

Técnicas de biología molecular aplicadas al diagnóstico de enfermedades genéticas

Molecular biology techniques applied to the diagnosis of genetic diseases

Teresa Collazo Mesa* <https://orcid.org/0000-0002-3984-9189>

Centro Nacional de Genética Médica. La Habana, Cuba.

*Autor para la correspondencia: tcollazo@infomed.sld.cu

Recibido: 13/02/2020

Aceptado: 02/03/2020

En las últimas dos décadas ha habido un desarrollo importante de nuevas tecnologías moleculares, lo que ha hecho posible que exista una gran variedad de técnicas de análisis genéticos disponibles para el estudio del genoma humano, que incluye tecnologías con alta capacidad de análisis y alta sensibilidad para la detección de anomalías genéticas responsables de enfermedades.

En 1977, Fred Sanger y otros, publicaron dos artículos en los que describieron el método de secuenciación del ADN, estos transformaron la biología de nuestros días y sigue siendo la tecnología de referencia. Desde su publicación, la secuenciación Sanger ha evolucionado de forma asombrosa lo que le permitió alcanzar hitos tan relevantes para la Genética Humana como la secuenciación del primer genoma humano en el año 2001,⁽¹⁾ o la caracterización del primer haplotipo humano por el consorcio HapMap.⁽²⁾ La ventaja de esta técnica es su alta validez y sensibilidad.

Continuaron desarrollándose nuevas tecnologías, que permitieron el surgimiento de las primeras plataformas de secuenciación masiva y abrieron una nueva era en las tecnologías de secuenciación, como la secuenciación de nueva generación (Next-generation sequencing, NGS). Esta empezó en el año 2005 con un nuevo tipo de secuenciadores que, bajo un principio similar a los microarrays, generaban secuencias cortas (35-500 pb) que eran inmovilizadas en un soporte sólido para luego ser secuenciadas.⁽³⁾ Desde entonces, la tecnología de NGS ha ido creciendo

en eficacia y reduciendo precios, en menos tiempo y con mayor validez analítica.⁽⁴⁾ Actualmente, existen diferentes plataformas disponibles (Roche 454, Ion Torrent/Proton, Illumina, SOLiD) que varían en el soporte, el método de secuenciación y la detección de las secuencias.⁽³⁾

La gran cantidad de información generada con estas tecnologías se encuentra disponible en bases de datos públicas como dbSNP. El estudio y la integración de estos datos disponibles provenientes de las tecnologías ómicas en diferentes bases de datos de dominio público, han servido para la identificación de patrones genéticos comunes implicados en el desarrollo de enfermedades frecuentes en la población, así como en la respuesta diferencial a fármacos o a determinados factores ambientales.⁽⁵⁾ La disponibilidad de la información generada por la comunidad científica de una forma organizada y estandarizada es y será de vital importancia para poder realizar un diagnóstico más preciso, establecer un pronóstico precoz o inclusive un tratamiento personalizado, así como la descripción de enfermedades monogénicas.⁽⁶⁾

Aunque el precio de secuenciar un genoma humano completo en la actualidad es una ínfima parte de lo que costó la obtención del primer borrador en 2001, la secuenciación de rutina de genomas completos sigue siendo económicamente inabordable para la mayoría de las instituciones.

No obstante, hay un gran número de pruebas moleculares disponibles, que resultan de gran valor para el estudio de enfermedades genéticas: secuenciación Sanger, estudio de expansiones por análisis de fragmentos, estudios de metilación, cribaje de mutaciones mediante el ensayo de curva de disociación de alta resolución mediante PCR en tiempo real (qPCR-HRM), amplificación múltiple de sondas dependiente de ligación (MLPA), entre otras, las cuales son utilizadas dependiendo de las características de la enfermedad.^(6,7) La secuenciación Sanger se recomienda cuando la enfermedad se produce por mutaciones específicas producidas en un solo gen, mientras que en las que hay heterogeneidad se recomienda realizar un cribaje de mutaciones, como es en el caso de Fibrosis Quística, Galactosemia, Gaucher, entre otras.

Cuando la metodología molecular a utilizar es diferente de la secuenciación Sanger para la detección de grandes reorganizaciones se puede utilizar MLPA, por ejemplo, en Distrofia muscular de Duchenne/Becker, o estudios de metilación en los síndromes de Prader Willi, Angelman y Frágil X.

Los paneles de secuenciación masiva paralela se utilizan preferentemente en enfermedades donde se involucra más de un gen, entre ellas Parkinson, discapacidad intelectual, epilepsias, autismo, donde una gran cantidad de genes están involucrados en un gran espectro fenotípico.⁽⁸⁾

Aunque la secuenciación de nueva generación sea la técnica molecular más robusta es inalcanzable para muchos laboratorios de Biología Molecular, pero la gran gama de técnicas moleculares nos permite realizar el estudio molecular de enfermedades genéticas, así como contribuir a un mejor asesoramiento genético de los pacientes y familiares.

Referencias bibliográficas

1. Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, *et al.* The sequence of the human genome. *Science*. 2001;291(5507):1304-51. Erratum in: *Science* 2001;292(5523):1838.
2. International HapMap Consortium. A Haplotype Map of the Human Genome. *Nature*. 2005;437(7063):1299-320.
3. Rodríguez-Santiago B, Armengol L. Tecnologías de secuenciación de nueva generación en diagnóstico genético pre- y postnatal. *Diagnóstico Prenat*. 2012;23(2):56-66. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.diapre.2012.02.001>
4. Di resta C, Galbiati S, Carrera P, Ferrari M. Next-generation sequencing approach for the diagnosis of human diseases: open challenges and new opportunities. *EJIFCC*. 2018 Apr;29(1):4-14.
5. Zhang W, Dolan ME. Impact of the 1000 genomes project on the next wave of pharmacogenomic discovery. *Pharmacogenomics*. 2010;11(2):249-56.
6. Imágenes de US National Library of Medicine National Institutes of Health. [acceso 02/05/2015]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>
7. Shashi V, McConkie-Rosell A, Rosell B, *et al.* The utility of the traditional medical genetics diagnostic evaluation in the context of next-generation sequencing for undiagnosed genetic disorders. *Genet Med*. 2014;16:176-82.
8. Xue Yankala A, Wilcox W, Hegde M. Solving the molecular diagnostic testing conundrum for Mendelian disorders in the era of next-generation sequencing: single-gene, gene panel, or exome/ genome sequencing. *Genet Med advance*. 2014;17(6):444-51 [acceso 18/09/2014]. Disponible en: <https://www.nature.com>
9. Harripaul R, Noor A, Ayub M, Vincent JB. The Use of Next-Generation Sequencing for Research and Diagnostics for Intellectual Disability. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2017 Mar;7(3):a026864. [acceso 18/09/2017]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/314160558_The_Use_of_Next-Generation_Sequencing_for_Research_and_Diagnostics_for_Intellectual_Disability

Conflicto de intereses

La autora refiere que no existe conflicto de intereses para publicar este trabajo.