

## Consejo genético. Diagnóstico de las enfermedades monogénicas y cromosómicas

MT Vargas de los Monteros, MC Fernández-Novoa García

Unidad de Genética. Dpto. Anatomía patológica. H.U. Virgen Macarena. Sevilla.

Los trastornos de origen genético han adquirido gran importancia en los últimos años, motivo por el cual los médicos son requeridos para dar su consejo en asuntos relacionados con este tipo de anomalías.

El consejo genético es un proceso, que tiene como finalidad la aportación de información objetiva sobre la enfermedad. Se enfrenta con tres grandes áreas: el diagnóstico; la información sobre la enfermedad y el cálculo del riesgo de aparición y recurrencia de una alteración genética en la descendencia.

Para poder establecer un buen consejo genético se necesita establecer antes un diagnóstico preciso. Es obvio que ésta es la piedra angular del consejo genético. El establecimiento de un diagnóstico requiere indagar en la historia médica del probandus, obtener la historia familiar de ambas ramas de la familia, un examen adecuado, tanto del probandus, como de los miembros de la familia, a la vez que se desarrollarán las investigaciones adecuadas.

Aquí nos centraremos, fundamentalmente, en el diagnóstico en el diagnóstico de las enfermedades monogénicas y las cromosomopatías.

### ENFERMEDADES MONOGÉNICAS

Comenzaremos con el diagnóstico de las enfermedades monogénicas. El origen de estas alteraciones está en mutaciones genéticas responsables de síndromes monogénicos.

Las mutaciones son cambios en la estructura del DNA genómico, cuando la mutación está presente en las células germinales (gametos) se transmite y formará parte del genoma de la descendencia. Las alteraciones que puede sufrir un gen pueden ser: deleciones (pérdida de material genético), inserciones (aparición de material genético nuevo), y sustituciones (sustitución de una base por otra).

El patrón de transmisión de las enfermedades monogénicas, puede seguir diferentes tipos, dependiendo de la entidad y se rigen por las leyes de Men-

del con algunas variaciones; nos vamos a encontrar con:

Herencia autosómica dominante, herencia autosómica recesiva, herencia dominante ligada al sexo, herencia recesiva ligada al sexo.

**La herencia autosómica dominante:** afecta por igual a varones y a mujeres; no hay salto de generaciones; la descendencia tendrá un 50% de posibilidades de ser enfermos y un 50% de posibilidades de ser sanos.

Cuando en una familia aparece por primera vez este tipo de herencia es por neomutación.

Al elaborar un árbol genealógico de una enfermedad sospechosa de tener un patrón autosómico dominante, debemos tener en cuenta la penetrancia, la expresividad y la edad de aparición del trastorno.

Los síndromes más frecuentes con una herencia autosómica dominante son: enfermedad de Apert, enfermedad de Crouzon, enfermedad de Franceschetti, diostosis cleidocraneal, acondroplasia, enfermedad de Lobstein, oligodactilia, braquidactilia, sindactilia, enfermedad de Holt-Oran, síndrome de Marfan, enfermedad de Bourneville, corea de Huntington, enfermedad de Von Recklinghausen, blefarofimosis, coloboma, cataratas, glaucoma, retinoblastoma, enfermedad de Ehlers-Danlos, enfermedad de Hirschprung, enfermedad de Peutz-Jeghers y la enfermedad de Steinert.

**Herencia autosómica recesiva,** los criterios para poder identificar este tipo de enfermedades son: afectan por igual a varones que a mujeres; hay salto de generaciones, la descendencia tendrá un 25% de posibilidades de ser enfermos, un 25% de ser sanos y un 50% de ser portadores.

Dentro de la herencia autosómica recesiva los síndromes más frecuentes con los que nos podemos encontrar son: lipidosis y dentro de ellas las enfermedades de Gaucher, Niemannpick, Krabbe, Tay-Sasch y gangliosidosis tipos I y II. Dentro de las mucopolisacaridosis nos encontramos con las enfermeda-

des de: Hurler, Morquio y San Filippo y por último, la glucogenosis y la leucinosis.

Los criterios para la identificación de una enfermedad con **herencia recesiva ligada al cromosoma X** son: afectan, fundamentalmente, a varones; las mujeres son portadoras. El 50% de los hijos varones serán enfermos y el 50% serán sanos. El 50% de mujeres serán portadoras y el 50% serán sanas.

Dentro de los desórdenes principales ligados al cromosoma X nos ocuparemos de aquéllos en los que pueden detectarse manifestaciones en las mujeres heterocigotas, entre ellos tenemos: displasia ectodérmica antihidrótica, distrofias musculares de Duchenne y Becker, diabetes insípida nefrogénica, enfermedad de Fabry, deficiencia G6 PDH; hemofilias A y B, enfermedad de Lowe y por último, el albinismo ocular.

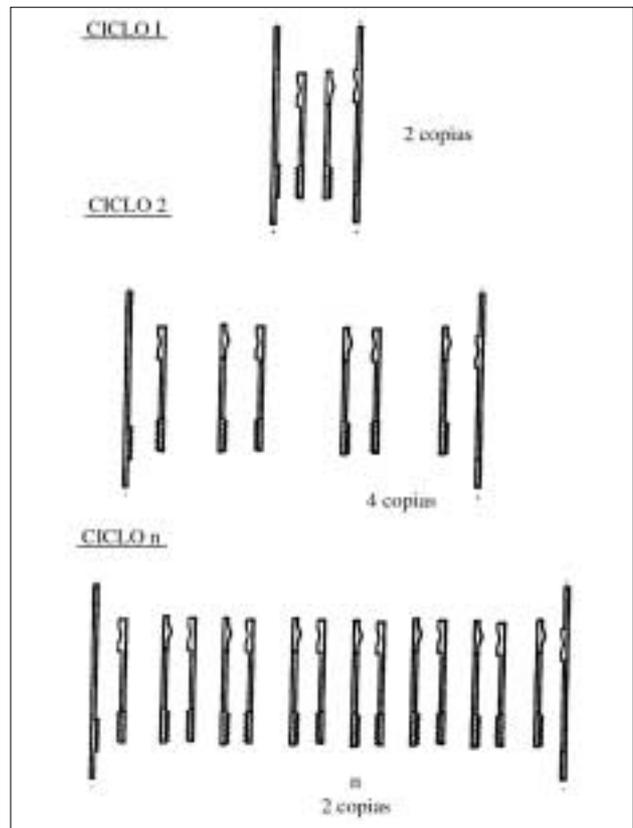
## TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO EN LAS ENFERMEDADES MONOGÉNICAS

Trataremos, sobre todo de las técnicas de DNA recombinante que son las que tienen mayor aplicación en la genética clínica. Hoy en día con una muestra de cualquier tejido del probandus podremos analizar, siempre que el gen esté secuenciado, si dicho individuo tiene esa enfermedad.

Comenzaremos con la técnica de SOUTHERN BLOT: el southern blot se utiliza para detectar secuencias de DNA complementario en presencia de gran cantidad de DNA no complementario. Una vez obtenidos los fragmentos de DNA por medio de enzimas de restricción, se hacen correr por un gel de agarosa, tras su desnaturalización, son transferidos a una membrana de nilón. Posteriormente, pondremos la membrana en contacto con DNA marcado ya sea radiactivamente o con una molécula no radiactiva; a este DNA marcado se le denomina **SONDA** y es complementario al DNA problema, por lo que en condiciones adecuadas hibridará con él, estas bandas de hibridación se pueden detectar mediante revelado, y se pueden estudiar.

El método es sumamente sensible e incluso se puede emplear para mapear sitios de restricción a lo largo de un gen presente en una sola copia, en un genoma completo.

**NORTHERN BLOT:** la técnica de Southern ha resultado sumamente útil, pero no se puede aplicar directamente al RNA ya que éste no se unía al nilón, por lo que en la actualidad se utilizan filtros de nilón



**Figura 1.** La PCR es un método de diagnóstico que permite la amplificación del segmento de DNA deseado hasta millones de veces en pocas horas.

cargados positivamente; una vez unido se pone en contacto con la sonda y las bandas que hibridan se revelan y se realiza el diagnóstico.

**REACCIÓN DE LA POLIMERASA EN CADENA (PCR):** La técnica de la PCR ha revolucionado el diagnóstico en la genética clínica. Esta técnica es capaz de detectar cualquier secuencia de DNA de interés en: DNA clonado en plásmidos; DNA geonómico total; bacterias; células eucariotas en cultivo, muestras de tejido fresco y en parafina.

La PCR es un método que permite la amplificación del segmento de DNA deseado hasta millones de veces en pocas horas.

Se basa en la capacidad enzimática de la polimerasa de extender cortos oligonucleotidos (**PRIMERS**), complementarios a la cadena de DNA en estudio (DNA plantida), permitiendo la amplificación de ésta.

Las aplicaciones de esta técnica son múltiples así, se utiliza en: detección de enfermedades genéticas tales como la  $\beta$ -talasemia, fibrosis quística, distrofias

de Duchenne y Becker, corea de Huntington, fenilcetonuria etc..

Determinación del sexo, por medio de secuencias específicas del cromosoma X y del Y.

Microbiología: tos ferina, *Salmonella*, virus de papilomas, citomegalovirus, virus herpes, etc..

En oncología molecular se utiliza para la detección de oncogenes, antioncogenes, cuantificación de antioncogenes, y para la contribución al diagnóstico y pronóstico de las neoplasias.

En medicina legal para la detección del sexo, pruebas de paternidad etc..

Para la secuenciación de genes, puesto que evita la clonación, para la preparación de sondas, ya que facilita su multiplicación, así como, para el mapeo de genes.

Las ventajas de esta técnica son: su rapidez, especificidad y sensibilidad; se puede realizar en DNA nuclear y mitocondrial, nos da la posibilidad de utilizar material patológico prospectivo y retrospectivo: DNA fresco, congelado, fijado, en parafina, de cortes fijados en portaobjetos etc.

Los inconvenientes de esta técnica son: las contaminaciones con DNA ambiental, alto coste inicial y que es necesario conocer la secuencia del DNA a amplificar.

**HIBRIDACIÓN *IN SITU*:** esta técnica permite la identificación de secuencias específicas de DNA en la célula o cromosoma que las contienen.

El fenómeno de la hibridación molecular se basa en que fragmentos de DNA o RNA forman complejos estables o híbridos con secuencias de bases complementarias a las cuales se les denominan sondas. Las sondas pueden ir marcadas con: radioisótopos (P32, S35, H3), estas sondas se usan cada vez menos; sondas unidas a una molécula marcadora (digoxigenina o biotina), que se demuestra por una reacción antígeno- anticuerpo, con un anticuerpo el cual va unido a una enzima o a un fluorocromo en cuyo caso la técnica se denomina hibridación *in situ* con fluorescencia (FISH).

Las aplicaciones de hibridación *in situ* en el diagnóstico clínico son múltiples así: en virología, permite la localización de los lugares de infección activa y la detección de infecciones virales ocultas en pacientes inmunodeprimidos.

En los estudios de los niveles de la expresión génica, nos da la distribución espacial y temporal de la expresión génica en las células en desarrollo y en la célula neoplásica.

Permite la demostración de oncogenes marcadores específicos de diferentes tumores; a la vez que analiza la expresión génica en tumores humanos y neoplasias inducidos experimentalmente.

Localización de RNAm que codifica péptidos reguladores en el desarrollo de las neoplasias endocrinas.

La FISH en preparaciones cromosómicas es una técnica que está siendo empleada en los laboratorios de genética, para el diagnóstico de alteraciones, tanto génicas, como cromosómicas: esta técnica consiste en: 1) fijación de los cromosomas; 2) desnaturalización del DNA cromosómico; 3) hibridación con una sonda marcada con biotina o digoxigenina; 4) detección de la sonda por medio de un anticuerpo marcado por un fluorocromo y por último, la visualización en un microscopio de fluorescencia.

Las ventajas del FISH en preparaciones cromosómicas son: identificación de secuencias de DNA, tanto en interfase, como en metafase. Gran sensibilidad. Permite la identificación de secuencias de DNA en todo tipo de tejidos; si embargo, la eficacia en el diagnóstico va a depender de el número de copias de DNA diana existentes en la preparación, el estado de preservación del DNA, la calidad de la sonda que se utilice y finalmente, del sistema de visualización empleado.

**PRINS Y CYCLING PRINS:** La técnica del PRINS se utilizó por primera vez en 1989 para la localización de secuencias de DNA específicas en cromosomas. La técnica se basa en el alineamiento *in situ* en preparaciones cromosómicas de una secuencia corta (15 a 30 bases) de DNA no marcada; de tal manera que este DNA sirve como primer para la elongación de la cadena *in situ*. El marcaje del nuevo DNA llega cuando los nucleótidos (que están marcados con digoxigenina o biotina), se usan para la síntesis de la cadena. Los pasos para la realización de esta técnica son: 1) fijación de los cromosomas; 2) desnaturalización; 3) alineación de los primers; 4) extensión de las cadenas de DNA *in situ*; 5) detección del DNA mediante un anticuerpo marcado con fluoresceína o rodamina y por último, visualización al microscopio de fluorescencia.

## CROMOSOMOPATÍAS

Las cromosomopatías o alteraciones que se producen en los cromosomas, pueden ser numéricas o estructurales y pueden afectar, tanto a los autosomas, como a los gonosomas.

## TÉCNICAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE CROMOSOMAS

En el año 1968 Caspersson y cols., publicaron un modelo de bandas para cada una de las parejas de cromosomas. Actualmente hay muchas técnicas de bandas basadas en principios diferentes por ej: bandas Q, C, G y R, pero son las bandas G las que se utilizan como técnica de rutina en los laboratorios de genética, estas bandas se obtienen tras la digestión de los cromosomas con enzimas proteolíticas y coloración con Giemsa.

Las preparaciones bandeadas se estudian en un fotomicroscopio óptico y una vez obtenidas las fotografías de las metafases, se recortan y clasifican, para la obtención del idiograma.

Dentro de las cromosomopatías, comenzaremos con **las alteraciones numéricas**, entre ellas nos vamos a encontrar con:

Las aneuploidías, siendo las más frecuentes las trisomías (con un cromosoma en exceso) y las monosomías (un cromosoma de menos).

Poliploidías: son células con un número de cromosomas superior al normal y múltiplo de n (ej. tetraploidías; triploidías etc..).

Mosaico o mosaicismo: es la existencia de dos líneas celulares derivadas de un cigoto, ej: 46, XX(50%)/47, XXY(50%).

Dentro de **las anomalías estructurales** tendremos:

Traslocaciones que es el intercambio de material genético entre dos cromosomas, pueden ser recíprocas, por inserción y robertsonianas.

Deleción que es la pérdida de un fragmento cromosómico, ésta puede ser a su vez: terminale o intersticial.

Duplicación, que como su propio nombre indica, es la duplicación de un fragmento cromosómico, tanto terminal, como intersticial.

Se denomina inversión cromosómica a la ruptura de dos puntos y giro de 180° de dicho fragmento, pueden ser pericéntricas (cuando ocupan el centrómero) o paracéntricas.

Isocromosomas aparecen cuando el centrómero se divide transversalmente, pueden ser de brazos cortos o de brazos largos.

Anillo cuando hay una pérdida de las regiones terminales de un cromosoma y formación posterior de un anillo.

Dentro de **las anomalías autosómicas** asociadas a síndromes clínicos conocidos tenemos:

El síndrome de Down (trisomía 21) que puede ser por trisomía libre, por traslocación 13-15/21, traslocación 22/21 y traslocación 21/21; trisomía 18 o síndrome de Edwards, el síndrome de Patau o trisomía 13, las trisomías 9 y 8, la deleción 4p o síndrome de Wolf-Hirschhorn, el síndrome de Cri-du-chat o 5p-, la deleción de brazo largo del 13 (13q-), el síndrome de De Grouchy (18q- y 18p-), el anillo del 18 y el anillo del 21.

Para terminar con las alteraciones de origen cromosómico, trataremos de **las anomalías gonosómicas** más frecuentes que se asocian a síndromes clínicos.

Dentro de las alteraciones numéricas más frecuentes nos podemos encontrar con: la monosomía X: 45, XO o síndrome de Turner, síndromes de Klinefelter, 47, XXY; triple X: 47, XXX.

Anomalías estructurales. Isocromosoma Xq; deleciones del brazo largo y del brazo corto del cromosoma X (Xq- y Xp-) y por último el anillo del X.

Finalmente, pasaremos a tratar los mosaicismos gonosómicos más frecuentes en la genética clínica: 46,XX/47, XXY; el 45, XO/46, XX; 46, XX/46, XY y el 47, XXY/46, XY.

## BIBLIOGRAFÍA

- 1 Benavides A.: Consejo genético. Curso sobre Prevención de Deficiencias. Argraf Madrid. 1992.
- 2 Cummings M. R.: Herencia Humana. Principios y Conceptos. Tercera edición. Interamericana. McGraw-Hill. Nueva York. 1995.
- 3 McKusick V. A.: Mendelian Inheritance in man. Tenth edition. The Johns Hopkins University. Baltimore and London. 1992.
- 4 Motulsky V.: Human Genetics. Problems and Approaches. Third edition. Springer. Berlin. 1996.

*Correspondencia:*  
M.T. Vargas de los Monteros  
Unidad de Genética  
Dpto. Anatomía patológica  
H.U.V. Macarena  
Avda. Dr. Fedriani, s/n  
14009 Sevilla