

Contribución de la genética molecular al diagnóstico de enfermedades monogénicas

Montserrat Baiget

*Unitat de Genètica Molecular.
Hospital de la Santa Creu i Sant Pau
Avda. S. Antoni M^a Claret 167.
08025 BARCELONA*

La principal causa de mortalidad en la primera mitad del siglo XX fue las enfermedades infecciosas. Con el descubrimiento de los antibióticos y la mejora de las medidas higiénico-sanitarias, la patología infecciosa juega, hoy, un papel menor en los países industrializados. En consecuencia, las enfermedades genéticas o con un claro componente genético aparecen a finales de nuestro siglo como una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en el mundo occidental.

Un buen parámetro para evaluar este cambio es la tasa de mortalidad infantil (número de niños que mueren en su primer año de vida/1000 recién nacidos). En Inglaterra, por ejemplo, la tasa de mortalidad infantil (TMI) en el año 1900 fue aproximadamente de 160/1000, siendo 5 de estas muertes debidas a enfermedades genéticas. En 1980, la TMI se situaba en 12/1000, gracias a la mejora de la sanidad, pero el número de muertes por enfermedades genéticas permanecía inalterado. De este modo, la contribución de dicha patología a la TMI pasó del 3% al 40% en el período señalado.

Las enfermedades genéticas pueden subdividirse en: cromosómicas, monogénicas y multifactoriales. Numéricamente, las multifactoriales son, con mucho, las más numerosas ya que por un lado engloban las malformaciones congénitas y por otro están involucradas en patologías crónicas de la vida adulta en las que se ha demostrado un componente genético determinante.

Alrededor del 7,5% de todas las concepciones tienen una anomalía cromosómica, pero la mayoría de ellas abocan a un aborto espontáneo precoz, siendo la frecuencia de estas anomalías en recién nacidos no seleccionados cercana al 1%.

El grupo de las enfermedades monogénicas comprende alrededor de 4000 trastornos debidos a la presencia de un gen anormal. En nuestra sociedad, aproximadamente uno de cada cien recién nacidos está afectado por este tipo de patología genética. En un buen número de casos se dispone de tratamiento sintomático y en algunas ocasiones las medidas terapéuticas pueden llegar a ser francamente efectivas a pesar de la existencia de un genotipo anormal. A pesar de ello, existen enfermedades genéticas monogénicas graves y frecuentes para las que no existe tratamiento paliativo y en las que las medidas preventivas son las de elección.

Existen dos niveles en la prevención de las anomalías genéticas: la prevención primaria de un genotipo anormal, antes de la concepción y la prevención secundaria que incluye el diagnóstico prenatal en todos sus aspectos, con la posibilidad de una terminación voluntaria del embarazo cuando se diagnostica la existencia de un feto afectado por una enfermedad genética grave, sin tratamiento ni curación.

En los últimos años ha tenido lugar un extraordinario progreso en el conocimiento de la estructura y función de los genes humanos.

Se han desarrollado tecnologías para la manipulación y el estudio de dichos genes tanto en su estado normal como patológico y muchos de estos logros han sido extremadamente importantes en medicina puesto que han hecho posible el disponer de un diagnóstico a nivel del ADN -a nivel molecular- y han aclarado los mecanismos bioquímicos de un buen número de enfermedades.

Existen distintas estrategias diagnósticas para abordar el estudio de la patología hereditaria monogénica: el análisis directo que lleva a la identificación de la lesión molecular específica y el análisis indirecto que, sin identificar el gen mutado, permite seguir su herencia en una familia en estudio.

El análisis directo es posible, teóricamente, siempre que se aborda el estudio de un gen con una estructura conocida. En la práctica se aplica cuando se da alguna de las circunstancias siguientes:

a) Cuando la patología delecional sea la causa mayoritaria de la enfermedad, por ejemplo en la Distrofia Muscular de Duchenne (DMD), una distrofia muscular progresiva de evolución fatal, debida a anomalías en el gen de la Distrofina, situado en Xp21. Puesto que en alrededor del 60% de los varones afectados de DMD poseen una delección en dicho gen, el diagnóstico molecular de elección en estos casos es el análisis directo para evidenciar la existencia de deleciones mediante amplificación selectiva (PCR) de las distintas zonas del gen. La ausencia de una o mas bandas en el producto amplificado evidencia no solo la presencia de la delección sino su tamaño y localización.

b) Cuando una o pocas mutaciones puntuales sean las responsables del fenotipo anormal en estudio. Es el caso de la hemoglobinopatía S debida a una mutación A T en el codón 6 del gen de la globina β . Esta mutación destruye una diana de restricción para el enzima MstII.

El análisis directo se efectúa amplificando (PCR) la zona del gen que contiene el primer exón y digiriendo con MstII el ADN amplificado. La electroforesis posterior de los fragmentos generados permite evaluar la presencia o ausencia de dicha diana de restricción. El diagnóstico directo por análisis de restricción solo es aplicable en el 5-10% de las mutaciones puntuales conocidas, circunstancia que limita su aplicación en la práctica diaria.

La estrategia indirecta de análisis genotípico se fundamenta en el empleo de los FRLP (fragmentos de restricción de longitud polimórfica). En el ADN humano, uno de cada pocos cientos de nucleótidos varía de un individuo a otro, sin que exista una expresión fenotípica de esta variación. Estas diferencias o polimorfismos pueden evidenciarse gracias al empleo de combinaciones adecuadas enzima/sonda que muestran los cambios individuales en el tamaño de los fragmentos de restricción. La denominación de Fragmentos de Restricción de Longitud Polimórfica responde a estas diferencias y dado que se transmiten con carácter mendeliano pueden utilizarse como marcadores genéticos. Un marcador genético será, pues, aquel polimorfismo que permita distinguir los diferentes alelos que ocupan un determinado *locus* en el genoma humano.

El análisis indirecto se aplica en los siguientes casos:

a) En las enfermedades hereditarias monogénicas en las que se ha identificado el gen responsable y existe una gran heterogeneidad en las mutaciones causan el fenotipo anormal. En la práctica es imposible identificar en cada familia cual es el defecto molecular. De hecho lo que pretende el diagnóstico molecular es identificar el gen anormal y poder seguir su herencia a través de una o mas generaciones en cada familia. El único requisito para poder efec-

tuar un diagnóstico de portadores o el diagnóstico prenatal es la capacidad para poder reconocer o identificar el gen anormal y éste puede lograrse empleando los polimorfismos del ADN como marcadores. Este es el caso del análisis genotípico de la hemofilia A. En cada familia en la que exista un gen hemofílico, éste tendrá una mutación distinta y el análisis directo es, en la práctica, imposible a pesar de que el gen del Fc VIII está perfectamente caracterizado. En el gen del factor VIII existen cinco dianas de restricción polimórficas y mediante al análisis de los FRLP que se generan es posible el diagnóstico de hembras portadoras y el diagnóstico prenatal en aproximadamente el 60% de las familias con hemofilia A. Recientemente, se ha descrito el procedimiento completo para efectuar un diagnóstico prenatal de hemofilia A, incluyendo la determinación del sexo fetal, que puede efectuarse en un lapso de tiempo no superior a 48 horas. En el resto de los casos hay que recurrir al estudio de marcadores extragénicos.

b) En las enfermedades monogénicas en las que se conoce la ubicación del gen responsable pero éste no ha sido aún clonado y caracterizado. En esta situación es posible efectuar un diagnóstico genotípico indirecto en base a la segregación de marcadores polimórficos situados en regiones adyacentes al gen en cuestión.

La estrategia directa de análisis es siempre la de elección pero es condición indispensable el conocer "a priori" la mutación que se desea identificar. La estrategia indirecta que es útil en un gran número de casos tiene algunas limitaciones como son la necesidad de un estudio familiar para delinear el haplotipo que se segrega con el gen mutado y el hecho de los resultados que se obtienen son siempre probabilísticos en base a las recombinaciones que puedan ocurrir entre el gen mutado y los marcadores empleados.

La posibilidad de un tratamiento adecuado para algunas enfermedades monogénicas graves y frecuentes se prevé factible en un futuro si se tiene en cuenta el creciente conocimiento de la naturaleza de los genes humanos y de sus productos protéicos. En la actualidad, sin embargo, la contribución de la genética molecular en la prevención de la patología hereditaria monogénica radica en una mejora espectacular de la capacidad diagnóstica de las enfermedades monogénicas y del asesoramiento genético.