

# CuadERnos de investigación Técnicas genéticas diagnósticas

## Colaboradoras:

Karen E. Heath, Instituto de Genética Médica y Molecular (INGEMM), Hospital Universitario La Paz y CIBERER

María José del Pino, Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS)

Beatriz Gómez, Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER)



# Técnicas genéticas diagnósticas

- [Diagnóstico clínico y diagnóstico genético](#)
- [¿Cuándo se necesita realizar estudios genéticos en enfermedades raras?](#)
- [Profesionales implicados en los estudios genéticos](#)
- [Dificultades y ventajas del estudio genético](#)
- [Pruebas genéticas diagnósticas](#)
- [¿Qué son los arrays?](#)
- [La técnica de los arrays](#)
- [Un caso concreto de arrays](#)
- [¿Qué es la secuenciación masiva?](#)
- [Tipos de secuenciación masiva](#)
- [Variantes genéticas](#)
- [Un caso concreto de secuenciación masiva](#)
- [El camino hacia el diagnóstico](#)
- [¿Qué debo tener en cuenta en un proceso de diagnóstico genético?](#)



## Técnicas genéticas diagnósticas. Diagnóstico clínico y diagnóstico genético

Aproximadamente el 80% de las Enfermedades Raras (ER) tienen un origen genético. La mayoría de estas patologías se inician en la edad pediátrica. El uso de técnicas genéticas y genómicas permite el diagnóstico de estas enfermedades de origen genético, un pronóstico preciso, posibilita el acceso a un tratamiento, si éste existe, y es fundamental para dar opciones a las familias en siguientes gestaciones (asesoramiento genético). El diagnóstico genético es complementario al diagnóstico clínico.

### Diagnóstico clínico

- Se estudian los síntomas y signos clínicos presentes en el paciente.
- Se pregunta sobre la historia familiar.
- Puede conllevar múltiples pruebas clínicas y la visita a diversos especialistas o una visita a una unidad multidisciplinar.



### Diagnóstico genético

- Se estudia la información genética del paciente.
- Potencialmente, una sola prueba puede determinar el diagnóstico de un paciente, aunque, en ocasiones, es necesario realizar varias pruebas.
- En el caso de las familias que quieran tener descendencia les da opciones para eliminar el riesgo de transmisión de la enfermedad.

Un estudio genético se inicia cuando un especialista tiene una sospecha de que un paciente tiene una enfermedad de base genética

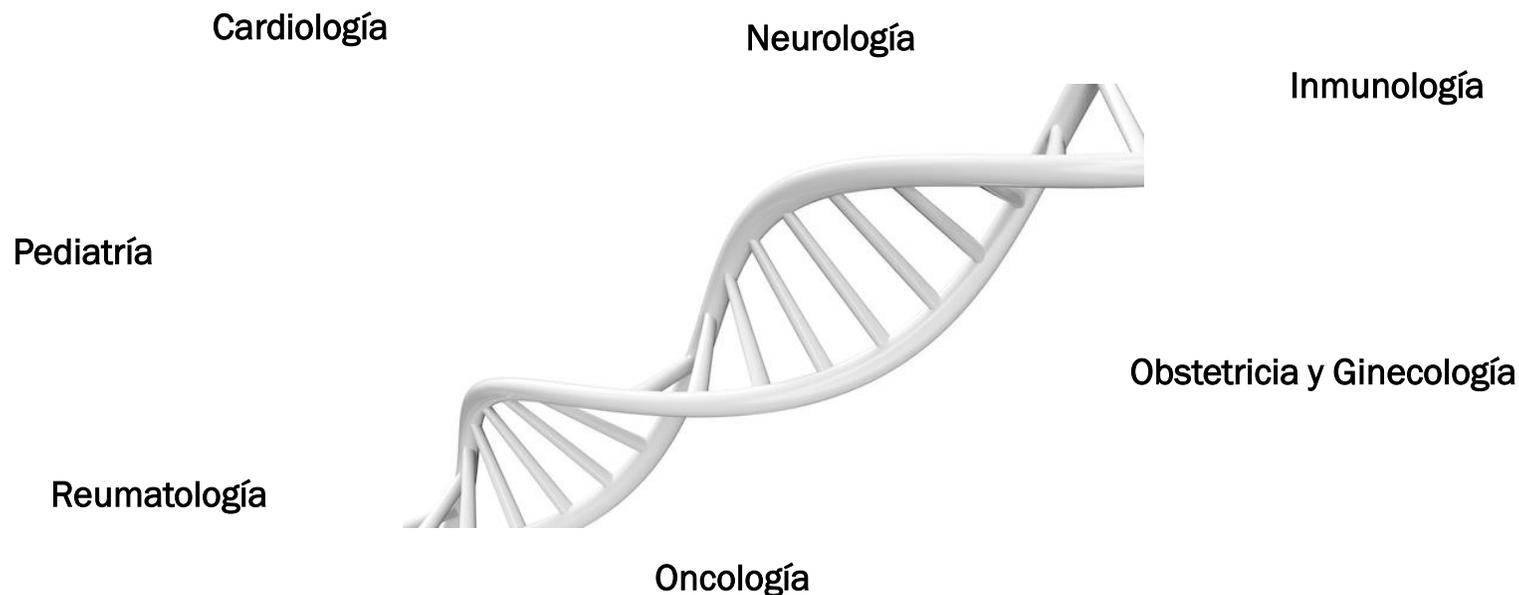


Fig. 1. En todas las especialidades clínicas se puede requerir, en algún momento, de estudios genéticos adicionales. Estos son algunos ejemplos. Fuente: elaboración propia

## Técnicas genéticas diagnósticas. Profesionales implicados en los estudios genéticos

En el procedimiento de diagnóstico genético intervienen varios profesionales:

**Genetista clínico/a de laboratorio:** es el profesional que se encarga de realizar las pruebas genéticas e interpretar los resultados. Puede proceder de distintas disciplinas académicas (ej. biología, medicina, genética, farmacia, etc.).



**Genetista médico/a:** es el médico que realiza el diagnóstico clínico basado en las características físicas del paciente y sus síntomas/signos. Realiza asesoramiento genético también.



**Asesor/a genético/a:** atiende al paciente/familia en consulta y ofrece el asesoramiento genético. Puede proceder de distintas disciplinas académicas (medicina, biología, psicología, enfermería, etc.).

\* Se recomienda la lectura del [cuadERno de Investigación sobre asesoramiento genético](#)

## Técnicas genéticas diagnósticas. Dificultades y ventajas del estudio genético

### Ventajas

- ❖ Diagnóstico temprano y certero para los pacientes y familias.
- ❖ Se puede acceder a un asesoramiento genético preciso conociendo el riesgo de recurrencia y detectando a los portadores de la enfermedad. Esto es muy importante de cara a tener descendencia.

### Y si el estudio es exitoso....

- ❖ Identificación de nuevos genes responsables de ER que sirve para ampliar conocimiento respecto a futuros diagnósticos
- ❖ Acceso a medicamentos y terapias específicas para tratar el defecto molecular: medicina de precisión.



### Dificultades

- ❖ Las enfermedades raras presentan mucha variabilidad de síntomas y una gran heterogeneidad genética.
- ❖ Aunque afectan a muchas personas en conjunto, cada enfermedad rara afecta a muy pocas personas, por lo que la acumulación de conocimiento es escasa.
- ❖ Aún existe poco conocimiento de la función de la mayoría de los genes.
- ❖ El estudio genético requiere tiempo, esfuerzo y financiación.

## Técnicas genéticas diagnósticas. Pruebas genéticas diagnósticas

En este cuadERno hablaremos de 2 de las técnicas diagnósticas más utilizadas:

➤ ARRAY

➤ SECUENCIACIÓN MASIVA

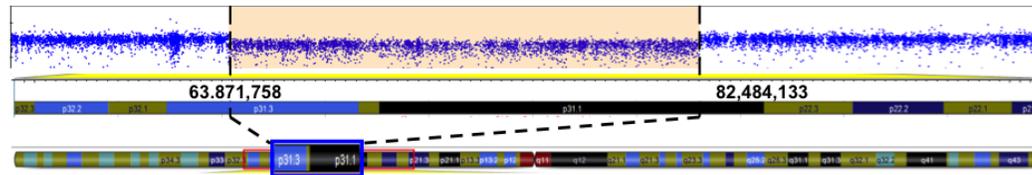
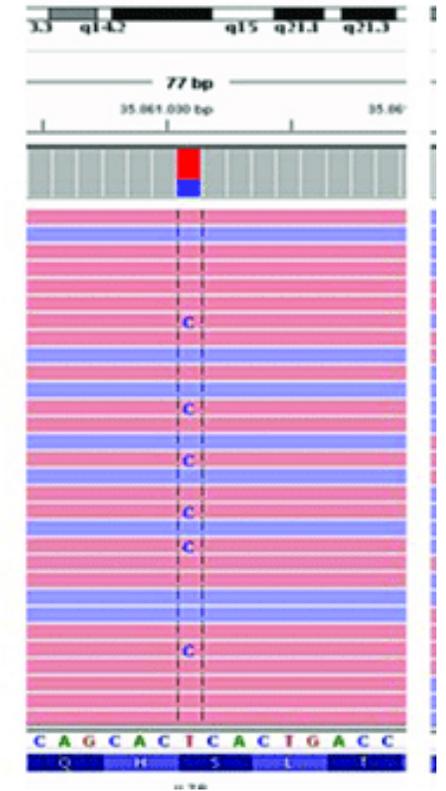


Fig. 2. A) Imagen de los datos de un array; B) Imagen de los datos obtenidos de secuenciación masiva. Fuente: Karen Heath.

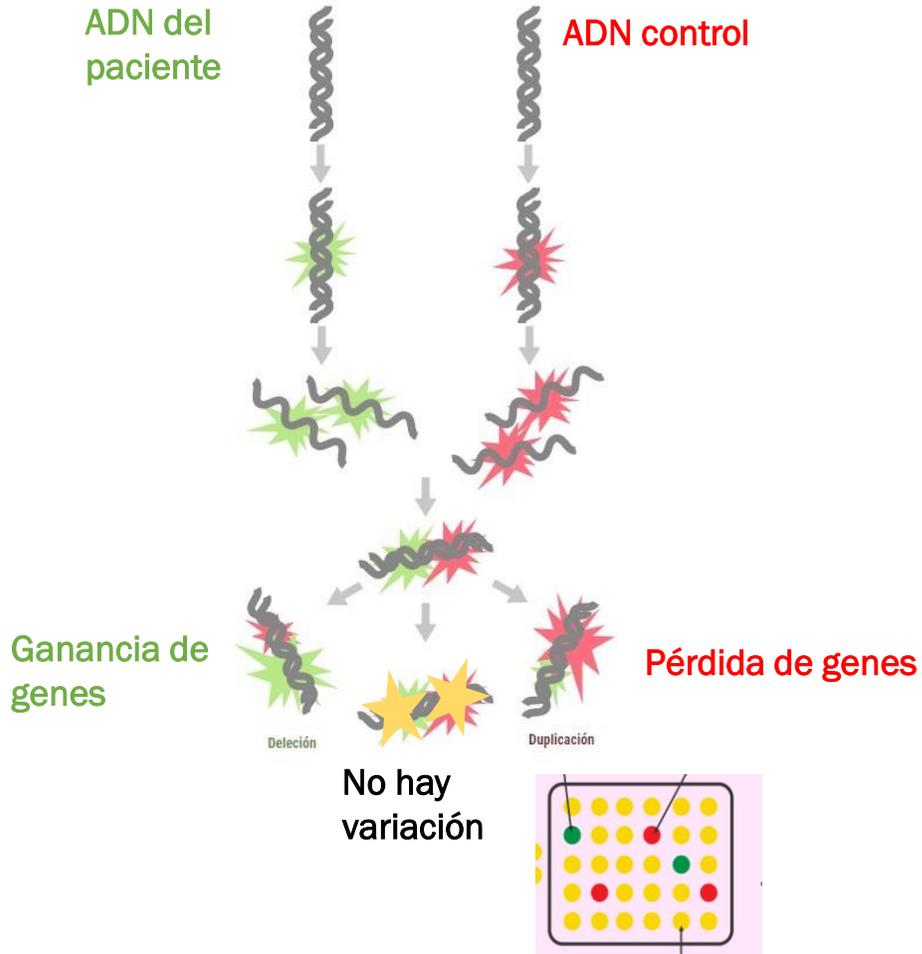


\* Se recomienda la lectura previa del [cuadERno de Investigación sobre genes](#)

**El array (también llamado microarray)** es una técnica de diagnóstico genético que permite detectar ganancias (duplicaciones) o pérdidas (deleciones) de regiones del genoma, así como modificaciones estructurales en regiones concretas de cada cromosoma (paterno, materno, o en ambos).

Se realiza a partir de ADN que, generalmente, se obtiene a partir de una muestra de sangre. También puede realizarse a partir de otros tejidos como saliva, muestra de la piel, y durante el embarazo, de células del líquido amniótico o del tejido placentario. El médico determinará qué muestra es la más adecuada en cada caso.

El genetista médico determinará si se debe realizar o no la prueba de arrays, pero en personas con discapacidad intelectual, retraso en el desarrollo psicomotor, trastorno del espectro autista, malformaciones congénitas y en fetos con anomalías ecográficas y en mujeres con abortos de repetición se recomienda en la mayoría de los casos.



La técnica permite conocer en función de la **fluorescencia**, si existe alguna diferencia en el número de copias de una región del genoma del paciente comparado con un control. Por ejemplo, si marcásemos con fluorescencia verde el ADN del paciente y con fluorescencia roja el ADN de control, veríamos lo siguiente:

- ❑ **Fluorescencia amarilla** (fluorescencia roja + fluorescencia verde) - Hay la misma cantidad de ADN en el paciente y en el control, por tanto, no hay ninguna deleción (pérdida) o duplicación (ganancia) de material genético en el paciente.
- ❑ **Fluorescencia verde** - Hay más copias de una región de ADN en el paciente que en el control, por tanto, existe una duplicación o ganancia de material genético en el paciente.
- ❑ **Fluorescencia roja** - Hay menos copias de una región de ADN en el paciente que en el control, por tanto, existe una deleción o pérdida de material genético en el paciente.

Fig. 3 Hibridación Genómica Comparada y cómo funciona. Fuente: Imagen modificado de una figura de Genotipia.

Niño de 2 años remitido a la consulta de genética por retraso psicomotor y cognitivo, anomalía cardiaca y dismorfias faciales.

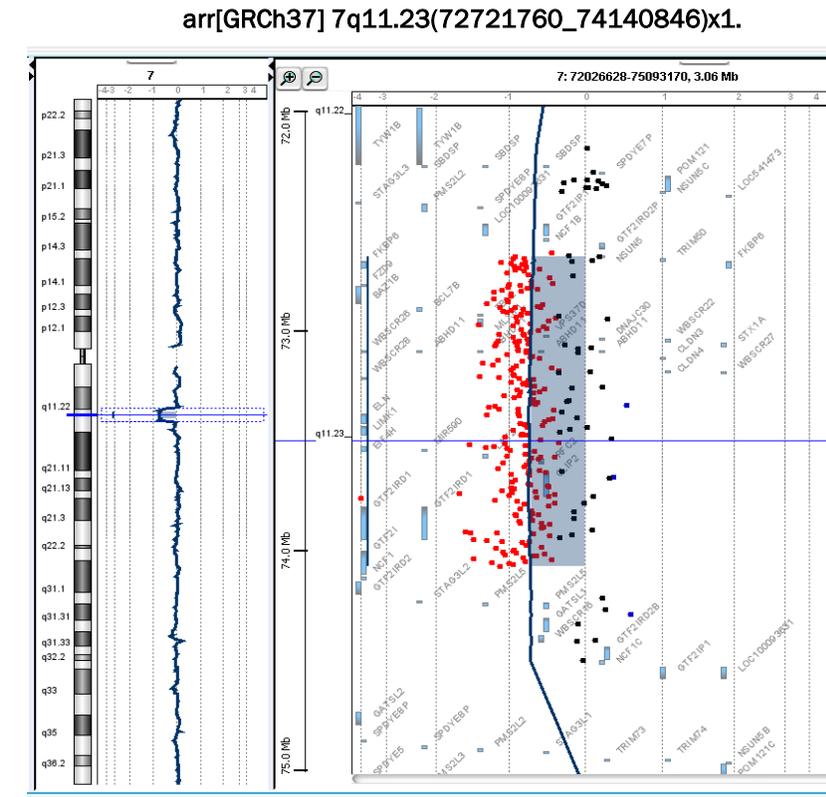
El genetista médico realiza una evaluación clínica del niño y de la historia clínica de la familia. Se ofrece asesoramiento genético a los padres (antes del estudio genético).

Se inicia el estudio genético – Primer prueba: se realiza un array en el niño.

El genetista clínico del laboratorio determina que el niño tiene una delección patogénica en el **cromosoma 7q11.23**. Delecciones o pérdidas de material genético de esta región causan el **síndrome de Williams-Beuren**, lo cual encaja con la clínica observada en el niño.

Asesoramiento genético a los padres – Los resultados se explican a la familia y los riesgos en gestaciones futuras.

El genetista clínico revisa el caso y remite al paciente a otros especialistas, en función de la enfermedad.



**Fig 4.** Imagen de los resultados de un arrayCGH demostrando una delección de cromosoma 7q11.23 (indicada con puntos rojas). Imagen cedida por la Dra. MA Mori, INGEMM.

## Técnicas genéticas diagnósticas. ¿Qué es la secuenciación masiva?

La **secuenciación masiva (NGS: “Next generation sequencing”)\*** es una tecnología que permite la lectura del código de ADN (lo que se denomina “secuenciación”) de múltiples genes hasta todo el genoma de ADN a la vez en un único ensayo. Se trata de 'leer' en orden ese código de ADN, compuesto por 4 pares de bases: A (adenina), T (timina), C (citosina) y G (guanina). El genoma humano contiene alrededor de tres mil millones de pares de bases.

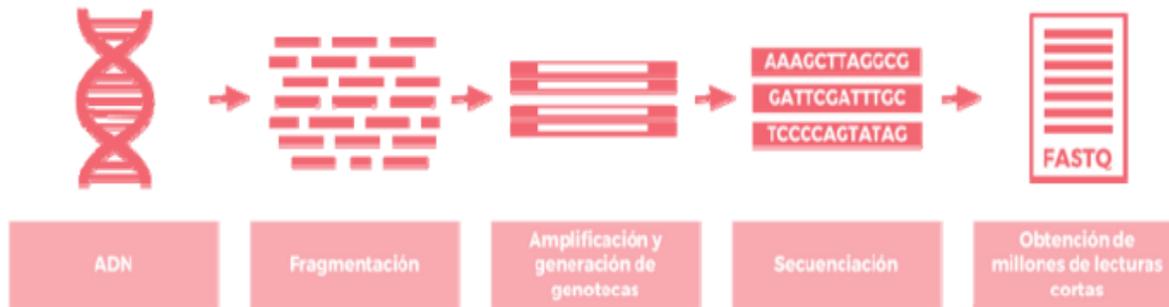


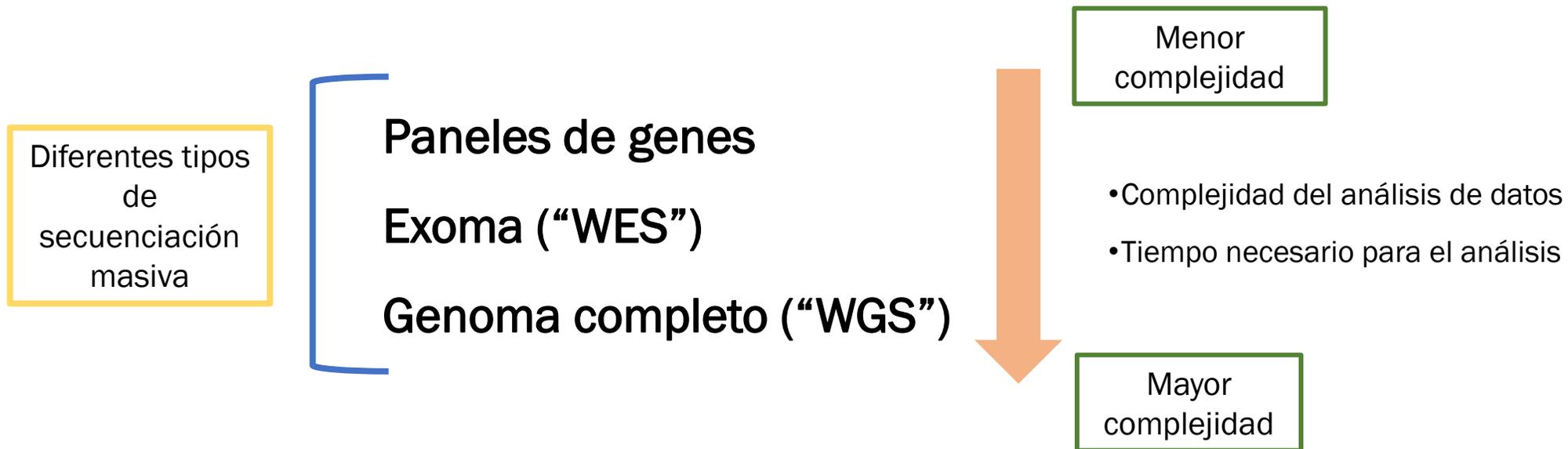
Fig. 5. Sucesión simplificada de los pasos a seguir en la tecnología de secuenciación masiva. Fuente: Monzó, C., et al., 2017. *Genómica en medicina: una guía práctica*.

La **secuenciación masiva es especialmente útil y eficaz cuando, entre otras...**

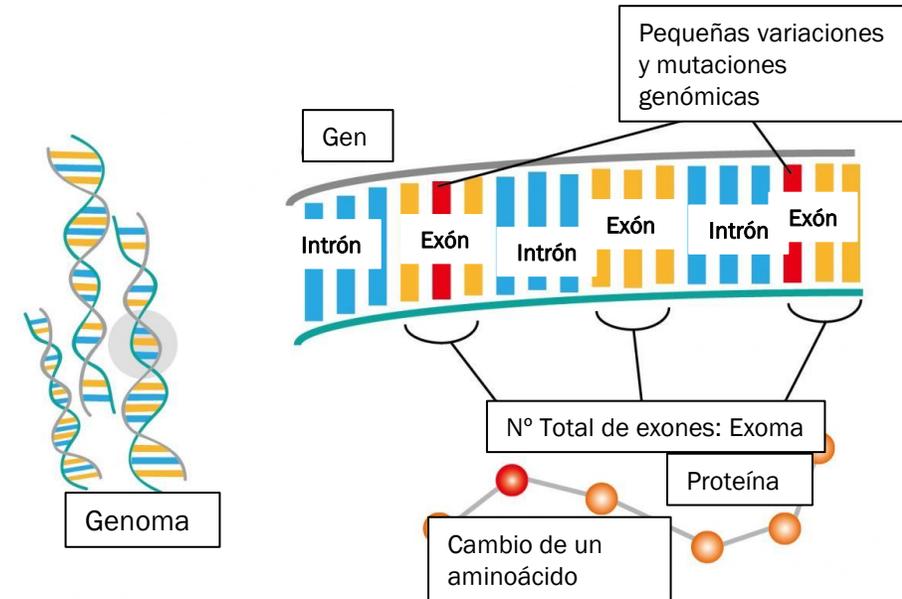
- 1- Las características clínicas del paciente no están muy definidas: por ejemplo, en las enfermedades neurodegenerativas, los pacientes tienen síntomas comunes, pero la causa genética es muy variable.
- 2- Mucha heterogeneidad genética: existen múltiples genes que causan una enfermedad (ej: anemia de Fanconi).
- 3- Muchas mutaciones diferentes en un único gen causan una enfermedad: (ej: se conocen más de 1.600 mutaciones diferentes a lo largo del gen *LDLR* relacionadas con el hipercolesterolemia familiar).

\* Hoy por hoy es la técnica más utilizada en los laboratorios de genética.

Hay diferentes tipos de secuenciación masiva: en función del nivel de complejidad del análisis, el tiempo y los potenciales resultados se distinguen:



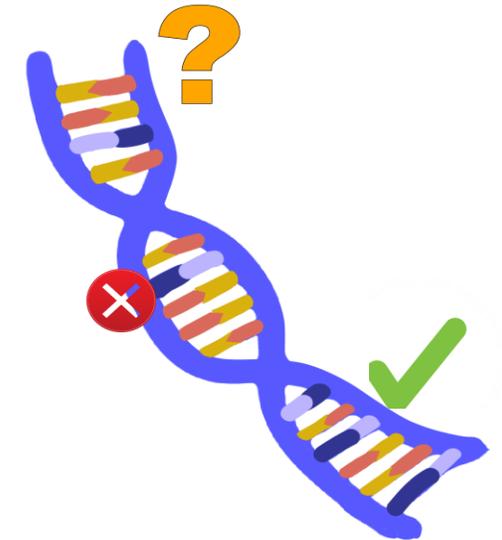
- **Secuenciación de paneles de genes:** es una herramienta que permite analizar simultáneamente mutaciones en un grupo amplio de genes con sospecha de estar relacionados con la enfermedad en estudio.
- **Secuenciación del exoma (WES):** el exoma constituye del 1-2% del genoma total y es la parte del genoma formado por los exones, es decir, las partes que darán lugar a los aminoácidos de las proteínas. En el caso de las ER, se estudia frecuentemente el **exoma trío**, es decir se incluyen también las muestras de los progenitores para estudiar cómo se ha transmitido la enfermedad. El objetivo es identificar e interpretar mejor las variantes detectadas.
- **Secuenciación del genoma completo (WGS):** determina la composición genética de la persona, es decir de **TODOS** los nucleótidos en su ADN y puede encontrar variaciones en cualquier parte del genoma.



**Fig. 6.** Descripción de la estructura del genoma y del ADN de un gen compuesto por exones e intrones para el análisis de pequeñas mutaciones o del exoma. Fuente modificada: Servicio de Bioinformática, Universidad de Salamanca.

La secuenciación masiva genera una gran cantidad de variantes que el genetista clínico de laboratorio tiene que determinar cuál(es) es(son) responsable(s) de la enfermedad del paciente. Para ello se utiliza una clasificación internacional con 5 diferentes clases de variantes:

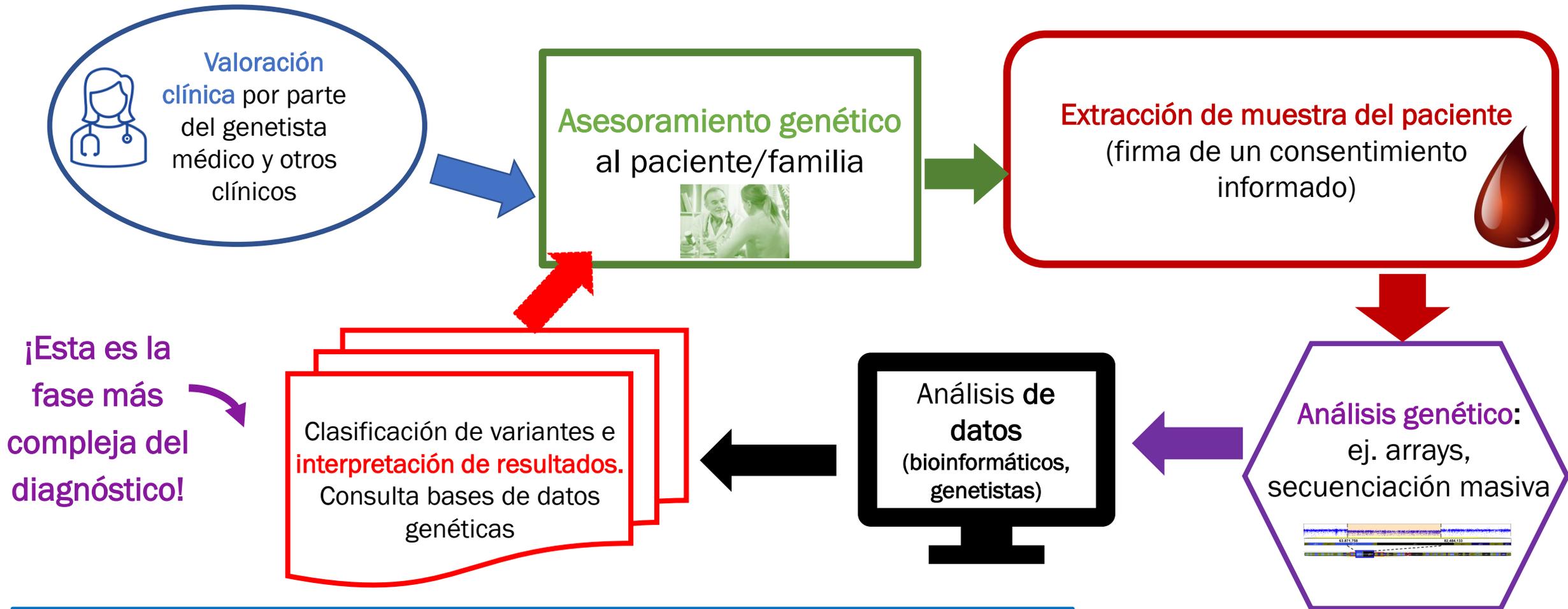
❖ Patogénicas	}	Resultados que se incluyen en el informe genético molecular- confirmación de diagnóstico clínico
❖ Probablemente patogénicas		
❖ Variantes de significado incierto (VUS)	}	Se incluyen en el informe genético molecular los resultados que tienen correlación con la clínica, pero el diagnóstico clínico no se confirma en ese momento. Es necesario realizar más pruebas
❖ Probablemente benignas		
❖ Benignas	}	Resultados que NO se incluyen en el informe genético molecular- - son variantes presentes en la población general que no causan la enfermedad. La sospecha clínica no queda confirmada



No todas las variantes genéticas que se identifican están involucradas con la enfermedad de interés. En ocasiones, se localizan variantes asociadas a otros trastornos genéticos diferentes al que se está buscando. A esto se le denomina **hallazgo secundario**. El paciente o familia decide si quieren saber estos resultados antes de realizar el estudio genético.



## Técnicas genéticas diagnósticas. El camino hacia el diagnóstico



\* Se recomienda la lectura del [cuadERno de Investigación sobre asesoramiento genético](#)

- ¡¡Es importante saber que **NO** siempre se llega a un diagnóstico!!
- Aunque los estudios genéticos han avanzado mucho durante la última década, todavía no es posible interpretar todos los resultados generados mediante secuenciación masiva. El conocimiento científico en torno al diagnóstico genético se incrementa día a día exponencialmente, por lo que, aunque hoy no se haya podido obtener un diagnóstico, los genetistas revisan periódicamente los datos obtenidos para que en un futuro este diagnóstico sea posible.
- Existen casos en los que el médico puede solicitar incorporar al estudio a los progenitores u otros miembros familiares para ayudar a determinar si una variante detectada es o no es la causa de la enfermedad del paciente.
- Los estudios genéticos son complejos y pueden tener importantes implicaciones para otros miembros de una familia, así como influir en las decisiones reproductivas. Por tanto, es esencial que siempre vayan acompañados del correspondiente asesoramiento genético previo al estudio genético, de manera que se disponga de una explicación de lo que se va a estudiar y cómo se va a hacer y, posteriormente, de los resultados obtenidos.