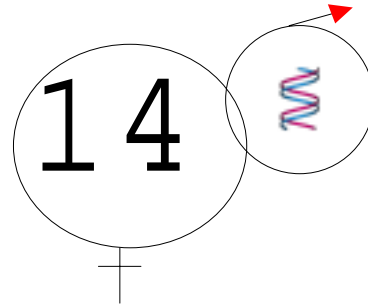


## MARCADORES GENÉTICOS



*Araceli Lantigua Cruz*

*Los marcadores genéticos se utilizan como instrumentos de investigación tanto para análisis de ligamiento como para el estudio de los genes en las poblaciones humanas y al propio tiempo sus características se potencializan con los conocimientos derivados de estas investigaciones.*

*Conocer la frecuencia de marcadores genéticos específicos en las poblaciones, permite el incremento de su uso con fines investigativos de muchos tipos diferentes de ellos y por otra parte, conocer su ubicación cromosómica específica potencializa su uso con objetivos de cartografía o "mapeo" de otros genes que pudieran ser vecinos muy cercanos o muy lejanos.*

*Es por esta razón que lograr determinar el orden en secuencia de este capítulo ha sido muy difícil y pedimos al lector que se remita a los capítulos anteriores y posteriores a fin de comprender mejor el significado de conceptos de uso obligatorio en abordaje del tema, tales como haplotipos y polimorfismos genéticos. La genética y la herencia de los principales marcadores genéticos será el objeto de este capítulo.*

## MARCADORES GENÉTICOS

Los marcadores genéticos son rasgos resultado de mutaciones que se expresan como fenotipos de fácil identificación, que no cambian ni con la edad ni con el sexo, que presenten un patrón simple de herencia y que son relativamente frecuentes.

### **Sistemas de grupos sanguíneos como marcadores genéticos**

Los sistemas de grupos sanguíneos han sido considerados marcadores genéticos por excelencia. Más de 30 sistemas de grupos sanguíneos se han empleado a lo largo de todos estos años con la finalidad de conocer la relación de vecindad entre el marcador en cuestión y una enfermedad genética u otro marcador conocido.

Entre ellos el sistema de grupos sanguíneos ABO, descubierto por Landsteiner en 1900 ha tenido la preferencia.

A través de su estudio se desarrollaron los conceptos de alelos múltiples y de codominancia entre dos genes.

Actualmente el concepto de alelos múltiples se extiende a la heterogenidad genética alélica.

El concepto de codominancia se refiere a la relación que existe entre dos alelos en cuanto a su expresión, cuando ambos están formando parte del genotipo, ya que se expresan simultáneamente en el fenotipo, tal y como lo hacen cuando están separados. Depende en gran medida del nivel de profundidad del estudio del fenotipo.

El fenotipo del sistema de grupos sanguíneos ABO se puede determinar por una simple reacción antígeno anticuerpo.

Los antígenos ABO se encuentran en la membrana de los hematíes y los anticuerpos en el plasma sanguíneo, pero de modo tal que el anticuerpo que se genera por el sistema inmune, y que en este caso, ocurre de forma natural, no ataca a sus propios antígenos sino aquellos que el organismo no posee.

Es por eso que, al clasificar los fenotipos ABO con los anticuerpos anti A y anti B, se identifican según puede observarse en la figura 14.1.









Anti A	Anti B	Fenotipos antígenos	Genotipos	Alelos	Locus
		A	AA AO	A, dominante sobre O	9q34
		B	BB BO	B, dominante sobre O	
		AB	AB	AB codominantes	
		O	OO	O recesivo.	

Figura 14.1. Detección de los fenotipos del sistema de grupos sanguíneos ABO, genotipos posibles, alelos y locus.

Se reconocen cuatro fenotipos y tres alelos A, B y O . Los alelos A y B tienen relación de dominancia completa sobre el alelo O, pero cuando los alelos A y B están juntos en el genotipo, su relación de expresión es de codominancia, por otra parte el grupo sanguíneo O solamente se expresará en los individuos homocigóticos para este alelo que se expresa como un carácter recesivo.

Es importante señalar que el fenotipo A por sus características inmunológicas, se clasifica en dos subgrupos denominados A<sub>1</sub> y A<sub>2</sub> que a su vez tienen dos alelos denominados A<sub>1</sub> y A<sub>2</sub> y que amplía el número de alelos para el locus ABO a cuatro, el fenotipo a 5 y los genotipos a 8 como se observa en la tabla 14.1.

FENOTIPOS	GENOTIPOS	COMENTARIOS
A <sub>1</sub>	A <sub>1</sub> A <sub>1</sub> ; A <sub>1</sub> A <sub>2</sub> ; A <sub>1</sub> O	A <sub>1</sub> dominante sobre A <sub>2</sub> y sobre O
A <sub>2</sub>	A <sub>2</sub> A <sub>2</sub> ; A <sub>2</sub> O	A <sub>2</sub> dominante sobre O
A <sub>1</sub> B	A <sub>1</sub> B	Ambos codominantes
A <sub>2</sub> B	A <sub>2</sub> B	Ambos codominantes
O	O O	Se expresan solo en doble dosis
B	BB, BO	B dominante sobre O

La presencia de cuatro alelos amplía las posibilidades del sistema ABO como marcador genético, sin embargo generalmente se utiliza la información relativa a los alelos A, B y O, para análisis poblacionales y para la explicación de la vía de síntesis de estos antígenos.

### Vía de síntesis del sistema ABO

Los antígenos ABH son complejos de glicoesfingolípidos que se encuentran formando parte de la membrana del glóbulo rojo, esta estructura molecular tiene un núcleo estructural al cual se añaden moléculas de distintos azúcares. La antigenicidad se confiere por el azúcar terminal. Las enzimas que enlazan estos azúcares terminales son glicosiltransferasas. Para la formación de los antígenos del sistema ABO, existe otro locus al que se le denomina H.

Este locus tiene dos alelos conocidos como H y h por su relación de dominancia completa.

El alelo H produce la transferasa H que añade al glicoesfingolípido una molécula de L-fucosa, confiriéndole al glóbulo rojo especificidad antigénica H.

Este antígeno H resulta ser un precursor para las transferasas A y B que producen los alelos A y B, ya que el alelo O no produce transferasa funcional.

En el esquema 1 se ilustra la acción de cada uno de los alelos de los loci ABO y H en la vía de síntesis de los antígenos del sistema ABH.

Una deleción simple de una base nitrogenada, da lugar a la presencia del alelo O del sistema de grupos sanguíneos ABO:

El alelo A .....leu - Val - Val - Thr - Pro ....  
 CTC GTG GTG ACC CCT T....

El alelo O..... CTC GTG GT ACC C CT T } Corrimiento del marco de lectura. No se produce transferasa  
 .....Leu - Val - Val - Pro - Leu.

La figura 14.2 presenta la vía de síntesis de los antígenos ABH.

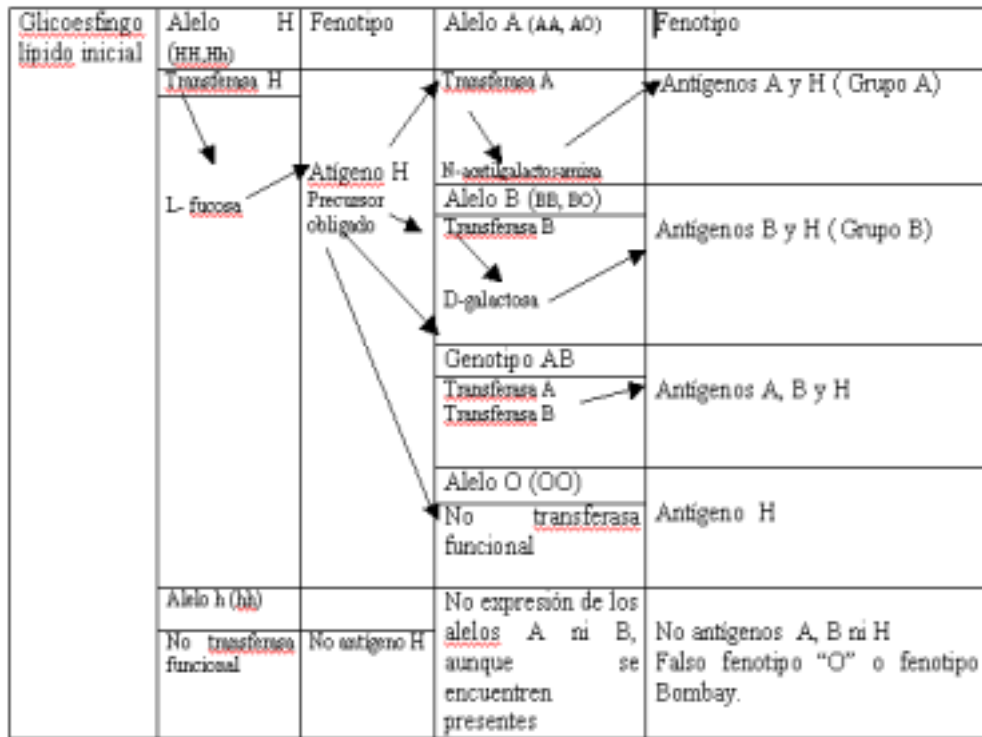


Figura 14.2.

Obsérvese que las personas que tengan el genotipo hh no producen antígeno H y por tanto aunque tenga en su fenotipo cualquiera de la combinaciones genotípicas que contengan a los alelos A y B estos no logran expresarse, pero si la pareja de esa persona

tiene un fenotipo HH sus hijos pueden entonces expresar a los alelos A o B según sea su genotipo.

Observe además, que las personas con el genotipo hh no presentan los antígenos A, B o H pero si no se usa el anticuerpo anti H pueden quedar mal clasificados como fenotipo O.

### Sistema Rh

Desde el punto de vista genético el locus Rh, es bastante complejo y su análisis escapa a los objetivos de este capítulo, sin embargo hay un anticuerpo anti Rh que es capaz de detectar solamente la presencia o ausencia del antígeno de la membrana del hematíe, y no las variaciones bioquímicas del antígeno. Por lo tanto a los efectos de nuestro ejemplo, para el locus Rh solo tendremos dos alelos definidos por las letras D y d. El alelo D, dominante sobre el alelo d. En la figura 14.3 se resume la herencia de este sistema

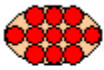

<u>Anti-Rh</u>	Fenotipos	Genotipos	<u>Alelos</u>	Locus
	Rh +	DD Dd	D y d	1p34-36
	Rh -	dd		

Figura 14.3. Detección de los fenotipos Rh, genotipos posibles, alelos y locus.

La reacción antígeno anticuerpo del sistema Rh, nos ha permitido identificar dos subgrupos poblacionales: los individuos que presentan el antígeno Rh y que se clasifican como Rh +, y aquellos que no presentan el antígeno y que se clasifican como Rh -.

A diferencia del sistema ABH los anticuerpos Rh solamente se producen cuando el individuo con genotipo dd y Rh- se pone en contacto con sangre que presenta el antígeno Rh o sea fenotipo Rh positivo.

### Sistema MN

Este es un sistema de grupos sanguíneos de herencia muy sencilla con dos alelos y tres fenotipos.

El fenotipo MN se presenta porque los alelos M y N son codominantes o sea para su detección se utilizan los anticuerpos M y N.

Una generalización de las características genéticas del sistema de grupos sanguíneos MN se aprecia en la figura 14.4.







Anti M	Anti N	Fenotip s y No.	Genotip os y No.	Alelos y locus
		M	MM	M y N  Locus 4q28-31
		MN	MN	
		N)	NN	
		1419	1419	

Figura 14.4. Detección de los fenotipos MN, genotipos, alelos y locus.

### Genética del sistema de histocompatibilidad mayor (MHC)

EL complejo mayor de histocompatibilidad esta compuesto por un gran grupo de loci o genes muy ligados, localizados en 6p. Este sistema está muy relacionado con el rechazo que el organismo hace hacia injertos de tejidos.

Sobre las bases de sus características estructurales y funcionales, estos genes se agrupan en tres clases denominadas I, II y III. Las clases I y II corresponden al sistema MHC.

Este sistema tiene la peculiaridad de formar un haplotipo, la figura 14.5 esquematiza las características de éste.

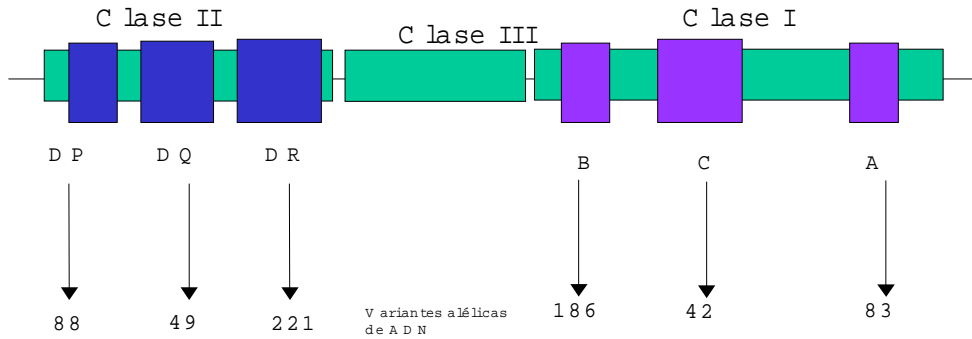


Figura 14.5. Esquema de ubicación de las clases I, II y III del sistema MHC. Los números indicados con las flechas se refieren al número de alelos de estos loci, al ser detectados por estudios moleculares del ADN.

A su vez en la clase I se encuentran los loci A, B y C ( además se describen los loci E, F y G) y en la clase II los loci DR, DQ y DP.

Cada uno de estos loci presentan una gran heterogeneidad alélica, por ejemplo, en el locus A se describen más de 83 alelos y se les nombra A1, A2, A23, Aw19, Aw74 etc. En el locus B hay ya 186 alelos y en el locus C por lo menos 42 alelos, lo mismo ocurre en la clase II, en cada uno de sus loci se describe un gran número de alelos, como se esquematiza en la figura 14.5.

Una persona puede tener para el sistema MHC, un genotipo A1 Bw57 Cw1 DR1 DQw1 DPw6 en un cromosoma y en el cromosoma homólogo A2 B7 Cw2 DR7 DQw9 DPw5, pero sus hijos heredarán uno u otro haplotipo, íntegros.

GENOTIPO	<table border="0"> <tr> <td>A1 Bw57 Cw1 DR1 DQw1 DPw6</td> </tr> <tr> <td>-----</td> </tr> <tr> <td>A2 B7 Cw2 DR7 DQw9 DPw5</td> </tr> </table>	A1 Bw57 Cw1 DR1 DQw1 DPw6	-----	A2 B7 Cw2 DR7 DQw9 DPw5
A1 Bw57 Cw1 DR1 DQw1 DPw6				
-----				
A2 B7 Cw2 DR7 DQw9 DPw5				

La posibilidad de que dos personas compartan un genotipo igual es extremadamente baja, solamente dos hermanos tienen la posibilidad de haber heredado el mismo genotipo o los mismos cromosomas de ambos padres y también los gemelos monocigóticos.

## Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción del ADN (RFLP)

Después de la aplicación del Southern blot, se descubrió que todas las personas no tenían los mismos sitios de corte utilizando la misma enzima de restricción y que las secuencias de cambio se debían a la herencia de mutaciones por creación de un nuevo sitio o por la desaparición del ya existente. Teniendo en cuenta los cientos de enzimas de restricción que pueden utilizarse, se puede comprender la gran cantidad de secuencias de ADN que pueden obtenerse. Basado en la posibilidad que este análisis del ADN brinda, nombrado Longitud de Fragmentos de Restricción (RFL) de ADN, pero además sus frecuencias llegan a ser verdaderos polimorfismos por lo que se ha añadido la P, nombrándose RFLP. En la actualidad esta condición y el hecho de conocer su posición genómica los declara como los mejores marcadores genéticos. Tienen un patrón simple de herencia codominante.

Existen otros marcadores genéticos del ADN que fueron nombrados al abordar los estudios de ligamiento pero realmente rebasan los objetivos de este capítulo.

Los RFLP se nombran de la siguiente forma, por ejemplo, D3S14, la D significa DNA (siglas en inglés), el número que sigue indica el cromosoma, en este caso es cromosoma 3, la letra S se refiere al estudio de una simple cadena de ADN y el último número identifica el locus, en este ejemplo el 14.

La figura 14.6 esquematiza un estudio molecular de RFLP en una familia. Los alelos de este locus se identifican por su peso ya que la Eco R1 encuentra diferentes sitios de corte del ADN de los miembros de la familia en correspondencia con la herencia de ellos a partir de los padres.

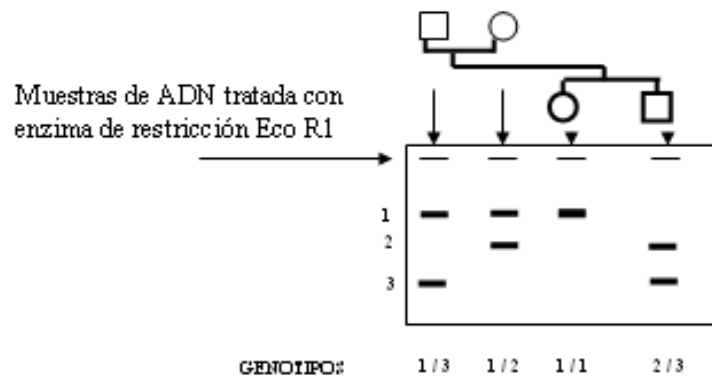


Figura 14.6. Corrida electroforética de los fragmentos de acuerdo con su peso molecular (Southern blot). Análisis de la segregación de tres de los 8 alelos para el locus RFLP: D14S1. Este locus tiene para esta familia, los alelos 1, 2 y 3.



## **RESUMEN**

Los marcadores genéticos tienen que cumplir requisitos que permita denominarlos como tal. Los sistemas de grupos sanguíneos y el sistema de histocompatibilidad mayor (MHC) tienen estas características.

La vía de síntesis de los antígenos ABH son una verdadera demostración que ilustra la acción de los genes en la expresión de un carácter. Mediante las transferasas que son proteínas determinadas por genes se producen los antígenos que son glicoesfingolípidos. También esta vía es una demostración de interacción entre los genes permitiendo comprender mejor conceptos como la penetrancia reducida de un gen.

Los marcadores de excelencia en el momento actual son los obtenidos al nivel de ADN por enzimas de restricción como los RFLP por su carácter polimórfico y su localización cromosómica.