



Viernes 17 de febrero de 2017

**Seminario:
Genética para pediatras**

Ponente/monitora:

■ **Marta Rodríguez de Alba Freiría**

*Doctora en Biología. Servicio de Genética
(Sección Citogenética) de la Fundación Jiménez
Díaz. Madrid.*

**Textos disponibles en
www.aepap.org**

¿Cómo citar este artículo?

Rodríguez de Alba Freiría M. Genética para pediatras.
En: AEPap (ed.). Curso de Actualización Pediatría
2017. Madrid: Lúa Ediciones 3.0; 2017. p. 195-201.

Genética para pediatras*

Marta Rodríguez de Alba Freiría

*Doctora en Biología. Servicio de Genética (Sección Citogenética)
de la Fundación Jiménez Díaz. Madrid.
mrodrigueza@fjd.es*

RESUMEN

El campo de la genética ha experimentado en los últimos años grandes avances en las estrategias diagnósticas de la mano del desarrollo de las nuevas tecnologías. Las distintas técnicas aplicadas al diagnóstico tienen diferentes niveles de resolución y puede que sea necesario la aplicación de varias de estas técnicas para llegar a un diagnóstico. A mayor resolución de las técnicas, mayor es la probabilidad de encontrar variantes genéticas en un paciente. En determinadas ocasiones, las variantes han sido ampliamente descritas, tanto con efecto patogénico como de variante dentro de la normalidad. Sin embargo, en otras ocasiones esta relación "causa-efecto" no es tan clara y el diagnóstico debe apoyarse en una detenida valoración de los genes incluidos en esa variante, así como en su patrón de herencia, las bases de datos que recogen casos de distinta procedencia, así como de publicaciones en las que se hayan descrito casos con una descripción clínica parecida y con una variante genética similar.

La consulta de Asesoramiento Genético es un parte muy importante del análisis genético, tanto pretest como postest. Es en la consulta donde se transmite la información acerca del alcance de los hallazgos, no solo para el paciente sino para el resto de familiares. Se ha de tener en cuenta, además, que estos análisis de

*El presente texto es idéntico al de la edición del 13.º Curso de Actualización en Pediatría 2016, según indicaciones expresas de la autora.

mayor resolución pueden revelar en ocasiones condiciones genéticas que nada tienen que ver con el motivo de consulta.

INTRODUCCIÓN

Los análisis genéticos se están empleando cada vez más para la realización de diagnósticos en otras disciplinas médicas, ya que los avances de las tecnologías permiten correlacionar cada vez más variaciones genéticas con determinadas manifestaciones patológicas. Pero la Genética es algo más que un análisis, es importante conocer las técnicas disponibles, así como el alcance de las mismas, para entender los resultados que se derivan.

Estos análisis genéticos, deben ir además acompañados de un asesoramiento genético que permita a los pacientes entender que estudios se van a realizar, alcance de los mismos, posibles hallazgos e impacto que el resultado puede tener en otros miembros de la familia.

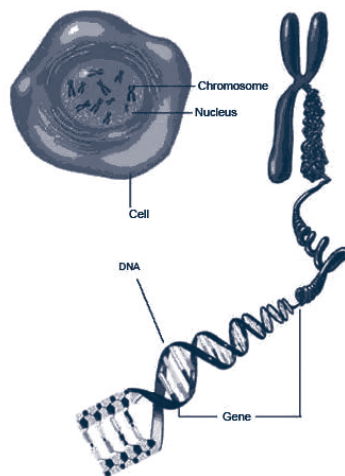
DIAGNÓSTICO GENÉTICO

El diagnóstico genético clásicamente se ha clasificado en dos ramas diagnósticas:

- **Citogenética.** Es el campo de la genética que comprende el estudio de la estructura, función y comportamiento de los cromosomas (cada una de las estructuras altamente organizadas, formadas por ADN y proteínas, que facilita la transmisión de la información en los procesos de mitosis y meiosis).
- **Genética Molecular.** Es el campo de la genética que estudia la estructura y la función de los genes a nivel molecular (a nivel de secuencia del ADN) (Fig. 1).

Asesoramiento genético es el proceso mediante el cual se valoran los antecedentes familiares y médicos para estimar el riesgo de ocurrencia de una determinada enfermedad, indicar las pruebas genéticas adecuadas al caso y promover decisiones informadas y una adaptación al riesgo o condición.

Figura 1. Las células humanas tienen 46 cromosomas



Fuente: <http://dciencia.es/adn-genes-cromosomas>

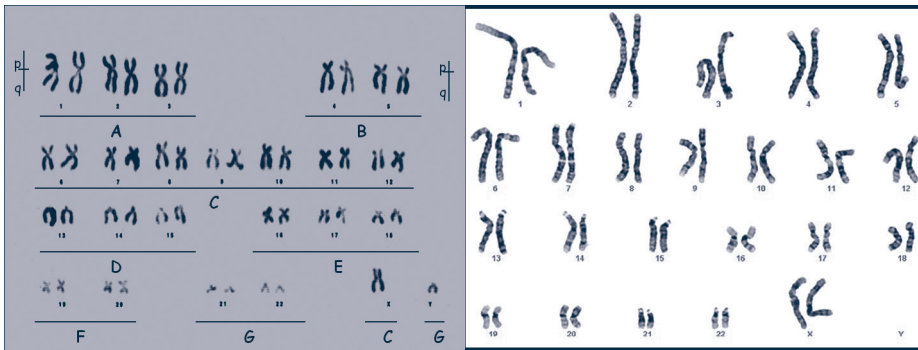
CITOGENÉTICA

El número de cromosomas es exclusivo de cada especie. En el caso de la especie humana este número es de 46, siendo la fórmula sexual en el caso de las hembras XX y XY para los varones.

El tejido más habitualmente utilizado para los estudios de cariotipo postnatales es la sangre periférica. El cultivo de estas muestras en medios específicos en los que se estimula el crecimiento celular, nos permite la obtención de un gran número de divisiones celulares (mitosis) que nos permiten así analizar el complemento cromosómico de un individuo.

En los comienzos de la citogenética, el estudio de los cromosomas se realizaba mediante tinción normal, clasificando los cromosomas tan solo en función de su forma y tamaño. Fue a finales de los años 70, principios de los 80, cuando empezaron a estudiarse mediante técnica de bandeo G. Esta técnica permitió distinguir cromosomas que eran aparentemente iguales por la forma (Fig. 2).

Figura 2. Cariotipo masculino a tinción normal (arriba) y cariotipo femenino 46 XX analizado mediante patrón de bandas G (abajo)



Así, en caso de encontrar un cariotipo de 47 cromosomas en el que el cromosoma extra de pequeño tamaño pertenece al grupo G, podremos distinguir entre una trisomía 21 y una trisomía 22. El contexto clínico en el que pueden encontrarse estas dos trisomías es bien distinto, la trisomía 22 suele diagnosticarse en abortos del primer trimestre, mientras que la trisomía 21 es la responsable del cuadro clínico del síndrome de Down.

Sin embargo, las anomalías cromosómicas no son solo numéricas, sino que también las hay estructurales. Estas variaciones en la estructura de los cromosomas pueden ser de intercambio de material entre diferentes cromosomas (translocaciones), cambio de posición de material genético (inversiones e inserciones) y pérdidas o ganancias de material (deleciones y duplicaciones).

El patrón de bandas G es un patrón estable de bandas oscuras y claras que se repite a lo largo de un cromosoma y los cambios en la estructura del cromosoma se traducen en un cambio en el patrón de bandas. Sin embargo, estos cambios de patrón pueden ser difíciles de identificar si estamos estudiando los cromosomas a un patrón de resolución bajo. El nivel de resolución del cariotipo depende del nivel de bandas que se alcance al tratar las muestras para su estudio, así, nos podemos encontrar patrones de resolución de entre 400 a 850 bandas. Esto quiere decir que lo que a un patrón de 400

bandas puede manifestarse como una banda oscura a un patrón de resolución de 850 bandas puede convertirse por ejemplo en tres bandas oscuras con dos claras intercaladas.

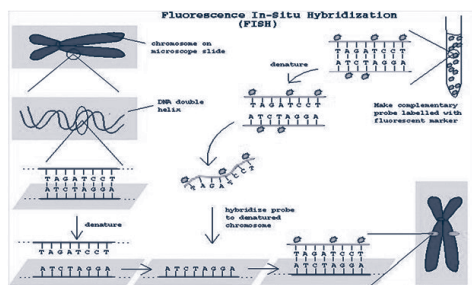
Este aumento en la resolución de los cromosomas permitió el diagnóstico de síndromes como el de Prader-Willi, ya que permitía detectar la deleción específica en el cromosoma 15 responsable del mismo.

Sin embargo, y a pesar del aumento de resolución seguía habiendo una limitación diagnóstica. En el caso del Prader-Willi la banda ausente es oscura y más fácilmente detectable su ausencia (aunque no siempre) pero si esta pérdida de material es en una banda clara, esta es imposible de detectar. Surgió entonces la técnica de FISH. La técnica de hibridación *in situ* Fluorescente, se basa en la utilización de sondas fluorescentes que nos permiten detectar secuencias no visibles con la resolución del microscopio óptico.

En la técnica de FISH se marca con un fluorocromo una secuencia de ADN que es complementaria a la región que se quiere detectar/estudiar (Fig. 3). El análisis con esta técnica se realiza con el microscopio de fluorescencia. Si se visualiza la sonda marcada sobre el cromosoma, esto quiere decir que la secuencia diana está presente en el mismo y por tanto que no hay deleción, sin embargo, si la sonda no está visible sobre el

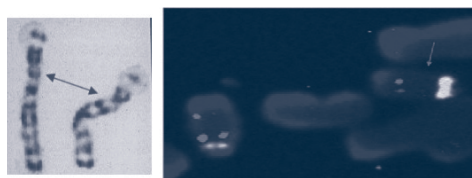
cromosoma, esto quiere decir que la secuencia no está presente y por tanto que el cromosoma presenta una delección (Fig. 4).

Figura 3. Representación esquemática de las técnicas de FISH



Fuente: <http://goo.gl/qlpjCF>

Figura 4. Diagnóstico del síndrome de Prader-Willi en cariotipo de bandas G a alta resolución y mediante técnica de FISH



La técnica de FISH se considera una técnica citogenético-molecular ya que permite la detección de anomalías cromosómicas mediante el empleo de sondas de ADN. Las sondas que se emplean para el diagnóstico se clasifican en 4 grupos en función de la zona del cromosoma a la que van dirigidas:

Centroméricas, dirigidas al centrómero del cromosoma, sirven para realizar contejes de mosaicos e identificar el origen de cromosomas marcadores (por ejemplo, marcador del cromosoma 15).

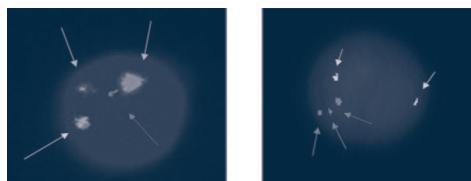
Específicas de secuencia, van dirigidas a una región cromosómica concreta (por ejemplo, síndromes de microdelección).

Sondas de pintado cromosómico identifican material con un origen cromosómico concreto.

Sondas subteloméricas, dirigidas a la secuencia específica de cada cromosoma situada proximal a los telómeros del mismo, son regiones cuya pérdida se ha visto en pacientes con distintos grados de retraso mental.

Una de las grandes aplicaciones de la técnica de FISH ha sido en el campo del diagnóstico prenatal. En un plazo de 24-48 horas esta técnica, aplicada a las células presentes en el tejido fetal (células de líquido amniótico o de vellosidad corial) permite conocer la dotación cromosómica fetal para los cromosomas X, Y, 13, 18 y 21 (Fig. 5).

Figura 5. Células fetales de un varón [X: verde, Y: rojo, en la imagen izquierda] síndrome de Down [3 cromosomas 21 en la imagen derecha]. El feto presenta dos cromosomas 18 (agua, imagen izquierda) y 2 cromosomas 13 (verde, imagen derecha)

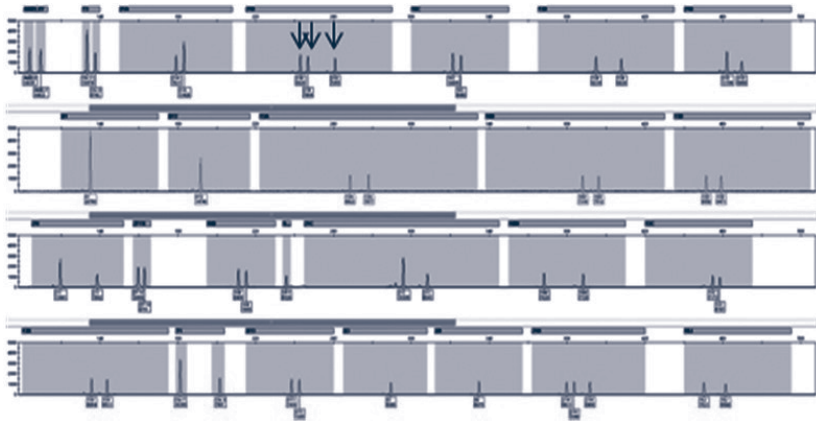


La técnica de FISH no es la única técnica citogenético-molecular aplicada en la rutina diagnóstica. La técnica de QF-PCR es otra de las técnicas que nos permiten diagnosticar anomalías cromosómicas numéricas sin necesidad de obtener células en metafase (Fig. 6).

La técnica de QF-PCR tiene otras aplicaciones como son los estudios de disomías uniparentales. Volviendo al ejemplo del síndrome de Prader-Willi, este no se debe exclusivamente a una delección en el cromosoma 15, sino que también puede deberse porque ambos cromosomas 15 son de origen materno y no existe el cromosoma 15 de origen paterno.

Todos los estudios planteados hasta ahora son dirigidos, es decir, hay una clara sospecha clínica que dirige

Figura 6. Varón síndrome de Down (3 cromosomas 21)



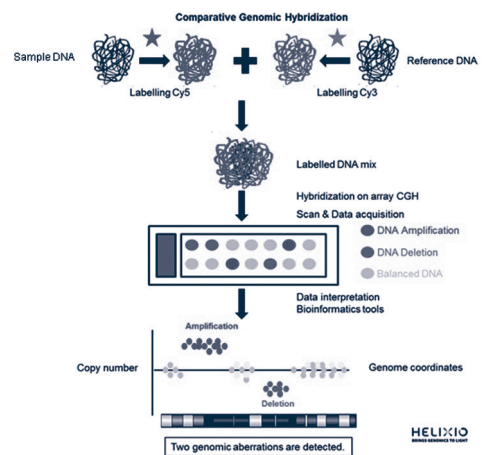
Fuente: <http://www.devysr.com/prenatal-diagnostics---qf-pcr/devyser-compact-v3-qf-pcr>

el estudio en una dirección concreta. Sin embargo, hay rasgos fenotípicos que son comunes a diversos tipos de patologías y patologías que no se manifiestan con un cuadro clínico concreto; esto implica que en un número de pacientes los estudios no pueden ser dirigidos y hay que “rastrear” el genoma en busca de la causa de la enfermedad. Con este propósito surgió la técnica de array-CGH que identifica y analiza alteraciones genéticas del tipo de ganancia o pérdida de material genético en una muestra de DNA en comparación con una muestra de referencia (normal). Ambas muestras están marcadas con distinto fluorocromo e hibridadas sobre una plataforma en la que se encuentran distribuidas secuencias de ADN que cubren todo el genoma (Fig. 7). Esta técnica permite obtener una resolución mayor a la obtenida con el microscopio óptico, así como la obtenida con la técnica de FISH y QF-PCR.

La técnica de array-CGH se puede aplicar con distintos niveles de resolución, en función de la cobertura que se dé a todo el genoma. En el análisis mediante técnica de array-CGH podemos obtener distintos resultados, que no siempre tienen una clara relación con la clínica del paciente:

- Se puede determinar la causa de la clínica del paciente.
- Puede observarse un patrón normal, por lo que no se ha identificado la causa de la enfermedad.

Figura 7. Representación esquemática de la técnica de array-CGH



Fuente: <http://www.helixio.com/contenu/support/technologies>

- Pueden encontrarse variantes poblacionales que han sido heredadas de los progenitores normales.
- Puede detectarse una pérdida o ganancia de material que no se pueda relacionar directamente con la clínica pero que tampoco entre dentro de la normalidad.
- Puede diagnosticarse una enfermedad de desarrollo en el adulto y que no se corresponda con la indicación clínica que ha motivado el estudio (p.ej. hallazgo de una delección en el gen DMD).

GENÉTICA MOLECULAR

Los estudios de genética molecular se realizan a nivel de la secuencia de ADN.

Los estudios más sencillos son los que implican un gen o una enfermedad y en los que generalmente se conocen los fallos más frecuentes del gen, lo que lleva a realizar estudios muy dirigidos (p.ej. estudios de fibrosis quística se conoce el gen responsable y las frecuencias de las mutaciones más frecuentes).

Uno de los grandes avances en el campo de la genética molecular fue la automatización de las técnicas que permitían “leer” (secuenciar) la secuencia de un gen y así poder detectar cualquier mutación (no solo las más frecuentes) presente en el gen.

Más recientemente, se está incorporando a la rutina clínica la secuenciación masiva. Esta nueva forma de secuenciación permite leer varios genes, descritos asociados a una enfermedad concreta, a la vez, aumentando así la capacidad diagnóstica y el tiempo de respuesta.

Para aquellos casos además en los que la sospecha clínica no es sugestiva de una enfermedad concreta y por tanto no se puede sospechar cuales son los posibles genes candidatos, se puede realizar la secuenciación de todo el genoma.

Este nuevo método de secuenciación debe ir acompañado de un soporte bioinformático que permite un filtrado de los datos generados y que puedan dinamizar los estudios.

ASESORAMIENTO GENÉTICO

Una de las diferencias de la Genética con respecto a otras especialidades médicas, es que los beneficiarios del diagnóstico genético no son solo los pacientes, sino también sus familias.

El asesoramiento genético es el proceso de ayudar a las personas a entender y adaptarse a las consecuencias médicas, psicológicas y familiares de una determinada condición genética. Este proceso incluye:

Interpretar los antecedentes familiares y médicos para evaluar el riesgo de ocurrencia o recurrencia de una determinada enfermedad.

Educar acerca de la herencia, las pruebas genéticas disponibles, la prevención, recursos e investigación.

Ofrecer asesoramiento para promover decisiones informadas y una adaptación al riesgo o condición.

Es importante que las personas que se sometan a los test genéticos (o sus representantes) entiendan el alcance de las técnicas y la repercusión de la información que se obtenga, así como que el resultado del mismo puede tener repercusión en más miembros familiares y de que puede surgir la necesidad de hacer extensibles los estudios a estos miembros familiares.

BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA

- AEGH. Asociación Española de Genética Humana. Disponible en <http://www.aegh.org/home/>

- DECIPHER v9.4: Mapping the clinical genome. Disponible en <https://deciphersanger.ac.uk/>
- Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM). An Online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders. [Actualizado el 23 dic 2015]. Disponible en <http://www.omim.org>
- Orpha.net. París: Orphanet; 2000. Portal de información de enfermedades raras y medicamentos huérfanos. Disponible en <http://www.orpha.net>
- Sociedad Española de Asesoramiento Genético. Disponible en <http://www.seagen.es/>

