeña cantidad de sangre o de cualquier otra fuente de células nucleadas, de donde se analiza el ADN.

La genómica ha transformado la relación entre la biología y la medicina con la irrupción de las nuevas prácticas de detección precoz, centradas en la noción de predisposición genética a una enfermedad. No todas las enfermedades recaen en una mutación de un único gen (monogénicas); la contribución de diferentes genes con posibles mutaciones debe evaluarse en conjunto con los factores ambientales, al estudiar las causas de una enfermedad. Esta tendencia a predecir enfermedades antes de su manifestación clínica abre muchas expectativas tanto desde el punto de vista médico como económico.

### ¿Qué es un estudio genético?

Existen muchas interpretaciones para estas prácticas; un estudio genético es aquel relativo a un paciente y su familia, con una enfermedad hereditaria o no, que persiguen un objetivo clínico del que luego puede surgir la necesidad de analizar genes o cromosomas. Pero también puede incluir el análisis de los cánceres no hereditarios o derivar en el tratamiento de enfermedades, administración de medicamentos o conductas terapéuticas (farmacogenética).

Aunque la mayoría de los cambios en la composición de bases del ADN no resultan en una enfermedad y son conocidos como polimorfismos, otros sí alteran la función de un gen hasta el grado de manifestar una patología y son conocidos como mutaciones. Estos cambios pueden ser detectados y caracterizados por los exámenes genéticos actuales. Sin embargo, algunos desórdenes son causados por anomalías genéticas a gran escala, como deleciones de grupos de genes y son detectados mediante los nuevos métodos de diagnóstico, como los análisis moleculares de citogenética.

En la mayoría de los diagnósticos, para una interpretación valiosa es importante que el pediatra tenga una fuerte sospecha basada en los signos y síntomas clínicos que le sugieren un primer diagnóstico. También es importante conocer qué significa en cada caso en particular un resultado positivo o negativo.

### ¿Cuáles son las técnicas más frecuentes que se utilizan en el diagnóstico genético?

#### *Análisis indirecto*

El término "análisis indirecto" comúnmente se refiere a los análisis de ligamiento. Estos se usan cuando se conoce la localización del gen, pero el gen por sí mismo y su función se desconocen o cuando el gen es conocido pero las mutaciones son tan variadas y hetero-

géneas que hacen difícil un análisis directo. Además de su importancia indiscutida como herramienta de investigación, el análisis de ligamiento muchas veces puede ser utilizado para identificar portadores heterocigotas y en el diagnóstico prenatal. Esta estrategia de diagnóstico en general requiere de más de un individuo afectado en más de una generación. Bajo tales circunstancias, es posible usar marcadores genéticos dentro o cerca del gen a estudiar y del tipo de patrón de herencia que sigue en una determinada familia o en una población. Los marcadores genéticos –secuencias de ADN que se asocian a una determinada patología– pueden estar cerca del gen o dentro de él e incluyen los llamados RFLP (polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción), repeticiones de secuencias variables en tándem o en número o repeticiones de microsatélites.

#### *Análisis directo mutacional*

Este análisis es usado cuando se conoce para una condición determinada el gen responsable y las mutaciones dentro de dicho gen han sido caracterizadas. Las técnicas usadas en este tipo de análisis son muchas y muy diversas incluyendo hibridación con oligonucleótidos alelo-específicos, análisis de heterodúplex, análisis por Southern blot, PCR (reacción en cadena de la polimerasa), múltiplex PCR, secuenciación de ADN, TaqMan (discriminación alélica). Estas técnicas constituyen hoy en día la base de la mayoría de los estudios que se realizan a nivel genético y por tal motivo es importante conocer sus bases.

Los análisis directos son específicos para cada mutación y no es necesario analizar a los padres o a otros miembros de la familia. Sin embargo, como el resto de los análisis genéticos, aún tienen limitaciones que deben conocerse a la hora de solicitarlos. Muchas enfermedades son causadas por varias mutaciones, las cuales a veces no pueden ser determinadas en un mismo estudio molecular. El ejemplo característico de esta complejidad es el diagnóstico de la fibrosis quística. En la población argentina, cerca del 57% de las mutaciones causantes de la patología se deben a una delección de 3 pares de bases que da como resultado la pérdida de una fenilalanina en

la posición 508 de la proteína de membrana que regula el pasaje iónico. El 43% restante se produce por otras mutaciones, haciendo impracticable un solo análisis en una misma persona para todas las mutaciones causantes de la fibrosis quística; sin embargo, agregando el análisis de otras 10 más frecuentes en nuestra población se abarca el 70% de las mutaciones relacionadas con la patología. Esta diversidad de mutaciones en un simple locus genético se conoce como heterogeneidad alélica. Otra limitación del análisis mutacional directo es el resultado de otro tipo de heterogeneidad genética, conocida como heterogeneidad de locus, en la cual mutaciones en dos o más loci pueden producir el mismo fenotipo; como ejemplo podemos nombrar a la sordera congénita neurosensorial, para la cual se han identificado más de doce loci y por lo tanto, ante una misma patología, hay que analizar todas las posibles causas genéticas que pueden estar involucradas.

Un ejemplo del valor del análisis directo es el diagnóstico de una mutación en el codón 403 del gen de la cadena pesada de la  $\beta$ -miosina cardíaca. La mutación se encuentra en el exón 13 del gen y produce a nivel de la proteína un cambio de una Arg por una Gln. Aunque se han descrito otras mutaciones que producen miocardiopatía hipertrófica familiar, la mutación 403 tiene alta penetrancia y mal pronóstico. Su diagnóstico temprano, aun en ausencia de manifestaciones ecocardiográficas, es de suma utilidad para conductas de prevención. Otras enfermedades que pueden ser diagnosticadas por este método son: acondroplasia, fragilidad del cromosoma X, ataxia de Friedreich, corea de Huntington, distrofia muscular de Duchenne, etc.

Es importante destacar que un análisis mutacional, así como otras formas de diagnóstico molecular, pueden confirmar un diagnóstico cuando el resultado es positivo. Sin embargo, un resultado negativo en muchos casos no determina que el paciente no está ni estará afectado.

#### **Análisis moleculares citogenéticos**

Los análisis citogenéticos son usados para detectar anomalías numéricas o estructurales cromosómicas. Con el advenimiento de la citogenética molecular, con

la técnica de hibridación *in situ* con fluorescencia (FISH), es posible ahora detectar reordenamientos cromosómicos que están por debajo del nivel de resolución de la microscopía usada por los análisis citogenéticos convencionales. Pueden ser usados en el diagnóstico de los síndromes de Williams, Prader Willi, Angelman, DiGeorge, etc.

*Nota:* Los diagnósticos con la técnica de FISH son posibles cuando se conocen las secuencias de un gen o de un grupo génico que se quiere estudiar y cuando la enfermedad o patología en cuestión es el resultado de una delección de ese gen o de esa región crítica. La secuencia, conocida como región crítica, es sintetizada en el laboratorio y marcada con un colorante fluorescente.

### ¿Qué me informa un estudio genético?

Con los avances del Proyecto Genoma Humano y del conocimiento científico en general, el concepto de enfermedad genética se ha ido extendiendo hasta hacer imperceptible la distinción entre enfermedades genéticas y otras afecciones. Esto se ve reflejado en, por lo menos, dos direcciones: 1) la categoría de enfermedad genética ha pasado a incluir los cánceres no hereditarios, ya que implica necesariamente una anomalía en el ADN; 2) en casi todas las afecciones finalmente se ve que un componente genético está involucrado, aunque sea marginalmente. Es posible atribuir, sin caer en la tendencia de “verlo todo color genético”, un componente genético a la mayoría de las enfermedades. Recordemos que: “No se enferma el que quiere sino el que puede”.

La categoría, entonces, de enfermedad genética incluye no sólo a las enfermedades monogénicas clásicas (como por ejemplo la fenilcetonuria) sino también a las enfermedades multifactoriales, a las que contribuyen numerosos genes y factores ambientales (cardiopatías congénitas, defectos de cierre del tubo neural, etc.). En el último tiempo, el Proyecto Genoma Humano ha demostrado que las enfermedades monogénicas son una simplificación de la realidad, dado que la mayoría de los fenotipos son poligénicos y multifactoriales.

Existen dos factores fundamentales de

la información que se obtiene de un estudio genético: 1) informa acerca de la posibilidad de desarrollar una determinada patología. Refleja la predisposición de un individuo a un determinado tratamiento y ayuda al médico a tomar conductas anticipadas, incluso antes de la aparición de síntomas clínicos relacionados con la patología. También puede contribuir con información acerca de la familia y sus posibilidades de padecer o no la enfermedad; 2) por otro lado, un estudio genético abre una discusión en cuanto a las leyes antidiscriminatorias. Según muchos especialistas, la distinción entre examen médico y genético va perdiendo significado y separar del resto la información genética, en un dossier médico, será en un futuro imposible.

Es muy interesante analizar un último aspecto del resultado de un estudio genético: la elección de un medicamento basado en el genotipo. Esta tendencia nueva, de “medicamentos a medida” (farmacogenética) existe gracias a los avances del Proyecto Genoma Humano. Hoy es posible detectar si una persona es metabolizador rápido o lento para drogas como  $\beta$ -bloqueantes, antiarrítmicos, antidepresivos, neurolépticos y analgésicos.

### ¿Cuáles son los beneficios y los riesgos de realizar un estudio genético?

Las personas que tienen un riesgo aumentado de desarrollar alguna patología, producto de un desorden genético hereditario, viven con gran incertidumbre acerca de su salud, la de sus hijos y la de otros miembros de su familia. La realización de un estudio genético puede eliminar esta incertidumbre. Cuando esto sucede y se conoce el estado de salud de un paciente, se puede desarrollar un tratamiento apropiado, incluyendo visitas más seguidas al especialista y la adopción de medidas preventivas.

Los estudios genéticos poseen bajo riesgo físico. Generalmente se pueden hacer a partir de una pequeña muestra de sangre. Sin embargo, el análisis presintomático o la pesquisa de portadores para una patología en particular que tenga serias implicancias en la salud, puede tener profundos efectos psicológicos y no se recomienda hacerlo sin un asesoramiento previo de

cuáles son las implicancias del estudio.

En niños y adolescentes se debe tener especial consideración a la hora de realizar un estudio genético. La Academia Americana de Pediatría recomienda que los estudios genéticos sólo sean ofrecidos cuando exista un beneficio médico inmediato como, por ejemplo, medidas que prevengan la enfermedad, que retrasen su aparición, limiten su severidad o eviten efectos secundarios asociados a dicha patología. Se recomienda, también, ofrecer un análisis genético cuando exista un beneficio para otro miembro de la familia. Cuando los resultados sólo serán utilizados para futuras decisiones reproductivas o cuando los padres lo requieran pero no tengan beneficios directos sobre el niño, se debe retrasar el estudio hasta que ese niño tenga decisión autónoma y pueda afrontar emocionalmente las consecuencias. En cuanto a esto, es fundamental el asesoramiento genético que asegure que el paciente ha recibido adecuada información, que está psicológicamente preparado para asumir los resultados y que el paciente y la familia, de ser necesario, recibirán asistencia médica, psicológica y social para entender el proceso.

#### ¿Cuál es el alcance de estos estudios?

Los estudios de Genética Molecular han aumentado en muchas áreas de la medicina y en particular en pediatría en los últimos años, convirtiéndose en una herramienta innegable no sólo en el momento de tomar una decisión sino también en la práctica diaria. Pero será siempre el médico clínico el que, a través de un correcto planteo diagnóstico, podrá utilizar estas herramientas. La tecnología involucrada en estos procedimientos es compleja y continúan desarrollándose nuevas formas que

permitirán determinar el genotipo de una persona a nivel de muchos loci. Esto incluiría no sólo el locus responsable de un determinado carácter sino también a aquéllos que determinan la susceptibilidad a enfermedades más comunes incluyendo cáncer, aterosclerosis, hipertensión, asma, osteoporosis y también, los que participan en rutas metabólicas más complejas.

Pese a toda la controversia y el estado actual del tema, es fundamental para los pediatras conocer el alcance de los estudios genéticos, sus beneficios y limitaciones. El panorama de la medicina preventiva y predictiva ha cambiado significativamente y los principios de la Genética y la Biología Molecular irán integrándose día a día con la práctica médica trabajando en forma conjunta, colaborativa y complementaria, conformando así un binomio: Genética Molecular con Genética Clínica y viceversa.

*Dra. Alejandra Guerchicoff*

Laboratorios Ibicuy

info@laboratoriosibicuy.com.ar

*Dra. María Gabriela Obregón*

Comité de Genética

Sociedad Argentina de Pediatría

#### REFERENCIAS

- Korf B. Molecular diagnosis. *N Engl J Med* 1995; 332:1218-1220.
- Committee on Genetics. Molecular genetic testing in pediatric practice: A subject review. *Pediatrics* 2000; 106:1494-1498.
- National Institute of Health Consensus. Genetic testing for cystic fibrosis. Development Conference. Statement on genetic testing for cystic fibrosis. *Arch Intern Med* 1999; 159:1529-1539.
- Chertkoff L, Visich AA. El aporte de la biología molecular al estudio de la fibrosis quística en Argentina. *Medicina Infantil* 2001; VIII (2):113-119.