

MANLAB®

Diagnóstico Bioquímico y Genómico

Utilidad de los estudios genéticos en la práctica clínica

 16 min.

A partir de los resultados del proyecto genoma humano, en los últimos años las técnicas moleculares se han instalado en la práctica cotidiana como una herramienta fundamental para la determinación de numerosas enfermedades genéticas. El siguiente trabajo realizado por profesionales del Área de Medicina Genómica de Laboratorio Manlabnos presenta un informe completo con diferentes técnicas utilizadas en el área diagnóstico. Esto permitirá tener una medicina predictiva, preventiva y personalizada transformándola en una medicina precisa..



Francisca Masllorens, médica especialista en genética, Área Medicina genómica Laboratorio Manlab. Servicio de genética del Hospital Posadas. Servicio de genética del Hospital Austral.

Perez Maria Silvia. Bioquímica. Dra de la UBA en Área de Biología molecular. Servicio de medicina genómica. Laboratorio Manlab



Área de Medicina Genómica de Manlab
e-mail: francisca.masllorens@manlab.com.ar



Introducción

En los últimos años, a partir de los

resultados del proyecto genoma humano, las técnicas moleculares se instalan en la práctica cotidiana como una herramienta fundamental para el diagnóstico de numerosas enfermedades genéticas. Ésta área de diagnóstico se vio ampliamente transformada debido al desarrollo de técnicas de secuenciación del ADN, tamizaje poblacional de portadores, detección de mutaciones prenatales, diagnóstico genético preimplantatorio, y actualmente con análisis genómico, de microarrays y secuenciación de nueva generación.

Históricamente, los estudios genéticos clínicos se han limitado a la detección de mutaciones germinales para enfermedades mendelianas. Sin embargo, estudios de genómica asociada (GWAS) han permitido identificar variantes en la secuencia del ADN, que contribuyen a la susceptibilidad para enfermedades comunes, otros rasgos complejos y variabilidad de respuesta a fármacos (farmacogenética). Se detectan así, mutaciones génicas que otorgan susceptibilidad individual o predisposición para padecer alguna enfermedad común del adulto de origen multifactorial, como cáncer de mama, colon o próstata, arterioesclerosis, hipertensión arterial, epilepsia, diabetes y otras.

Usos de las pruebas genéticas

Los estudios genéticos/genómicos, son utilizados actualmente para confirmar el diagnóstico de una enfermedad genética, búsqueda de marcadores de riesgo para enfermedad, o determinar estado de

portador heterocigoto asintomático de una enfermedad recesiva. La información obtenida permite guiar decisiones médicas terapéuticas, instaurar una terapia personalizada o evaluar el riesgo de un individuo de desarrollar enfermedades crónicas comunes. Los estudios son de relevancia no sólo para el individuo sino también para otros miembros de la familia.

La detección sistemática o tamizaje neonatal es la prueba genética más realizada. Existe legislación para realizar una detección sistemática de diferentes enfermedades genéticas en recién nacidos. Gracias a la detección oportuna de estas enfermedades, se pueden realizar intervenciones para prevenir la aparición de los síntomas o minimizar la gravedad de la enfermedad.

Los estudios de detección de portadores pueden ayudar a las parejas a saber si son portadores, y en tal caso, el riesgo de transmisión a sus hijos del alelo mutado para una enfermedad recesiva como la fibrosis quística, la anemia falciforme o la enfermedad de Tay-Sachs. Por lo general, se recomienda este tipo de pruebas a aquellas personas que tienen antecedentes familiares de trastornos genéticos o a los miembros de un grupo étnico con un mayor riesgo de contraer ciertas enfermedades genéticas. Al realizar la prueba a ambos progenitores, se puede determinar si la pareja tiene probabilidades de tener un hijo con una enfermedad genética en particular.

Las pruebas de diagnóstico prenatal sirven para detectar alteraciones en los cromosomas o genes de un feto. Este tipo

de pruebas se recomienda a las parejas que presentan un mayor riesgo de tener un hijo con un trastorno genético o cromosómico. Para realizar la prueba, se puede obtener una muestra de tejido a través de amniocentesis o de vellosidad corial. Actualmente existen estudios prenatales no invasivos como el ADN libre fetal en sangre materna para obtener información vinculada a las cromosopatías de mayor prevalencia (trisomías 21, 18 y 13) así como a las alteraciones vinculadas a los cromosomas sexuales.

Las pruebas de **diagnóstico genético** pueden usarse para confirmar una sospecha clínica en un individuo que presenta ciertos síntomas de una enfermedad o la respuesta a un tratamiento médico. Un ejemplo de esto es el estudio molecular del gen FMRI en un individuo de sexo masculino con retraso mental para el diagnóstico de síndrome de X frágil.

Los tests predictivos o de predisposición sirven para identificar a las personas con riesgo de padecer una enfermedad antes de la aparición de los síntomas. Estas pruebas son muy útiles cuando una persona tiene antecedentes familiares de una enfermedad en particular y existe un método de intervención disponible para prevenir la aparición de dicha enfermedad o para minimizar su gravedad. Las pruebas predictivas sirven para identificar las mutaciones que aumentan el riesgo que

una persona desarrolle una enfermedad de origen genético, como es el caso de algunos tipos de cáncer. Aquellos padecimientos en que el diagnóstico predictivo ha tenido un mayor impacto, son las enfermedades neurodegenerativas (p. ej. enfermedad de Huntington), los síndromes de cáncer familiar, y el diagnóstico prenatal. El diagnóstico predictivo no se ofrece a menores de edad, excepto cuando el padecimiento se inicia a una edad temprana y cuando se cuenta con estrategias preventivas, como es el caso de algunos síndromes de cáncer familiar.

El prototipo del protocolo de diagnóstico predictivo presintomático es el desarrollado para la enfermedad de Huntington, padecimiento neurodegenerativo hereditario que se inicia en la edad adulta. Dentro de las estrategias propuestas, el consejo genético pre y post-prueba (reforzado mediante un documento de consentimiento informado) constituye la parte medular, y es un proceso activo de comunicación entre el asesor genético y su paciente.

Las recomendaciones más relevantes para el diagnóstico predictivo son:

1. El asesoramiento genético previo al estudio;
2. La libertad del individuo para tomar o rechazar la prueba;

3. Seguimiento a largo plazo del individuo;
4. Explicación detallada acerca de en qué consiste la prueba y cómo se realiza
5. Explicación sobre las consecuencias que pueda tener para el individuo y su familia

Otra área en la cual el diagnóstico predictivo ha tenido un gran impacto es en el cáncer hereditario. Los tests genéticos que estudian la predisposición a alguna enfermedad se refieren a tests que implican, en el caso de ser positivos, un mayor riesgo de sufrir una enfermedad en particular, pero sin que se pueda asegurar que van a presentar la enfermedad. En la mayoría de las personas el cáncer se presenta en forma hereditaria en menos del 5% de los casos. La ventaja del diagnóstico predictivo es que en muchos casos mejoran las estrategias de prevención, la vigilancia, el pronóstico y el tratamiento, a su vez que les permite tener una estimación más real del riesgo que corren.

En la actualidad se cuenta con el diagnóstico predictivo para el síndrome del cáncer de mama-ovario familiar (BRCA1 y BRCA2), para el cáncer de colon hereditario no-polipósico (MLH1, MSH2) y para las mutaciones menos frecuentes en otros genes, poliposis adenomatosa familiar (APC), MEN2 y carcinoma medular de tiroides familiar (RET), síndrome de Li-Fraumeni (p53), melanoma familiar (p16) y retinoblastoma (RB1). La estrategia a seguir en los individuos en los que se detectó de



BioRobotQIAcube

tecnolab



Características

- Mismos kits que la extracción manual
- Misma química y forma de trabajo

Beneficios

- Estandarización de resultados
- Fácil de usar
- Olvídense del procesamiento de columnas y ahorre tiempo!

Solución automatizada para la purificación de ácidos nucleicos y proteínas recombinantes

manera presintomática una mutación, incluye exámenes clínicos, de laboratorio periódicos, modificar su estilo de vida (disminuir los carcinógenos exógenos), quimioprevención e, incluso, cirugía profiláctica. Por el contrario, al excluir la posibilidad de una mutación en una persona en riesgo, le evitará someterse a procesos agresivos innecesarios.

Cuando la mutación heredada produce un padecimiento para el cual se cuenta con medidas de vigilancia o de prevención importantes, se justifica hacer un diagnóstico predictivo en niños o adolescentes. Un ejemplo serían las mutaciones germinales en el oncogen RET, que dan lugar a la neoplasia endocrina múltiple tipo 2 (MEN 2), en cuyo caso la tiroidectomía profiláctica a edad temprana puede salvar la vida del paciente.

Test de pronóstico y recurrencia, son estudios de 2ª generación que estudian la huella genética de los tumores. Con estos datos se calcula un score que permite evaluar la probable recurrencia del tumor y/o metástasis. Estos estudios, permiten estratificar tratamientos en pacientes con cáncer de mama. Ej. **EndoPredict**: este es un test pronóstico de diagnóstico in vitro de segunda generación que determina el riesgo de metástasis a distancia en pacientes con cáncer de mama primario Receptor de Estrógenos positivo y Her-2 negativo. Endopredict es el único test de este tipo que, considera dos factores clínicos de pronósticos importantes y muy utilizados, como son el tamaño del tumor y el estado de los ganglios linfáticos; de este modo, con los datos clínicos y genéticos, calcula un score que brinda información sobre la probable recurrencia del tumor.

TIPOS DE PRUEBAS GENÉTICAS

Se utilizan diferentes métodos en los laboratorios para pruebas genéticas. El tipo de prueba depende del tipo de anomalía que se esté evaluando. Por lo general, hay tres tipos de pruebas genéticas disponibles: citogenéticas, bioquímicas y moleculares.

Estudios citogenéticos

La citogenética implica la evaluación de todos los cromosomas para detectar anomalías. Los cromosomas de las células humanas en división pueden analizarse sin problema bajo un microscopio. Los glóbulos blancos, particularmente los linfocitos T, son las células más disponibles y más accesibles para análisis citogenéticos ya que pueden obtenerse fácilmente de la sangre y se dividen rápidamente en un cultivo celular. Las células de los tejidos como la médula ósea (para la leucemia), el líquido amniótico (para el diagnóstico prenatal) y las biopsias de otros tejidos también se pueden cultivar para realizar análisis citogenéticos. Tras varios días de cultivo celular, los cromosomas se fijan, se distribuyen en las láminas portaobjetos de microscopio y finalmente se tiñen. Los métodos de tinte para los análisis de rutina permiten identificar a los cromosomas en forma individual. Los diferentes patrones de bandas de cada cromosoma revelados por el tinte permiten analizar cada una de las estructuras cromosómicas.

Para el estudio de alteraciones más pequeñas, es posible realizar hibridación *in situ* fluorescente (FISH), la cual incorpora elementos de la biología molecular al utilizar sondas marcadas. Frente a la sospecha de una enfermedad por microdelección se podrá indicar el análisis de Fish específico para la región crítica de ese síndrome. Ej: Síndrome de Prader Willi/ Angelman, Síndrome de Williams, Síndrome de DiGeorge.

Estudios bioquímicos

La enorme cantidad de reacciones bioquímicas que ocurre a diario en las células requiere diferentes tipos de proteínas. Por lo tanto, hay diferentes tipos de proteínas como enzimas, transportadores, proteínas estructurales, proteínas reguladoras y hormonas que cumplen diferentes funciones. La mutación de cualquier tipo de proteína puede causar una enfermedad si esta mutación no permite que la proteína funcione correctamente. Las pruebas clínicas para detectar una enfermedad bioquímica usan técnicas que analizan las proteínas pero no los genes. Las pruebas pueden usarse para medir directamente la actividad de una proteína

(enzima), el nivel de metabolitos (medición indirecta de la actividad de una proteína) y el tamaño o la cantidad de proteínas (proteínas estructurales). Para estas pruebas se necesita una muestra de tejido que contenga la proteína, por lo general, en la sangre, la orina, el líquido amniótico o el líquido cefalorraquídeo. Dado que las proteínas son menos estables que el ADN y pueden degradarse más rápido, las muestras deben tomarse y almacenarse en forma adecuada y luego trasladarse rápidamente según las instrucciones del laboratorio.

Estudios moleculares

Para las pequeñas mutaciones de ADN, las pruebas directas del ADN suelen ser el método más eficaz, especialmente si la función de la proteína es desconocida y no se puede desarrollar una prueba bioquímica. Las pruebas de ADN se pueden realizar en cualquier muestra de tejido, incluso con muestras muy pequeñas. Las pruebas moleculares representan un gran desafío ya que algunas enfermedades genéticas pueden estar relacionadas con un gran número de mutaciones diferentes. Por ejemplo, más de 1,000 mutaciones en el gen regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR, por sus siglas en inglés) pueden causar la fibrosis quística (CF, por sus siglas en inglés). No sería práctico examinar de rutina toda la secuencia del gen CFTR para identificar la mutación causante, ya que el gen tiene una gran longitud. Sin embargo, dado que la mayoría de los casos de CF surgen como consecuencia de aproximadamente 30 mutaciones, primero se evalúa este grupo más pequeño de mutaciones y luego se realiza un examen más global.

Actualmente existen otros estudios que permiten ampliar el diagnóstico de diversas patologías genéticas. Las técnicas como el MLPA para deleciones subteloméricas, análisis de microarrays, secuenciación del exoma, permiten aumentar la tasa de diagnóstico de enfermedades genéticas

- Análisis de **Microarrays** permiten:
 - Medir la expresión de genes, por ejemplo en un tumor (Microarray expresión

analysis)

- Estudiar la mutación de un gen, en una enfermedad hereditaria (Microarray mutation analysis)

- La hibridación genómica o CGH (Hibridación genómica comparativa) es una herramienta de análisis que permite un escaneado global de segmentos del genoma para detectar la presencia de ganancias o pérdidas respecto a un patrón conocido.

- **MLPA:** multiplex ligation probe amplification: Esta técnica de laboratorio nos permite detectar con alta especificidad y sensibilidad microduplicaciones y microdelecciones de exones, así como también cambios en el número de secuencias genómicas. Esta técnica molecular se ha convertido en una herramienta indispensable en el correcto diagnóstico de patologías originadas por alteraciones genéticas del tipo dupl/del.

- **NGS:** next generation sequencing: Estas técnicas de última generación, también

llamada secuenciación masiva, permiten obtener numerosas secuencias a una gran velocidad y a costos reducidos.

Esta metodología permite analizar paneles de genes, esta propiedad la convierte en una herramienta molecular muy valiosa en situaciones clínicas que poseen más de un gen asociado (ej. epilepsias, fiebre periódica familiar, etc.) Con este tipo de tecnología es posible realizar en estudio de todos los genes asociados a un determinado desorden en un solo ensayo.

Aun cuando NGS es la técnica más innovadora en medicina genómica, el gold standard en las metodologías de secuencia sigue siendo la tradicional técnica de Sanger.

Implicancias éticas, legales y sociales

El diagnóstico de una enfermedad o condición genética no sólo tiene implicancias para el caso índice, sino también para otros miembros de su familia actual e incluso futura, lo que hace necesario otorgar asesoramiento genético a todos los

involucrados.

En los casos en que el resultado del test determine que la causa es genética y heredable surge, además, la posibilidad de discriminación y estigmatización de los pacientes. Esto exige que el laboratorio asegure privacidad a los pacientes, garantizando la confidencialidad de toda la información relacionada con él (o ella) durante todas las fases del proceso.

El progreso en el conocimiento de numerosos nuevos genes y la posibilidad de estudiarlos, ha generado grandes expectativas. Para lograr la mayor utilidad clínica de estos estudios, es necesaria una estrecha relación entre el médico clínico y el laboratorio, ya que la certeza diagnóstica depende de la indicación del test más adecuado. De la misma forma, el laboratorio debe intentar proveer al clínico una interpretación precisa de los resultados, así como de los datos de sensibilidad y especificidad del test.

 **BD Vacutainer®**

Líder en Soluciones Preanalíticas

El sistema para colecta de orina **BD Vacutainer®** ofrece practicidad ya que a través de un sistema de vacío y cerrado, la muestra puede ser conservada por mayor tiempo y a temperatura ambiente hasta su posterior análisis.



Para contactarse, llámenos al:
0800-444-55BD (23) o escribanos
a: vacutainer@bd.com



En conclusión, el conocimiento del genoma humano y el desarrollo de las técnicas moleculares, le permiten a la medicina ser **predictiva, preventiva y personalizada** transformando así a la medicina tradicional empírica en una **medicina precisa**. La posibilidad de la identificación de variantes genéticas que se asocian al riesgo de padecer determinadas patologías y poder predecir la respuesta al tratamiento de acuerdo a las características genéticas del paciente y su enfermedad. Estos son los hechos que están marcando el punto de inflexión de la medicina tradicional.

De acuerdo a la frase de F Collins (Director del proyecto genoma humano. National Human Research Institute, NIH) que expresa: “*Salvo en casos de trauma físico, es lícito afirmar que virtualmente toda enfermedad humana tiene un componente hereditario*” la medicina preventiva, trata de promover la salud y el bienestar del paciente tratando de detectar en forma precoz la susceptibilidad a desarrollar diferentes patologías. Por este motivo se expresa que la medicina del siglo XXI evolucionara desde un modelo de diagnóstico y tratamiento hacia un modelo predictivo y de prevención.

Tanto pacientes como la comunidad de profesionales de la salud, cuentan con MANLAB para realizar diagnóstico bioquímico y genético, que con su laboratorio de alta complejidad y mediante convenios internacionales pone a disposición del paciente la tecnología de vanguardia propia y del Baylor College of Medicine así como la de otros laboratorios líderes a nivel mundial para los estudios que aun no se realizan en nuestro país.

Cumpliendo con su meta de educación para una mejora continua Manlab anualmente organiza diferentes reuniones científicas con profesionales de primer nivel para brindar actualización en esta área, tal como lo hizo conjuntamente con Myriad Genetics en 2014 o con Baylor College of Medicine en el corriente año. Estos encuentros científicos, nos permiten actualizar, intercambiar opiniones y conocimientos y en este caso fortalecer el vínculo con Baylor –Miraca Genetics Laboratories y Myriad genetics que nos

ofrecen a través de Manlab la tecnología y experiencia de los laboratorios de genética más importante del mundo.



Bibliografía

1. Abul-Husn NS, Owusu Obeng A, Sanderson SC, Gottesman O, Scott SA. Implementation and utilization of genetic testing in personalized medicine. *Pharmacogenomics and Personalized Medicine*. 2014; 7: 227-240. doi: 10.2147/PGPM.S48887.
2. European Society of Human Genetics Center for Biomedical Ethics and Law - BOX 7001, KU Leuven, Kapucijnenvoer 35/3, Leuven 3000, Belgium. E-mail: Pascal.Borry@med.kuleuven.be. Statement of the ESHG on direct-to-consumer genetic testing for health-related purposes. *European Journal of Human Genetics*. 2010; 18(12): 1271-1273. doi:10.1038/ejhg.2010.129.
3. Institute of Medicine (US) Roundtable on Translating Genomic-Based Research for Health. The Value of Genetic and Genomic Technologies: Workshop Summary. Washington (DC): National Academies Press (US); 2010. 1, Introduction. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK52760/>
4. Health improvement: Ron L. Zimmern and Mark Kroese. The evaluation of genetic tests. *J Public Health* (2007) 29 (3): 246-250.
5. Pruebas Genéticas Predictivas. Aspectos Médicos, Éticos y Sociales. Conferencia Pronunciada en la XLV Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Investigación Clínica, Mar del Plata, Argentina, 22-25 de Noviembre, 2000. Dr. Víctor B. Penchaszadeh
6. Prieto, M. H. (2010). Sobre la utilidad clínica del diagnóstico genético. *Galicia Clínica*, 71(4), 148-150.

MANLAB®

Diagnóstico Bioquímico y Genómico