

# **Introducción a la Genética Médica**



## **AUTORA PRINCIPAL**

### **Araceli Lantigua Cruz**

Dra. en Medicina, Especialista de Segundo Grado en Genética Clínica. Doctora en Ciencias Médicas. Profesora Titular de Genética Médica. Jefe del Departamento Docente de Genética Médica del ICBP "Victoria de Giron" ISCM-H. Coordinadora Docente del Centro Nacional de Genética Médica.

## **COLECTIVO DE AUTORES**

### **Rolando Hernández Fernández**

Doctor en Medicina, Especialista de Segundo Grado en Bioquímica Clínica. Profesor Titular de Bioquímica. Jefe del Departamento de Bioquímica del ICBP "Victoria de Girón".

### **Jorge Quintana Aguilar**

Doctor en Medicina, Especialista de Segundo Grado en Genética Médica. Profesor Auxiliar de Genética Médica. Laboratorio de Citogenética del Centro Nacional de Genética Médica. Departamento Docente de Genética Médica del ICBP "Victoria de Girón" ISCM-H.

### **Estela Morales Peralta**

Doctora en Medicina, Especialista de Segundo Grado en Genética Médica. Profesora Auxiliar de Genética Médica. Grupo de Asistencia Médica del Centro Nacional de Genética Médica. Departamento Docente de Genética Médica del ICBP "Victoria de Giron" ISCM-H.

### **Bárbara Barrios García**

Licenciada en Biología. Doctora en Ciencias Biológicas. Profesora Titular de Genética Médica. Jefe del laboratorio de Errores Congénitos del Metabolismo. Departamento Docente de Genética Médica del ICBP "Victoria de Giron" ISCM-H.

### **Iris Rojas Betancourt.**

Doctora en Medicina, Especialista de Segundo Grado en Genética Médica. Profesora Auxiliar de Genética Médica. Grupo de Asistencia Médica del Centro Nacional de Genética Médica. Departamento Docente de Genética Médica del ICBP "Victoria de Giron" ISCM-H.

### **Marcos Martín Ruiz.**

Doctor en Medicina, Especialista de Segundo Grado en Genética Médica. Profesor Auxiliar de Genética Médica. Area de Investigaciones del Centro Nacional de Genética Médica. Departamento Docente de Genética Médica del ICBP "Victoria de Giron" ISCM-H.

# Introducción a la Genética Médica



Dra. Araceli Lantigua Cruz



La Habana, 2004

Datos CIP- Editorial Ciencias Médicas

Lantigua Cruz Araceli

Introducción a la Genética Médica/  
Araceli Lantigua Cruz... [y otros].  
La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2004.

XIV. 292p. Fig. Tab.

Incluye índice general. Incluye 19acápites con sus autores. Bibliografía al final de la obra  
ISBN 959-212-114-1

1.GENETICA MEDICA 2.LIBROS DE TEXTO

QZ50

Edición: Lic. Damiana Martín Laurencio y Lic. Daysi Bello Álvarez

Diseño: Ac. Luciano O. Sánchez Núñez

Composición y emplane: María Pacheco Gola

© Araceli Lantigua Cruz, 2004

© Sobre la presente edición:

Editorial Ciencias Médicas, 2004

Editorial Ciencias Médicas

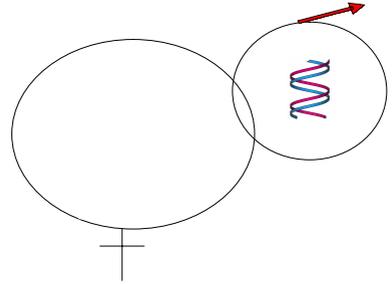
Centro Nacional de Información de Ciencias Médicas

Calle I No. 202 esq. a Línea, piso 11, El Vedado, Ciudad de La Habana, CP 10400, Cuba

Correo electrónico: ecimed@infomed.sld.cu

Teléfonos: 553375, 8325338

## AGRADECIMIENTOS

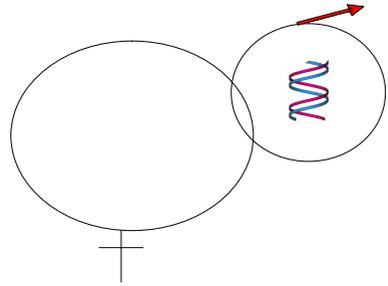


A la Lic. Marcia Cobas Ruiz quien con sus exigencias y aliento impulsó la realización de esta obra en un muy poco tiempo.

Al Prof. Dr. Francisco Morales Calatayut quien descubrió en los materiales complementarios escritos para auxiliar a los estudiantes de medicina en la nueva asignatura de Genética Médica, la posibilidad real de realizar un texto dirigido a ellos y estimular la realización del mismo con valiosas orientaciones.

Al Prof. Dr. Rolando Hernández Fernández quien revisó rigurosamente cada capítulo del texto y con sus críticas y orientaciones metodológicas colaboró a dar un sentido docente y práctico al objetivo de orientar a los a los estudiantes hacia la comprensión de los aspectos básicos de la Genética Médica.

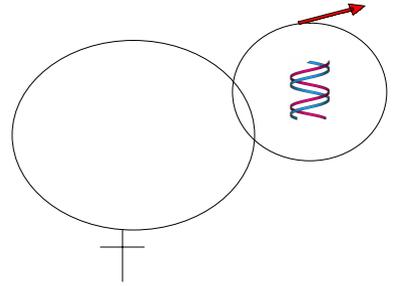
## DEDICATORIA



Al Comandante Fidel Castro Ruz, por la visión del futuro del desarrollo de la Genética Médica y su repercusión en las Ciencias Médicas, por su eterno sentimiento de justicia social e igualdad de posibilidades para todos y por mostrarnos con su sabia conducción que un mundo mejor es posible.

A los estudiantes de Ciencias Médicas de Cuba quienes serán sus lectores principales y que nos han motivado a poner en sus manos un texto que responda a las exigencias de la enseñanza de los fundamentos de la genética dirigidos a su aplicación en la medicina.

# PRÓLOGO



Este Texto ha sido diseñado para los estudiantes de Ciencias Médicas, se ha adaptado al programa de la asignatura Genética Médica, pero puede ser de utilidad para estudiantes de educación especial, de psicología, docentes involucrados en la docencia de preuniversitario y estudiantes y profesionales que de algún modo necesiten de conocimientos generales de genética dirigidos hacia el humano y en especial a la medicina. Aunque no es un texto dirigido a estudios avanzados de postgrado, podría también ser de utilidad para todas las especializaciones médicas en especial para la Medicina General Integral y en un primer nivel de información, para estudiantes de diplomados y maestrías relacionados con Genética Médica y Asesoramiento Genético.

Se ha nombrado Introducción a la Genética Médica porque contiene elementos de Biología Celular y Molecular, de Embriología y de las Leyes de Mendel escritos con el enfoque que se requiere para que el estudiante tenga esta información asequible.

Cada Capítulo ha sido diseñado teniendo en cuenta los conocimientos sobre las leyes y principios de la genética general y humana necesarios para la comprensión de los fundamentos de la Genética Médica. Cuenta con un capítulo introductorio en el cual se enfocan antecedentes históricos del desarrollo de la Genética Médica y de la clasificación etiológica de los defectos genéticos.

Los capítulos 2,3 , 4 y 5 facilitan contenidos básicos actualizados de la biología celular y molecular, las características de la meiosis, piedra angular para la comprensión de la transmisión hereditaria de los genes y caracteres, el fenómeno de la fecundación y los primeros estadios de divisiones celulares del cigoto hasta la formación del blastocisto, enfocando en los mismos los momentos biológicos más significativos para la comprensión de mecanismos genéticos cuyas anormalidades originan enfermedades genéticas y defectos congénitos.

En los capítulos 6, 7 y 12 se abordan los fundamentos técnicos, métodos y herramientas necesarios para el estudio con fines diagnóstico del material genético, así como la forma en que se exponen sus resultados y su interpretación.

En los capítulos del 8 al 11 se exponen conocimientos acerca de los defectos cromosómicos y de mutaciones simples del ADN y su repercusión en la etiología de enfermedades genéticas.

Los capítulos 13, 14 y 15 proporcionan conocimientos básicos que permiten comprender las posibilidades de aplicación de las nuevas tecnologías moleculares del AND, del estudio de la genética poblacional y su repercusión en la epidemiología de enfermedades genéticas. Todos estos conocimientos en función de la comprensión de objetivos preventivos en la práctica médica y en proporcionar información sobre principios técnicos del desarrollo de investigaciones sobre el genoma humano.

El capítulo 16 explica los fundamentos genéticos de la herencia de rasgos cuantitativos enfocados al estudio de malformaciones específicas y al novedoso tema de las enfermedades comunes en general, pero sobre todo a aquellas que se aprecian como el resultado de la prolongación de la vida y que por las dificultades de la comprensión de sus características genéticas y de la participación ambiental en ellas se les denomina también como enfermedades complejas.

En el capítulo 17 se aborda la etiología de los defectos congénitos y se detallan aspectos relacionados con los genes y mecanismos celulares que participan en la morfogénesis, cuyas mutaciones explican su origen genético y que además, proporcionan conocimientos que permiten la comprensión de la acción de teratógenos que interfieren con estos mecanismos jerárquicamente programados.

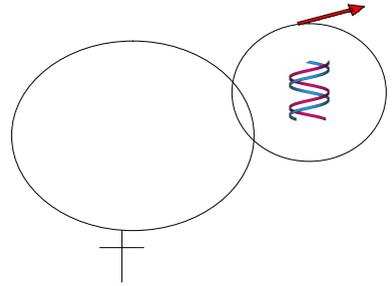
El capítulo 18 está dedicado a la prevención de las enfermedades genéticas. Proporciona información acerca del Asesoramiento Genético y de sus técnicas y da la oportunidad de integrar todos los conocimientos expuestos en los capítulos anteriores, finalmente en el capítulo 19 se expone un ejemplo de programa de atención de una enfermedad genética en el nivel primario de Salud para el cual se seleccionó la enfermedad genética más frecuente en nuestro país, la anemia de células falciformes.

Aunque el texto fue diseñado en un tiempo breve, su contenido ha sido largamente meditado y en cada capítulo se han tenido en cuenta los progresos que el desarrollo de la genética en los últimos años, sobre todo aquellos surgidos como una consecuencia de los extraordinarios avances técnicos en los estudios del ADN y de los nuevos conocimientos surgidos como producto de las investigaciones que se desarrollan en el Proyecto del Genoma Humano.

Esperamos que en este texto los estudiantes de Ciencias Médicas encuentren los aspectos fundamentales de la genética humana relacionados con las variaciones genéticas del desarrollo y se apoderen de las bases y herramientas necesarias para abordar la comprensión, atención y prevención de aquellas, que por las características de su patogénesis requieren de atención médica y educativa especializada.

*Los autores.*

# ÍNDICE



1. INTRODUCCIÓN / 1
  - Antecedentes / 1
  - Las enfermedades genéticas / 5
2. PANORAMA DE LA BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR / 7
  - La Biología Celular / 7
    - La membrana plásmática / 8
    - El sistema de endomembranas / 9
    - El citoesqueleto / 11
    - Los ribosomas / 11
    - El núcleo celular / 12
  - El ciclo celular / 13
    - Las ciclinas / 14
    - Las proteínas kinasas dependientes de ciclinas (Cdk) / 16
    - Los inhibidores de las Cdk (CDI/CKI) / 17
    - Fosfoproteínas fosfatasa / 17
  - La Biología Molecular / 18
    - Estructura del ADN / 18
  - La transmisión de la información genética / 20
    - La replicación del ADN / 20
    - La mitosis / 25
3. LA EXPRESIÓN DE LA INFORMACIÓN GENÉTICA / 27
  - La transcripción / 27
  - La traducción / 30
  - La conservación de la información genética / 34
  - Las mutaciones / 35
    - Consecuencias de las mutaciones / 36
  - Reordenamiento de la información genética / 37
  - La comunicación intercelular / 38
4. DE LA MEIOSIS AL BLASTOCISTO / 42
  - La meiosis / 42
  - Espermatogénesis / 47
  - La ovogénesis / 49

El óvulo / 50	
La fecundación / 51	
La primera división mitótica del cigoto / 51	
Resumen / 52	
5. LAS LEYES DE MENDEL / 54	
Los experimentos mendelianos / 55	
Cruzamiento monohíbrido / 56	
Análisis del cruzamiento mendeliano para el carácter color del cotiledón de las semillas / 57	
Cruzamiento mendeliano para dos caracteres / 60	
Retrocruces / 62	
Cruzamiento trihíbrido / 63	
Resumen / 64	
6. LOS CROMOSOMAS HUMANOS Y SU ESTUDIO / 65	
Cromatina nuclear / 65	
Los cromosomas / 66	
Estudio de los cromosomas humanos en células en interfase: Cromatina sexual / 67	
El cariotipo humano / 69	
Técnicas para la obtención de cromosomas / 70	
Método de coloración para análisis cromosómico común / 71	
Resumen / 74	
7. CITOGENÉTICA MOLECULAR / 75	
Técnicas de hibridación <i>in situ</i> / 75	
Métodos de hibridación <i>in situ</i> / 76	
Resumen / 79	
8. MUTACIONES QUE AFECTAN A LOS CROMOSOMAS HUMANOS / 80	
Anormalidades o defectos cromosómicos / 81	
Aberraciones cromosómicas de número / 81	
Las aneuploidías como eventos precigóticos / 82	
Las aneuploidías como eventos postcigóticos / 85	
La anafase retardada / 86	
Aberraciones cromosómicas de estructura / 86	
Inversiones y su repercusión en la gametogénesis / 92	
Las translocaciones / 92	
Gametogénesis en translocaciones / 93	
El fenotipo como expresión de aberraciones cromosómicas no balanceadas / 94	
Expresión de las aberraciones cromosómicas autosómicas no balanceadas / 95	
Anormalidades de estructuras anatómicas por defecto del desbalance genómico en la morfogénesis / 95	
Efectos en el crecimiento y desarrollo / 98	
Efectos en el sistema nervioso / 98	
Características fenotípicas de las aberraciones de cromosomas sexuales / 99	

- Resumen / 102
- 9. TRASMISIÓN DE SIMPLES MUTACIONES / 104
  - Determinación del sexo / 104
  - Herencias mendelianas en el humano / 107
    - Simbología para la confección del árbol genealógico / 107
  - Herencias dominantes, autosómica y ligada al cromosoma X / 109
    - Herencia autosómica dominante / 109
    - Herencia dominante ligada al cromosoma X / 111
  - Resumen de las herencias dominantes / 113
  - Herencias recesivas, autosómica y ligada al cromosoma X / 113
    - Herencia autosómica recesiva / 113
    - Herencia recesiva ligada al cromosoma X / 115
  - Resumen de las herencias recesivas / 116
  - Herencia ligada al cromosoma Y / 117
  - Fenómenos que dificultan el análisis de la segregación mendeliana / 117
    - Herencias influidas por el sexo y limitadas al sexo / 117
    - Penetrancia de un gen o de una mutación específica / 118
    - Expresividad de un gen o mutación específica / 118
    - Efecto pleitrópico de un gen o mutación específica / 119
    - Heterogeneidad genética / 119
    - Inactivación del cromosoma X / 119
    - Nuevas mutaciones con expresión dominante / 120
    - Efecto de letalidad de un genotipo específico / 120
  - Resumen / 121
- 10. INTERFERENCIAS BIOLÓGICAS DE LA TRANSMISIÓN DE SIMPLES MUTACIONES / 122
  - Mutaciones dinámicas / 122
  - Impronta genómica / 125
  - Disomías uniparentales / 126
  - Mosaicismos germinales / 127
  - Herencia mitocondrial / 127
  - Otras características de la transmisión de simples mutaciones y de su expresión / 129
    - Herencia digénica / 129
    - Pérdida de heterocigocidad / 129
  - Resumen / 130
- 11. MUTACIONES MONOGÉNICAS QUE AFECTAN A DIFERENTES CLASES DE PROTEÍNAS / 131
  - Clasificación de las proteínas según su patrón de expresión / 131
  - Defectos de proteínas enzimáticas / 132
  - Proteínas de transporte y almacenamiento / 136
  - Proteínas estructurales de células y de órganos / 136
  - Proteínas involucradas en la homeostasis / 137
  - Proteínas que se expresan durante el desarrollo / 137

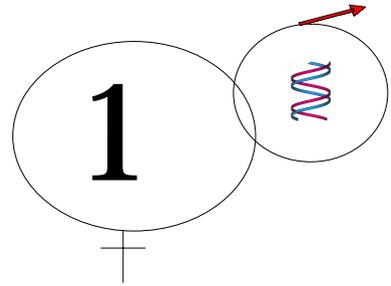
- Proteínas involucradas en la proliferación y diferenciación celular / 138
- Proteínas que actúan en el metabolismo intercelular y la comunicación entre las células / 138
- Resumen / 140
- 12. MÉTODOS Y APLICACIONES DE ADN RECOMBINANTE / 141
  - Clonación del ADN / 141
    - Clonación *in vivo* / 142
    - Enzimas de restricción y ligasas. Su papel en la clonación / 142
    - Vector / 143
    - Transformación del organismo huésped y obtención del ADN específico / 145
  - Métodos de análisis molecular / 146
    - Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) / 147
    - Método de *Southern* (*Southern Blotting*) / 149
    - Northern Blotting* y *Western Blotting* / 150
  - Estudios de marcadores moleculares por ligamiento / 151
    - Polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción / 151
  - Secuenciación de ADN / 152
  - Resumen / 153
- 13. LIGAMIENTO Y RECOMBINACIÓN / 154
  - Ligamiento. Concepto y clasificación / 154
  - Cálculo de la frecuencia de recombinación y fase de posición entre genes ligados / 160
  - Localización de genes ligados / 164
  - Factores que pueden afectar el entrecruzamiento en animales y plantas / 167
  - Análisis de ligamiento en el hombre / 167
    - Construcción de mapas físicos / 168
    - Mapas genéticos / 175
  - Mapas genéticos por técnicas de Biología Molecular / 181
  - Resumen / 183
- 14. MARCADORES GENÉTICOS / 184
  - Marcadores genéticos / 184
    - Sistemas de grupos sanguíneos como marcadores genéticos / 184
    - Vías de síntesis del sistema ABO / 186
    - Sistema Rh / 188
    - Sistema MN / 188
    - Genética del sistema de histocompatibilidad mayor (MHC) / 189
    - Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción del ADN (RFLP) / 191
  - Resumen / 192
- 15. LOS GENES EN LAS POBLACIONES HUMANAS / 193
  - La genética poblacional / 194
    - Ley de Hardy - Weinberg / 194
    - Determinación de frecuencias fenotípicas, genotípicas y génicas entre dos alelos con dominancia completa / 196

- Determinación de frecuencias fenotípicas, genotípicas y génicas entre dos alelos codominantes / 198
- Determinación de frecuencias fenotípicas, genotípicas y génicas entre alelos múltiples / 199
- Frecuencias de genes y genotipos de genes ligados al cromosoma X / 201
- Factores que pueden alterar el equilibrio de Hardy - Weinberg en una población / 202
  - Matrimonios no al azar / 202
  - Mutaciones / 203
  - Selección contra mutaciones dominantes / 204
  - Selección contra mutaciones recesivas / 204
  - Selección contra mutaciones ligadas al cromosoma X / 204
  - Ventajas selectivas de heterocigóticos / 205
- Resumen / 206
- 16. HERENCIA MULTIFACTORIAL / 208
  - Frecuencias de genotipos y fenotipos para rasgos discontinuos / 209
  - Frecuencias de genotipos y fenotipos para rasgos continuos / 211
  - Herencia multifactorial / 213
  - Heredabilidad / 214
  - Modelo de predisposición genética / 216
  - Defectos congénitos de herencia multifactorial / 217
  - Herencia multifactorial de enfermedades comunes / 218
  - Susceptibilidad genética / 219
    - Riesgos de susceptibilidad genética / 220
  - Demostración de la existencia de un componente genético en la expresión de una enfermedad común / 221
  - Métodos para demostrar heterogeneidad genética en la herencia multifactorial / 223
  - Características comunes a todo rasgo en el que se sospeche herencia multifactorial / 224
  - Resumen / 225
- 17. DEFECTOS CONGÉNITOS DE ORIGEN GENÉTICO Y AMBIENTAL / 226
  - Tipos de defectos congénitos / 227
  - Defectos congénitos y morfogénesis / 228
  - Mecanismos moleculares y celulares del desarrollo embrionario / 229
    - Eventos moleculares / 230
    - Eventos celulares / 232
    - Inducción embrionaria / 235
  - Control genético del desarrollo / 235
    - Genes de segmentación / 236
    - Genes homeóticos / 237
    - Cajas pareadas (PAX) / 237
    - Genes con cajas HMG (Grupo de Alta Movilidad o High Movility Group) / 238
    - Genes T / 238
    - Factores de transmisión en dedos de zinc / 238

Genes de transducción de señales / 239	
Receptores de factores de crecimiento fibroblástico / 239	
Desarrollo embrionario de las extremidades / 239	
Aspectos esquemáticos generales para el estudio del desarrollo del esqueleto / 240	
Embriología descriptiva de las extremidades / 241	
Origen embrionario de los tejidos y estructuras componentes de las extremidades / 242	
Bases moleculares del patrón de formación del esqueleto apendicular / 242	
Etiología ambiental de defectos congénitos / 244	
Agentes teratógenos exógenos / 245	
Susceptibilidad genética al efecto de teratógenos / 247	
Condiciones endocrinometabólicas maternas anormales / 247	
Defectos congénitos de las extremidades / 248	
Defectos congénitos debido a fuerzas mecánicas / 249	
Defectos congénitos debido a disrupciones / 249	
Resumen / 250	
18. PREVENCIÓN DE LAS ENFERMEDADES GENÉTICAS Y ASESORAMIENTO GENÉTICO / 251	
Servicios de genética / 251	
Servicios asistenciales - preventivos de base individual - familiar / 251	
Programas de prevención con base poblacional / 253	
Asesoramiento genético / 256	
Evolución del concepto de asesoramiento genético / 256	
Modelo médico - preventivo / 257	
Modelo basado en la toma de decisiones (años 60) / 258	
Modelo psicoterapéutico / 258	
Definición de asesoramiento genético / 259	
Objetivos del asesoramiento genético / 260	
Principales razones por las que se solicita asesoramiento genético / 261	
Principios del asesoramiento genético / 261	
Componentes básicos del asesoramiento genético / 261	
Estimación del riesgo / 263	
Clasificación del riesgo genético / 265	
Comunicación / 271	
Soporte o basamento del asesoramiento genético / 272	
Métodos de acceso al feto / 273	
Aspectos prácticos del asesoramiento genético / 277	
Aspectos psicológicos del asesoramiento genético / 280	
Aspectos éticos del asesoramiento genético y de la genética médica / 281	
19. ANEMIA DE CÉLULAS FALCIFORMES: UN PROGRAMA DE NIVEL PRIMARIO DE ATENCIÓN / 284	
Anemia A Hematías falciformes / 284	
Resumen / 287	
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS / 288	

# INTRODUCCIÓN

Araceli Lantigua Cruz



*Mencionar la relación de hechos históricos que han confluído desde el redescubrimiento de las leyes de Mendel hasta nuestros días, requeriría de largas horas de búsqueda. Cada aporte científico ha sido un importante eslabón en esta larga cadena que nos lleva desde la Genética General hasta la Genética Clínica actual y que sin dudas ha tenido un impacto impresionante en las Ciencias Médicas.*

*En este primer capítulo exponemos un cuadro que menciona apenas pinceladas sobre hechos relevantes que han dejado una impronta en el desarrollo actual de las disciplinas de las Genética Humana, Médica y Clínica.*

## ANTECEDENTES

Es práctica habitual comenzar los recuentos sobre la historia de la Genética con los trabajos de Mendel a mediados del siglo XIX y su redescubrimiento en los inicios del siglo XX. Sin embargo, observaciones sobre la herencia biológica en humanos habían sido realizadas desde el siglo XVII, aunque no tuvieron ni el significado ni la trascendencia de los trabajos de Mendel, pues el estudio de la Genética Humana presenta cierto grado de complejidad. Estos intentos pioneros estuvieron mejor encaminados ya a principios del siglo XIX. Como muestra de ello se mencionan los siguientes.

En el año 1814 Joseph Adams, médico inglés, publicó un libro en el que se destacan las siguientes observaciones:

1. Diferencias entre congénito, familiar y condiciones hereditarias.
2. Las enfermedades hereditarias no están presentes al nacimiento sino que se manifiestan por si mismas a diferentes edades.
3. Hay predisposiciones para enfermedades que determinan que estas solo se manifiesten bajo la influencia de factores ambientales.

4. La reproducción de personas afectadas puede estar disminuida y propuso establecer registros de familias con enfermedades hereditarias.

Qué no hubiera hecho este científico con la automatización actual de datos.

El profesor alemán de medicina C. F. Nasse hizo el reconocimiento en el año 1820 de la transmisión de la hemofilia a través de mujeres.

Debe tenerse presente que en el siglo XIX el nivel de reconocimiento de una enfermedad genética en el humano se basaba solamente en el análisis clínico de los signos y síntomas de enfermedades, el reconocimiento del carácter familiar y la historia de la enfermedad, en especial la edad de comienzo de los primeros síntomas.

Sin embargo, Mendel hizo sus experimentos con guisantes de líneas puras lo cual le permitió llegar a sus trascendentales conclusiones. Estas no fueron comprendidas por las limitaciones de conocimientos del momento.

Durante las últimas décadas del siglo XIX se producen algunos descubrimientos importantes. En 1875 Hertwig observó la fertilización animal y la continuidad de células nucleadas. Cinco años después Fleming observa y descubre las cromátidas hermanas de los cromosomas en la mitosis. Ya en 1883, von Beneden establece la regularidad de los cromosomas en los núcleos de células hijas. Y para 1888 Boveri establece la individualidad de cada par cromosómico y en ese mismo año Waldeyer utiliza el término cromosoma (cuerpo que toma color) por las características de tinción de estas estructuras celulares. También para ese año habían culminados los estudios sobre la mitosis. Todos estos acontecimientos hicieron posible la rápida aceptación de los trabajos de Mendel cuando fueron redescubiertos en los albores del siglo XX.

A partir del redescubrimiento de las leyes de Mendel comienzan a emerger nuevos conocimientos sobre la genética de caracteres humanos que vertiginosamente finalizaron el siglo XX con el proyecto Genoma Humano.

En el año 1902 Archibald Garrod publicó un trabajo titulado "La incidencia de la alcaptonuria: Un estudio en individualidad química". Con este trabajo se da inicio al análisis de las leyes de Mendel en humanos e hizo las siguientes observaciones:

1. Una persona tiene o no alcaptonuria, son dos alternativas claras.
2. El defecto metabólico está presente desde el nacimiento.
3. Se observa en hermanos, no en los padres.
4. Los padres con frecuencia son primos hermanos.
5. Existen, además de la alcaptonuria, otros defectos de este tipo, como el albinismo que puede estar en esta categoría.

En el año 1900 Landesteiner descubre el sistema de grupos sanguíneos ABO y en 1911 se comprueba su herencia mendeliana.

En 1908, el matemático inglés Hardy y el médico alemán Weinberg al mismo tiempo fundamentan la ley de la distribución de los genes en las poblaciones humanas, conocida actualmente como Ley de Hardy Weinberg.

En 1924 Bernstein demuestra que los caracteres A, B y O están determinados por genes de un mismo locus o alelos múltiples

Entre los años 1910 y 1930 los resultados de investigaciones genéticas en la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*) aportan nuevos e importantes conocimientos como ligamiento, no disyunción, tasa de mutaciones.

Aparecen al estudiar la herencia en el humano conceptos como pleiotropía del gen, heterogeneidad genética y variación en la expresión de los genes.

Las preguntas a partir de ¿qué se considera raro? y ¿por qué es raro? han sido el eje central de los descubrimientos genéticos en el humano.

La Genética Humana se inicia con la alcaptonuria y se define como tal porque estudia rasgos que se distinguen como variaciones normales del desarrollo, pero es muy difícil delimitar el momento en que surge la Genética Médica aunque para algunos historiadores fue a partir de 1950 cuando se unen a los conocimientos anteriores la epidemiología genética y se investiga la prevalencia de enfermedades genéticas, su modo de herencia, heterogeneidad y tasa de mutación.

Los avances en áreas especializadas como la citogenética, la genética bioquímica y molecular y la aplicación de estos conocimientos al diagnóstico y cuidado del enfermo promueven la aparición de la Genética Clínica.

La citogenética se hace fuerte en la Genética Médica a partir del año 1959 pero es bueno señalar que la historia de este campo de desarrollo técnico de la genética se ha dividido en cinco periodos:

- 1882-1959 cuando se descubre el número correcto de cromosomas humanos, y se introducen elementos técnicos que permiten visualizar mejor la estructura de los cromosomas. En este periodo se inicia el descubrimiento de las aberraciones cromosómicas.
- 1956-1966 se considera el periodo de oro de la citogenética en el mismo se descubren nuevos tipos de aberraciones y se delinean síndromes cromosómicos.
- 1966-1969 se considera una etapa de receso en el desarrollo técnico de la citogenética.
- 1969-1977 se considera el periodo del desarrollo de técnicas de bandas y se produce el descubrimiento de nuevos síndromes cromosómicos.
- 1977 hasta nuestros días comienza la era de la citogenética molecular.

El año 1956 marca el inicio de la Genética Clínica ya que paralelo al desarrollo de la citogenética se producen nuevos descubrimientos de defectos metabólicos y se produce un importante avance en la Genética Bioquímica. Entre ellos se destaca el descubrimiento del defecto bioquímico de la sicklemia por Pauling y sus colaboradores en el año 1949.

En 1953 se produjo un hecho trascendental no sólo para la Genética sino para toda la Biología, cuando aparece el modelo molecular del ADN propuesto por Watson y Crick. A partir de ese momento el gen dejó de ser sólo una intuición para tomar materialidad en una molécula específica. Este trabajo, considerado por muchos, como la hipótesis más brillante de la Biología contemporánea, no sólo aportó el conocimiento sobre la estructura del ADN sino que además dejó demostrado fehacientemente que esta molécula era la portadora material de la información genética.

La última década del siglo XX ha desbordado la imaginación en recursos técnicos, automatización, nuevos conocimientos, nuevas posibilidades para personas afectadas, familiares y para la sociedad. La manipulación del Genoma Humano ha requerido incorporar a la Ética Médica principios Bioéticos, surgidos por la necesidad de tomar decisiones que no dañen la integridad de nuestra propia especie.

El futuro de las Genética Humana, Médica y Clínica es difícil de predecir. La incertidumbre sobre nuevos tratamiento y utilización de nuevos fármacos dirigidos a enfermos con genotipos específicos, bajo el control de las grandes industrias farmacéuticas, pone en peligro el principio ético de la justicia, pues los recursos financieros para la producción de estos fármacos es muy elevada y habría que preguntarse que personas con un tipo específico de defecto genético tendrían la posibilidad de ser tratados. ¿Qué nuevos recursos técnicos se inventarán? ¿Qué nuevos conocimientos surgirán? ¿Beneficiarán o perjudicarán esos nuevos conocimientos a las poblaciones del Tercer Mundo?

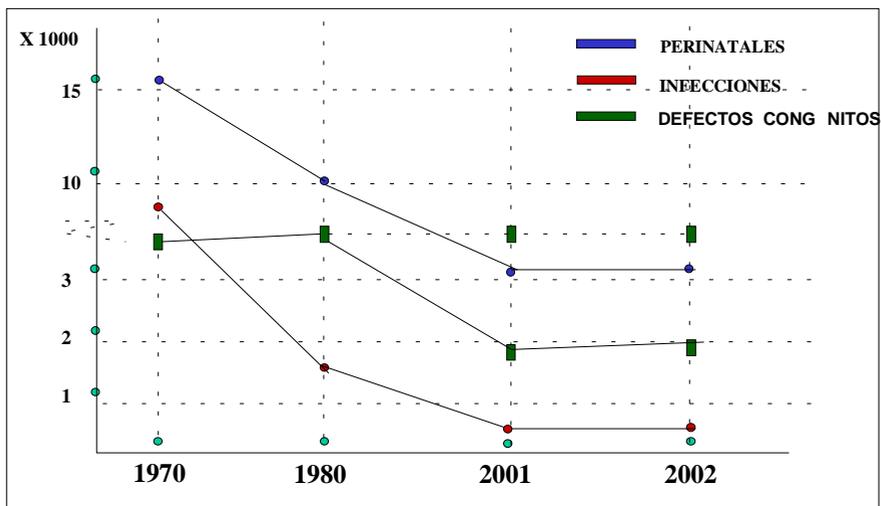
Una verdad se abre, para contribuir en lo adelante al desarrollo del Proyecto Genoma Humano, es necesario tener presente que el punto de partida de ahora en lo adelante es conocer la epidemiología de lo que es raro y tener el consentimiento de estudio de las personas afectadas a fin de dar la respuesta a ¿por qué es raro? y para eso se requiere del desarrollo de la Genética Comunitaria, que será el pilar del futuro desarrollo de las Genética Humana y Médica y que dará respuesta a las exigencias de diagnóstico, tratamiento, prevención y pronóstico que comprometen al desarrollo de la Genética Clínica. Las Ciencias Médicas no escapan a tan elevado volumen de información y de exigencias prácticas tanto a nivel preclínico como a nivel clínico. Es necesario prepararse para enfrentar un futuro insospechado en el campo de la Genética del siglo XXI y la repercusión que es de esperar en la atención médica.

## LAS ENFERMEDADES GENÉTICAS

Los datos que ofrece la epidemiología de las enfermedades genéticas y defectos congénitos se caracterizan por su estabilidad en el tiempo en regiones específicas, Sus variaciones obedecen fundamentalmente a la edad del grupo poblacional que se estudie ya que muchos defectos genéticos se ponen de manifiesto a diferentes edades o causan mortalidad en diferentes periodos de la vida, pero la tendencia una vez realizados los estudios y conocida su epidemiología es a permanecer con prevalencias similares durante años. Solamente varían si se producen factores ambientales que cambien la tasa de nuevas mutaciones o por la ocurrencia de otros factores que pueden estudiarse en el capítulo 16; de ahí la importancia de los registros de enfermedades genéticas y de defectos genéticos ya recomendados por científicos desde el siglo XIX.

Ocurre con frecuencia que dentro de los indicadores de mortalidad infantil se miden los defectos congénitos, pero las frecuencias de estos, cuando hay otros factores ambientales que elevan las causas de mortalidad, impiden reconocer exactamente que las variaciones en las frecuencias de los defectos congénitos son casi constantes. Es por eso que cuando se trata en el tema de Salud, el análisis epidemiológico los defectos congénitos no alcanzan a identificarse como un problema principal cuando existen otros con frecuencia mucho más elevadas. Solamente después de resolver la prevención de la mortalidad a expensas de enfermedades infecciosas y perinatales y de disminuir la incidencia de éstas, es que los defectos congénitos manifiestan un aumento relativo de ellas que pueden incluso causar alarma.

Un ejemplo puede apreciarse en el gráfico en el que se analizan los tres primeros factores de mortalidad en Cuba en el primer año de vida desde el período de 1970 al 2002



Tanto los factores perinatales como las infecciones experimentaron una disminución gradual en el periodo 1970-1980 reflejo de acciones preventivas concretas. Si observamos la frecuencia de mortalidad por defectos congénitos en ese periodo observaremos que estas se mantuvieron constantes como era de esperar. A partir del año 1987 hasta el 2002 comenzaron a realizarse en Cuba medidas preventivas prenatales para la detección temprana de defectos congénitos y ofrecer a las parejas involucradas la opción de discontinuar la gestación. Con esta intervención y la incorporación de los servicios de Genética Clínica a todo el país, se ha logrado disminuir la tasa de mortalidad debida a defectos congénitos. Si no hubiese existido acción de prevención alguna, las frecuencias se hubieran mantenido similares a las experimentadas en los años anteriores. Nuestros indicadores de mortalidad infantil en el primer año de vida, exhiben tasas muy bajas a expensas de problemas perinatales y muchísimo menores por infecciones. Estas últimas en los dos últimos años, inferiores a la mortalidad causada por defectos congénitos.

Los defectos congénitos por si mismos pueden manifestar variaciones en las frecuencias al nacimiento porque sus causas no siempre son de etiología genética. Muchas veces son el resultado del efecto de un agente ambiental, es por eso que los registros de defectos congénitos ofrecen la posibilidad de tener el papel de vigilancia epidemiológica ya que permiten identificar con rapidez si existe algún agente físico químico o biológico que se encuentre actuando como teratógeno. La identificación de un fenómeno de este tipo ofrece la oportunidad de tomar las medidas preventivas pertinentes.

Por su parte las enfermedades genéticas obedecen a una serie de afectaciones del ADN que se pueden clasificar en tres grandes grupos atendiendo al tipo de defecto:

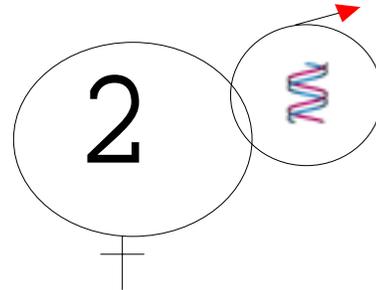
- Simples mutaciones que generalmente son hereditarias
- Anormalidades de los cromosomas que pueden ser diagnosticadas por el examen microscópico aplicando técnicas citogenéticas.
- Anormalidades de grupos de genes y el resultado de la interacción ambiental en ellos.

Cada una de estas alteraciones tienen sus peculiaridades al ser analizadas y diagnosticadas.

En los siguientes capítulos, los lectores interesados encontraran conocimientos e instrumentos que le permitirán su comprensión etiológica y la motivación hacia su diagnóstico, pronóstico, prevención y tratamientos.

# PANORAMA DE LA BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR

Rolando Hernández Fernández



*En 1953 se produce un hecho trascendental en la historia de la Biología, cuando la revista Nature publicó el trabajo sobre estructura del ADN de James D. Watson y Francis H. C. Crick. Este trabajo dio comienzo a una revolución en el campo de la Biología y marcó el inicio de la Biología Molecular. Desde entonces hasta nuestros días el conocimiento acerca de los mecanismos moleculares relacionados con la herencia biológica han alcanzado un desarrollo insospechado en épocas anteriores.*

*El conocimiento de la estructura molecular del ADN ha permitido esclarecer los mecanismos relacionados con la duplicación del ADN, la síntesis de los ARN y de las proteínas, la recombinación genética y la mutagénesis, así como los complejos mecanismos que permiten la autorregulación de todos esos procesos.*

*Por si esto fuera poco, a partir de ese descubrimiento se han desarrollado poderosos procedimientos experimentales que han rebasado el marco de la genética molecular y han incidido de forma fundamental en el conocimiento de la estructura y las funciones celulares, de los procesos del desarrollo filo y ontogenético, de la relación entre el genoma y el ambiente y de las bases moleculares de las enfermedades.*

*En este capítulo nos proponemos hacer un resumen de los principales aspectos de la Biología Celular y Molecular como una introducción panorámica para el resto de los capítulos del libro.*

## LA BIOLOGÍA CELULAR

La Biología Celular contemporánea tiene como objetivo explicar las funciones de las células a partir del conocimiento de la estructura, las propiedades y las funciones de las moléculas que la forman, especialmente de los agregados supramoleculares. Desde ese punto de vista la célula eucarionte se presenta como un complejo sistema biomolecular con un alto grado de organización estructural y funcional que constituye la unidad básica de los organismos superiores. Sus estructuras están formadas por agrupaciones de moléculas o de macromoléculas que forman verdaderos organitos en los cuales se llevan a

cabo todas las funciones celulares de una forma armónica y coordinada. Las moléculas que componen estos organitos son los lípidos, las proteínas, los ácidos nucleicos y los polisacáridos. Dos aspectos destacan en estas células, la existencia del núcleo donde se encuentra confinado el ADN y la existencia de una basta red de estructuras membranosas que dividen la célula en numerosos compartimentos, de manera que los procesos se produzcan con relativa independencia uno de otros. Así, para realizar funciones complejas es necesario que se genere un flujo de sustancia, energía e información no sólo entre la célula y su entorno sino además entre los diferentes compartimentos intracelulares.

### **La membrana plasmática**

La membrana plasmática es una estructura laminar que rodea a la célula separándola y comunicándola con el exterior. Está compuesta por lípidos, polisacáridos y proteínas. La estructura básica está formada por una doble capa de moléculas de lípidos que son los fosfátidos de glicerina, los esfingolípidos y el colesterol. Estos lípidos presentan una estructura anfipática, es decir, contiene una zona polar pequeña y una zona apolar mucha más grande. En las membranas las zonas apolares se disponen hacia el interior y las zonas polares hacia el exterior, una en contacto con el espacio extracelular y otra hacia el interior de la célula. Hasta hace poco se daba por sentado que los lípidos de la membrana solamente tenían un papel pasivo como parte de la barrera que separa la célula del exterior, sin embargo, recientemente se ha descubierto que los componentes lipídicos de la membrana intervienen en complejos mecanismos de comunicación intercelular, unos generando segundos mensajeros (como el diacilglicerol), otros regulando la actividad de enzimas (como el fosfatil inositol) y aún unos terceros como precursores de importantes señales moleculares (como el ácido araquidónico que da origen a las prostaglandinas) que comunican a una célula con sus vecinas. Los lípidos además participan en los mecanismos de difusión a través de la membrana de sustancias apolares y del agua.

Los polisacáridos suelen ser cortos (catorce a veinte unidades) y ramificados, con monosacáridos derivados (galactosamina, fucosa, glucosamina, etc.) y siempre están orientados hacia el espacio extracelular. Participan en funciones de reconocimiento intercelular (como los grupos sanguíneos) y se encuentran unidos bien a los lípidos, bien a las proteínas.

Las proteínas son los componentes funcionales más importantes de las membranas. Las funciones específicas que una membrana realiza se deben a las proteínas que contiene. Las proteínas pueden ser extrínsecas o periféricas si sólo están en contacto con la parte polar de la membrana e intrínsecas o integrales si lo hacen con la zona apolar, entre las que se encuentran las transmembranales que atraviesan la membrana de un lado al otro. Las proteínas pueden constituir poros por donde pasan sustancias polares cuyo

diámetro sea inferior al del poro; canales, que cumplen una función similar, pero son estructuras más activas que se abren y se cierran en respuesta a determinados estímulos (cambios de voltaje, unión de un ligando); transportadores que llevan sustancias de un lado al otro de la membrana, bien a favor de su gradiente de concentración (transporte pasivo) o contra el gradiente (transporte activo) en cuyo caso requieren de una fuente de energía como la hidrólisis del ATP. Otras proteínas son enzimas que pueden estar formando parte permanente de la membrana o asociarse temporalmente con ésta. Por último existen proteínas que actúan como receptores de señales extracelulares que permiten adaptar el funcionamiento de la célula a las condiciones específicas del organismo en un momento dado.

## El sistema de endomembranas

El sistema de endomembranas consta de dos componentes, un sistema continuo de membranas intracelulares y un conjunto de orgánitos citoplasmáticos membranosos independientes (Figura 2.1). Al primer grupo pertenecen el retículo endoplásmico tanto el liso como el rugoso, el aparato de Golgi y la envoltura nuclear. Las membranas de este sistema son esencialmente iguales en estructura a la membrana plasmática, sin embargo sus diferencias radican en las proteínas que poseen, lo que hace que cada uno de ellos cumpla funciones diferentes. Así, en el retículo endoplásmico liso se encuentran las enzimas relacionadas con la síntesis de lípidos y las que participan en los mecanismos de detoxificación. En el retículo endoplásmico rugoso se encuentran proteínas que actúan como receptores para los ribosomas, a los cuales éstos se fijan durante la síntesis de proteínas que van a formar parte de las membranas o que serán segregadas al exterior.

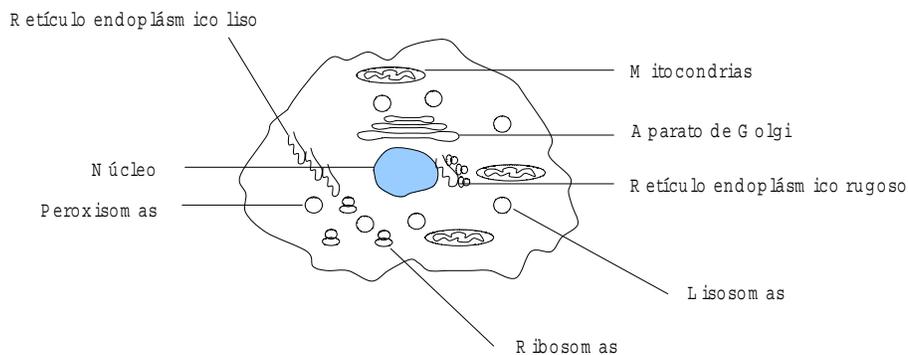


Figura 2.1. Se representan esquemáticamente los componentes de una célula eucariote. Por simplicidad del esquema no se representan los componentes del citoesqueleto.

La envoltura nuclear está formada por dos membranas, la externa cubierta temporalmente de ribosomas y la interna asociada con la lámina nuclear. Estas membranas se fusionan en numerosos puntos dejando una abertura cuyas paredes están cubiertas de proteínas dando lugar al llamado complejo del poro nuclear por donde transitan macromoléculas, tanto desde el núcleo hacia el citoplasma, como en sentido contrario. El aparato de Golgi está formado por un conjunto de sacos membranosos aplanados que está muy desarrollado en las células secretoras. En su interior las proteínas sintetizadas por los ribosomas unidos al retículo endoplásmico rugoso son modificadas, principalmente por glicosilaciones, concentradas y empaquetadas para ser enviadas a diferentes lugares, entre ellos los lisosomas, los peroxisomas y la membrana plasmática.

Los organitos citoplasmáticos membranosos son las mitocondrias, los lisosomas y los peroxisomas. Las mitocondrias están formadas por dos membranas, la externa es lisa y permeable a moléculas de hasta 10 kDa, mientras que la interna forma pliegues hacia el interior llamados crestas y es prácticamente impermeable a casi todas las sustancias con excepción del agua, el oxígeno y el dióxido de carbono. El espacio limitado por la membrana interna recibe el nombre de matriz y es el asiento de importantes procesos metabólicos principalmente del Ciclo de Krebs. La membrana interna contiene cerca de un 70% de proteínas entre las cuales se encuentran las que forman parte de la cadena transportadora de electrones y la ATP sintetasa que cataliza la formación del ATP. Muchas de las otras proteínas actúan como transportadores, lo cual es necesario debido a la poca permeabilidad de la membrana.

Los lisosomas contienen un gran número de enzimas hidrolíticas capaces de degradar un gran número de sustancias complejas por lo que se han identificado como el sistema digestivo de la célula. Su membrana contiene una bomba de protones que permite mantener en el interior un pH más bajo que en el exterior. Como las enzimas tienen su mayor actividad a ese pH en caso de ruptura de los lisosomas su contenido sería vertido al citosol, donde el pH más alto inactivaría a las enzimas impidiendo la digestión de los componentes celulares.

Los peroxisomas son corpúsculos membranosos redondeados que contienen un buen grupo de enzimas oxidativas, entre ellas la catalasa y la peroxidasa, y otras que participan en la oxidación de los ácidos grasos de cadena muy larga.

Se han descrito numerosas enfermedades debidas a la deficiencia genética de muchas de las proteínas que forman parte del sistema de endomembranas.

## **El citoesqueleto**

El citoesqueleto forma una especie de armazón de la célula y está integrado básicamente por tres tipos de estructuras: los microfilamentos, los microtúbulos y los filamentos intermedios. Los microfilamentos se forman por la polimerización de la actina en presencia de ATP. Estos filamentos forman una intrincada red inmediatamente por debajo de la membrana plasmática y mediante proteínas específicas están en contacto con componentes de la matriz extracelular. Los microfilamentos son estructuras dinámicas. Existe normalmente un equilibrio entre las reacciones de polimerización y despolimerización de la actina que hace posible los movimientos que realiza la membrana plasmática en los movimientos ameboides y durante el proceso de fagocitosis.

Los microtúbulos se forman por la polimerización de la tubulina de la cual existen dos variedades, la  $\alpha$  y la  $\beta$ . Estas forman un dímero que se polimeriza dependiendo de GTP. Los dímeros al polimerizarse dan lugar a una estructura helicoidal que deja una luz central que es el motivo de su nombre. Los microtúbulos se disponen en forma radiada desde el núcleo hacia la periferia de la célula, creando una armazón que da forma y consistencia a la célula. Proteínas que funcionan como motores moleculares se asocian a la superficie de los microtúbulos y transportan sustancias de gran tamaño incluyendo vesículas membranosas y macromoléculas. También constituyen una estructura dinámica que se polimeriza y despolimeriza de acuerdo con las condiciones celulares. Una forma especial de estos microtúbulos es el huso acromático que se forma durante la división celular.

Los filamentos intermedios son proteínas fibrilares que se asocian lateralmente y dan a la célula consistencia y resistencia a las tensiones. Mientras la actina y la tubulina son las mismas en todas las especies celulares, los filamentos intermedios son específicos de cada tipo, así en los epitelios se encuentran los filamentos de queratina mientras los neurofilamentos se encuentran en el sistema nervioso. Entre los filamentos intermedios se encuentran las lamininas A, B y C que son los componentes moleculares de la lámina nuclear.

## **Los ribosomas**

Los ribosomas no son orgánitos membranosos pues están formados por ácidos ribonucleicos ribosomales y proteínas. Están formados por dos subunidades de tamaño diferente denominadas L la mayor y S la menor. La subunidad L contiene los ARNr de 28 S, 5,8 S y 5 S y más de cincuenta proteínas. La subunidad S solo contiene el ARNr de 18 S y unas 35 proteínas. Para su funcionamiento requieren además del concurso de un buen número de proteínas no ribosomales. La función de los ribosomas es la traducción genética o sea, la síntesis de proteínas.

## **El núcleo celular**

El núcleo constituye una estructura característica de las células eucariontes, de hecho es lo que le da el nombre. Está separado del citoplasma por una envoltura compuesta de dos membranas como ya fue mencionado. Por debajo de la membrana presenta una estructura proteínica llamada lámina nuclear compuesta por dos proteínas denominadas laminina A y B, que al polimerizarse forman la estructura laminar. A ella se encuentra unida la cromatina en diversos puntos, al parecer necesarios para la replicación. Al inicio de la mitosis la laminina B es fosforilada por el complejo Ckd1/ciclina B y se despolimeriza provocando la desintegración de la envoltura nuclear. Recientemente se ha establecido que también en el núcleo existen compartimentos aunque éstos no están separados por membranas. Así, se distinguen los cuerpos de Cajal, los corpúsculos de empalme y otros. El componente fundamental de núcleo es la cromatina, un complejo supramacromolecular formado por el ADN y proteínas, principalmente histonas. La célula somática humana contiene 23 pares de moléculas de ADN, la menor de unos 50 millones de pares de bases y la mayor de alrededor de 350. Estas moléculas de ADN y las proteínas correspondientes sufren un proceso de empaquetamiento al final de la etapa G2 del ciclo celular y se hacen visibles en forma de cromosomas al inicio de la mitosis. Las características estructurales de los cromosomas serán estudiadas con más detalle en el capítulo 6. En el núcleo se distingue una estructura más o menos redondeada, casi siempre ubicada hacia la periferia que es el nucleolo. Se forma por la agrupación de los genes que codifican los ARNr localizados en los cromosomas 13, 14, 15, 21 y 22. En él se distingue una zona central de carácter fibrilar reflejo de la transcripción activa de esos genes, y una zona periférica de carácter granular que se corresponde con el sitio de ensamblaje de las subunidades ribosomales. En el núcleo se realizan los procesos de replicación, reparación y transcripción del ADN, así como el procesamiento de los ARN transcritos primarios. Igualmente se realiza un intenso tráfico desde el núcleo hacia el citoplasma y viceversa de macromoléculas a través del complejo del poro nuclear. Los ARN por lo general son exportados del núcleo. Las proteínas del núcleo se sintetizan en el citoplasma y pasan al núcleo porque presentan en su estructura una secuencia de localización nuclear (NLS del inglés nuclear localization sequence). Sin embargo, existen proteínas que reciclan entre el núcleo y el citoplasma. Para su entrada requieren de NLS y para su salida del NES (del inglés nuclear export sequence). Últimamente ha cobrado fuerza la existencia de un nucleoesqueleto formado por proteínas fibrilares que le dan la forma y consistencia al núcleo.

## EL CICLO CELULAR

En el desarrollo ontogenético de un organismo pluricelular las células más primitivas se multiplican y se van diferenciando de manera que cada célula forma parte de un órgano o tejido especializado. Cada estirpe celular prolifera hasta cierto punto y entonces se detiene. Los órganos sólidos adquieren forma y tamaño fijos y después cesa el crecimiento. En el individuo adulto el crecimiento de muchos tipos celulares transcurre a velocidades muy lentas que solo permiten reponer células viejas o dañadas.

Al terminar la división celular (fase M) a las células hijas se le presentan dos alternativas, bien entrar en un periodo de reposo (G0) donde la mayor parte de las funciones celulares se expresan a un nivel basal; bien comenzar a prepararse para un nuevo ciclo de replicación (G1). Las células en G1 comienzan su actividad metabólica pero esta puede decrecer si en un momento determinado no son estimuladas por factores de crecimiento del tipo del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF)<sup>1</sup> que hace a las células competentes (por eso le llamamos punto C) para continuar su recorrido por G1. Pasado el punto C las células muestran una intensa actividad metabólica. Se incrementa el transporte de nutrientes a través de la membrana. Hay un aumento considerable de la glucólisis y de la síntesis de proteínas. Pero aparece un nuevo punto donde las células deben ser estimuladas por factores como la insulina o el factor insulinoide de crecimiento 1 (IGF?1).<sup>2</sup> Si las células rebasan ese punto continúan su progresión por el ciclo (por eso le denominamos punto P). A partir de aquí se produce un intenso tráfico de proteínas hacia el núcleo, tal vez las que participan en la replicación del ADN.

Las interacciones de las células con factores específicos de crecimiento constituyen un control positivo, pues la presencia del factor en el medio estimula la proliferación celular.

Los factores de crecimiento influyen sobre la actividad celular porque las células poseen en la membrana plasmática receptores específicos para ellos. Estos receptores son proteínas transmembranales que hacia el lado citoplasmático presentan un dominio enzimático con actividad de tirosil protein kinasa (TPK), es decir, que transfiere grupos fosforilos del ATP hacia proteínas, en las cuales los esterifica con residuos de tirosina. La unión del factor con su receptor específico estimula la actividad de TPK del receptor que en primer lugar se autofosforila y después fosforila a otras proteínas de la membrana y del citosol. Las proteínas fosforiladas por el receptor son, por lo general, kinasas que fosforilan a otras enzimas y así se establece una cadena de fosforilación que comienza en

<sup>1</sup> Las abreviaturas provienen del nombre en inglés, en este caso PDGF: Plateld Derived Growth Factor.

<sup>2</sup> Insulin-like Growth Factor.

la membrana y avanza hacia el núcleo, donde la fosforilación de factores de transcripción activan la expresión de genes específicos, cuyos productos están relacionados con los mecanismos de la proliferación celular.

Los estudios de transformación llevados a cabo con virus ADN llevaron a la conclusión de que el ciclo celular exhibe igualmente un control negativo. Las células elaboran proteínas cuya función es inhibir la progresión del ciclo. Cuando uno de estos virus infecta a una célula, ésta produce proteínas codificadas por el genoma viral. Se ha podido comprobar que algunas de ellas se asocian con proteínas del hospedero y las mantienen inactivas. Libres del freno que significa la actividad de las proteínas inhibitoras las células proliferan incontroladamente.

En condiciones normales los mecanismos positivos y negativos forman una intrincada red molecular cuyo funcionamiento armónico permite que el grado de proliferación celular se adapte perfectamente al momento del desarrollo del organismo y a las condiciones ambientales imperantes.

Los estudios del ciclo celular en muchos organismos han mostrado que en todos ellos el ciclo celular progresa básicamente por la intervención de un número reducido de familias de proteínas con funciones similares a las de levaduras.

## **Las ciclinas**

Las ciclinas constituyen una familia de proteínas muy diversas de masa molecular relativamente pequeña, 35 a 90 kD, que fueron identificadas y nombradas porque su síntesis fluctúa durante el ciclo celular. Presentan una secuencia de 100 residuos de aminoácidos conocida como motivo de ciclinas. Este motivo es necesario para la unión a, y la activación de las Cdk correspondientes.

La concentración intracelular de un tipo particular de ciclina se eleva bruscamente en un momento del ciclo celular y poco tiempo después también disminuye bruscamente. Mucho se ha investigado acerca del sistema regulador capaz de generar esas oscilaciones en las concentraciones intracelulares de ciclinas y se han podido identificar al menos dos sitios de regulación: la transcripción génica y la degradación de proteínas.

En los mamíferos el conocimiento del control de la transcripción de las ciclinas se limita a la transición entre la fase G1 y la S. La cascada enzimática desencadenada por los factores de crecimiento conduce a la activación de la ERK<sup>(3)</sup>, una proteína de la familia de las MAPK<sup>(4)</sup>. La ERK por medio de la fosforilación produce la activación de

<sup>3</sup> Del inglés **E**xtracellular signal **R**egulated protein **K**inases.

<sup>4</sup> Del inglés **M**itogen **A**ctivated **P**rotein **K**inases.

los factores de transcripción AP-1 y ETS que estimulan la transcripción del gen de la ciclina D. La ciclina D forma complejos con las Cdk4 y la Cdk6. Estos complejos fosforilan a la proteína pRB (proteína del gen del retinoblastoma) y eliminan la inhibición que ésta ejercía sobre el factor de transcripción de la familia E2F, los cuales son necesarios para la transcripción de varios genes cuyos productos están involucrados en la replicación del ADN. También E2F es capaz de estimular la transcripción de los genes de la ciclina E, la ciclina A y el propio E2F.

La transcripción del gen de la ciclina E permite la activación del complejo Cdk2/ciclina E que también fosforila a pRB. Como E2F controla su propia transcripción estas fosforilaciones desencadenan un ciclo de retroacción positiva que incrementa rápidamente la concentración de E2F y con ello la velocidad de la transcripción de los genes que de él dependen, especialmente los relacionados con la replicación del ADN y de esta forma se logra la transición de la fase G1 a la S. El E2F también estimula la transcripción de la ciclina A que actúa con la Cdk2 como compañera formando el complejo Cdk2/ciclina A. Este complejo, cuya concentración se incrementa a medida que avanza la fase S es capaz de fosforilar a E2F haciendo que éste abandone el ADN y con ello se suprime la transcripción de los genes dependientes de E2F.

De esta forma todos los genes cuya transcripción depende de E2F comienzan a transcribirse lentamente a mediados de G1, después se incrementa la transcripción en la transición de G1 a S, y prácticamente queda eliminada al final de la etapa S.

Si la regulación transcripcional está mejor conocida para las ciclinas de la fase G1, la regulación por proteólisis está más estudiada para las ciclinas mitóticas, es decir, A y B. Para arribar a la telofase y poder salir de la mitosis, las células promueven la degradación proteolítica de las ciclinas. Esta proteólisis se lleva a cabo por el sistema dependiente de la ubiquitina y requiere de una pequeña secuencia de aminoácidos localizada hacia el extremo N terminal de las ciclinas A y B y que se conoce como motivo de autodestrucción. Esa destrucción se realiza por un gran complejo multiproteínico denominado Complejo Promotor de la Anafase, o Ciclosoma, que cataliza la transferencia de ubiquitina a varios sustratos mitóticos, entre ellos a las ciclinas. La actividad del complejo promotor de la anafase permanece elevada durante G1 hasta la aparición de las ciclinas características de esta etapa. También las ciclinas E y D son degradadas por el sistema de la ubiquitina. En ambos casos se requiere la fosforilación de las ciclinas. Como se ha podido apreciar estos diversos mecanismos de regulación permiten que las ciclinas y con ellas sus Cdk acompañantes existan solamente en el lugar y en el momento adecuado del ciclo celular lo que permite que éste progrese de una generación celular a la siguiente.

## Las proteínas kinasas dependientes de ciclina (Cdk)<sup>5</sup>

Las protein kinasas dependientes de ciclina (Cdk) son enzimas que transfieren grupos fosforilos del ATP hacia grupos hidroxilos de serina o treonina de las proteínas sustratos.

La progresión del ciclo por G1 en los vertebrados requiere la estimulación externa por factores de crecimiento (Figura 2.2). En muchos tipos celulares la respuesta clave a estos factores de crecimiento es la activación de la Cdk4 u otra íntimamente relacionada con la Cdk6 las cuales actúan en asociación con las ciclinas D (D1, D2 y D3). Los complejos Cdk4/Cdk6/ciclina D hacen progresar las células por G1 al suprimir la acción antiproliferante de la proteína pRB, como lo demuestra el hecho de que células carentes de pRB progresan por G1 en ausencia de Cdk4/ciclina D.

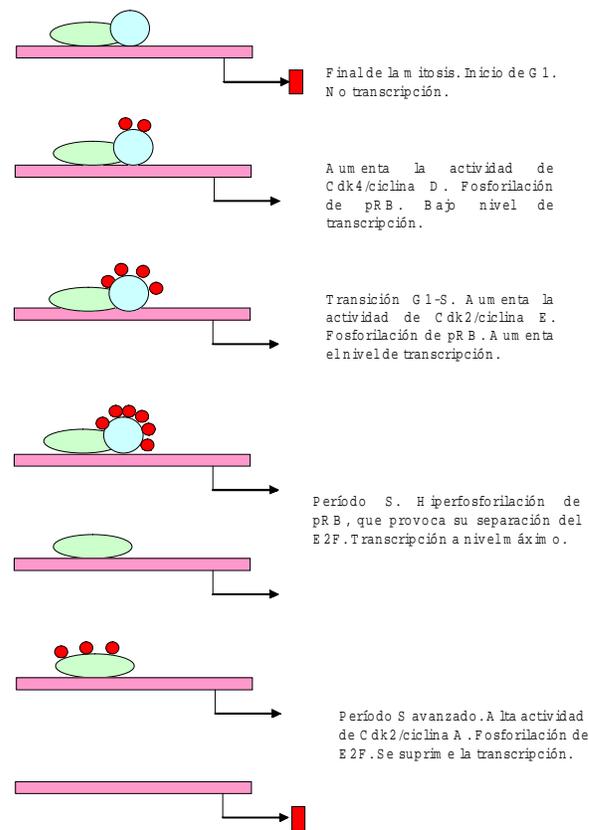


Figura 2.2. Eventos moleculares que favorecen la progresión del ciclo celular. Más detalles en el texto.

<sup>5</sup> Del inglés Cyclin-Dependent Kinases.

La Cdk2 se asocia con la ciclina E en la transición de la fase G1 a la fase S y posteriormente se asocia con la ciclina A haciendo progresar la fase S aunque su papel exacto no está totalmente establecido.

La concentración nuclear de la ciclina B se eleva a mediados de la fase G2 y forma complejos con la Cdk1 al cual se ha llamado Factor Promotor de la Mitosis (MPF del inglés mitosis promoting factor). Este complejo es el que fosforila la lámina nuclear en la profase posibilitando la desintegración de la envoltura nuclear.

Existen como mínimo cuatro mecanismos principales para la regulación de la actividad de las Cdk. El mecanismo primario de activación es la unión con las ciclinas, que se completa en la mayoría de las Cdk por la fosforilación en un residuo específico de treonina de la posición 160. Por otra parte los complejos Cdk/ciclina pueden ser inactivados por al menos dos mecanismos: la unión con proteínas inhibitoras (CDI) y la fosforilación en sitios inhibitorios cerca del extremo N terminal.

### **Los inhibidores de las Cdk (CDI/CKI)**

Todos los mecanismos reguladores de la progresión de un proceso no sólo necesita de factores que lo aceleren sino que también requieren de algunos que lo frenen o retarden. El ciclo celular también posee esos frenos moleculares que son los inhibidores de las quinasas dependientes de ciclina (CDI o CKI). Estos inhibidores forman un grupo de proteínas de masa molecular relativamente pequeña, 15 a 57 kDa, cuya unión a los complejos Cdk/ciclina determina la inactivación de éstos. En las células de mamíferos pueden distinguirse dos grupos de CDI: la familia Cip/Kip y la familia INK4. Los primeros son inhibidores de cualquiera de las Cdk, mientras los segundos son específicos para las Cdk que actúan con las ciclinas D. Los distintos miembros de cada familia actúan en tejidos específicos y proporcionan un mecanismo mediante el cual puede retardarse la progresión del ciclo celular en respuesta a señales tanto intracelulares como extracelulares.

Análisis de ligamiento genético de familias con melanoma hereditario localizaron un gen putativo de susceptibilidad en la región cromosómica 9p21, la cual es un sitio de rearrreglos cromosómicos frecuentes y pérdida de heterocigocidad en otros tumores esporádicos. Esta región incluye los genes INK4a y INK4b ligados en tándem y las mutaciones encontradas argumentan a favor de que el gen implicado es el INK4a. Recientemente se ha demostrado que mutaciones y deleciones que involucran a INK4a son frecuentes en diferentes tipos de tumores humanos. Esto significa que INK4a puede funcionar como un gen supresor tumoral.

### **Fosfoproteínas fosfatasas**

Como ya fue señalado la actividad de los complejos Cdk/ciclinas depende del grado de fosforilación de la subunidad catalítica. Por lo tanto es el balance entre la actividad de las quinasas y las fosfatasas lo que en última instancia determina el progreso del ciclo celular.

Se ha identificado una actividad enzimática designada KAP (por Kinase associated phosphatase) que cataliza la hidrólisis del enlace éster fosfórico en la posición T160. Esta reacción solamente se realiza si la Cdk no está unida a su ciclina acompañante pues la enzima no es capaz de actuar sobre los complejos Cdk/ciclina, bien porque la ciclina inhibe la actividad de la KAP, bien porque ambas proteínas se unen a la Cdk por el mismo sitio.

La desfosforilación de los sitios inhibitorios es catalizada por fosfoproteínas fosfatasa pertenecientes a la familia génica CDC25. En los humanos existen al menos tres miembros de esta familia denominados Cdc25A, Cdc25B y Cdc25C, de ellas las dos primeras se expresan en G1 y en la transición hacia la fase S mientras la Cdc25C es la isoforma mitótica. Estas enzimas requieren ser fosforiladas para su activación. La Cdc25A que es necesaria para la iniciación de la fase S es fosforilada y activada por el complejo Cdk2/ciclina E que como ya se señaló se encuentra activado al final de la fase G1.

En las desfosforilaciones también parecen estar implicadas otras fosfoproteínas fosfatasa inespecíficas como las tipo 1A y 2A.

## **LA BIOLOGIA MOLECULAR**

La Biología Molecular se ocupa básicamente de los mecanismos moleculares que son el sustento de los procesos de transmisión, expresión y conservación de la información genética, a partir de la estructura, las propiedades y las funciones de las macromoléculas implicadas en esos procesos. También estudia las alteraciones que se producen en esos procesos como consecuencia de las acciones de agentes internos y externos que ocurren sobre el individuo actual o sobre sus antecesores. Por último se encarga de la aplicación a la industria, la agricultura, el cuidado del ambiente, la medicina, etc., de esos conocimientos. Las modernas Biotecnologías son la expresión más acabada de la aplicación de la Biología Molecular a la práctica diaria del hombre. Sus inicios pueden ubicarse en 1953 con la aparición del modelo molecular del ADN postulado por Watson y Crick.

### **Estructura del ADN**

Se ha calculado que el organismo humano posee  $10^{12}$  células somáticas y cada una de ellas posee en su núcleo 46 moléculas de ADN que constituyen el contenido fundamental de los cromosomas. Además en cada una de las mitocondrias existe un número variable de moléculas de ADN que se diferencia en algunos aspectos de las moléculas del ADN nuclear.

Según el modelo descrito por Watson y Crick el ADN está formado por hebras de polidesoxinucleótidos (esto es, que resultan de la unión de un gran número de desoxinucleótidos) enlazados mediante un enlace fosfodiéster. Este enlace se establece entre la posición 3' de un

desoxinucleótido y la posición 5' del otro por lo que se denomina 3' 5'. De esta forma la hebra posee un extremo con el grupo fosfato de la posición 5' libre (extremo 5') y el otro que presenta libre el grupo OH de la posición 3' (extremo 3'). Cada desoxinucleótido a su vez está formado por una base nitrogenada que puede ser purínica o pirimidínica, por la D-2-desoxiribosa y una o más moléculas de ácido fosfórico. Las bases purínicas del ADN son la Adenina (A) y la Guanina (G), mientras que la pirimidínicas son la Citosina (C) y la Timina (T). Cuando se forma el polímero hay una zona con una estructura monótona pues en ella se alternan la desoxiribosa y el grupo fosfato a todo lo largo de la cadena, pero también una zona diversa pues las bases nitrogenadas que sobresalen de la estructura monótona son diferentes en cada sector de la molécula. Es precisamente en el orden o sucesión de esas bases nitrogenadas donde está contenida la información genética (Figura 2.3).

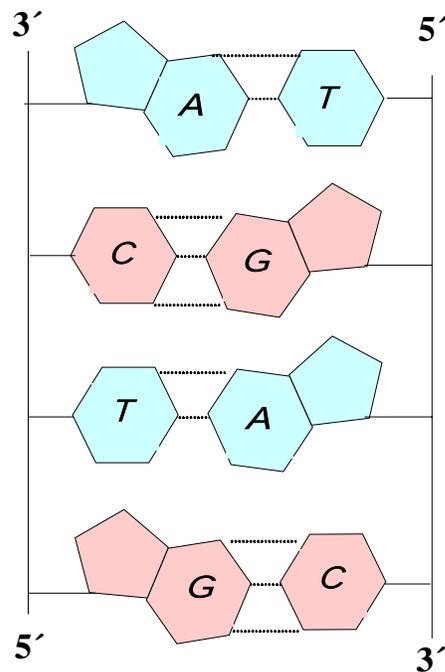


Figura 2.3. Diagrama de la estructura secundaria del ADN que muestra el eje covalente principal de desoxirribosa y fosfato, que forman la doble hélice con giro derecho. Las bases nitrogenadas (no representadas) se orientan hacia el interior de la molécula perpendiculares al eje covalente principal. Los pares de bases son obligados adenina con timina y guanina con citosina.

Watson y Crick propusieron que la molécula de ADN estaba formada por dos hebras que se disponían en forma antiparalela, es decir, el extremo 5' de una coincidía con el 3' de la otra y adquirirían la forma de una doble hélice de giro derecho. La zona monótona estaba dispuesta hacia el exterior mientras que la zona diversa se orientaba hacia el interior de la molécula, de manera que las bases nitrogenada de una hebra se enfrentaban a las bases de la otra. Lo más trascendental del modelo era que la estructura solamente podía acomodar dos pares de bases, los formados por la Adenina y la Timina (A-T) y por la citosina y la Guanina (C-G). Las bases de cada par se dice que son complementarias. Estos pares se mantenían unidos por la formación de puentes de hidrógeno entre las bases, dos puentes en el par A-T y tres en el C-G. No existía restricción alguna para la sucesión de la bases en una de las hebras, pero la de la otra hebra venía determinada debido al carácter complementario del apareamiento.

Este modelo permitió ver rápidamente el fundamento de una de las funciones más trascendentales de los seres vivos, esto es, su reproducción en seres de su misma especie. Para ello, las moléculas portadoras de la información genética debían duplicarse dando cada una dos moléculas idénticas a las progenitoras. Watson y Crick propusieron que durante ese proceso las dos hebras del ADN se separaban y cada una de ella servía de molde para la formación de la hebra complementaria. Esta idea básica ha resultado ser cierta, aunque el mecanismo es mucho más complejo que lo imaginado en los primeros momentos.

## **LA TRANSMISION DE LA INFORMACIÓN GENÉTICA**

Tal vez la característica más sobresaliente de los seres vivos es la de poder originar organismos esencialmente iguales a sus progenitores, es decir, reproducirse. Esto sucede gracias a que los organismos contienen en su ADN toda la información necesaria para la formación de un organismo similar. Por lo tanto, para reproducirse al organismo dado le basta con obtener una copia lo más exacta posible de su ADN y transferírsela a sus descendientes. Desde el punto de vista molecular este proceso consiste en obtener dos moléculas de ADN idénticas entre sí e idénticas a la que les dio origen. En eso precisamente consiste la replicación del ADN que es el mecanismo molecular que sustenta la reproducción de todos los organismos vivos.

### **La replicación del ADN**

Durante la fase S del ciclo celular se produce la replicación del ADN, proceso que consiste en obtener, a partir del ADN celular, dos moléculas idénticas de éste. Para este proceso se requiere el concurso de un gran número de proteínas enzimáticas y no enzimáticas.

El proceso global de la replicación comienza prácticamente durante la telofase de la mitosis cuando proteínas del llamado complejo de reconocimiento del origen (ORC) se unen a zonas específicas del ADN marcando los sitios donde debe comenzar la replicación. En las células humanas estos sitios son numerosos y pueden llegar a ser más de mil en un solo cromosoma. Al ORC se unen otras proteínas formando el complejo prereplicativo que está totalmente formado en G1 (Figura 2.4).

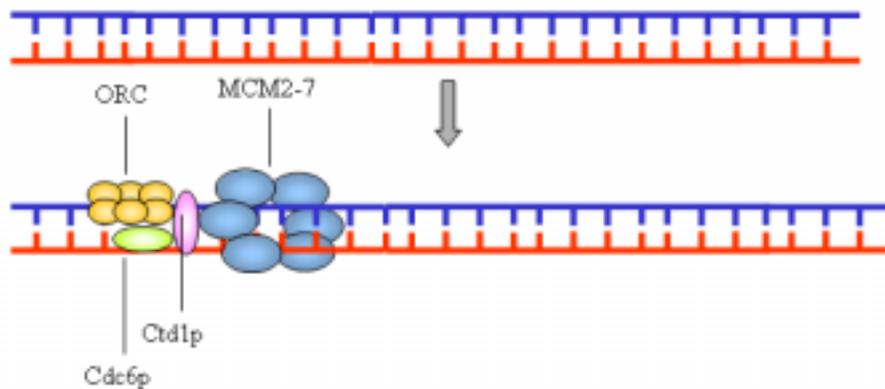


Figura 2.4. Durante el final de la telofase y la primera mitad del período G1 se forma el complejo prereplicativo formado por el complejo de reconocimiento del origen (ORC) la Cdc6p, la Ctd1p y el complejo MCM2-7 con actividad de helicasa

Para la formación de este complejo es necesario que los niveles de actividad de las Cdk esté bajo, como ocurre en estas etapas del ciclo. Cuando al final de G1 se elevan los niveles de actividad del complejo Cdk2/ciclina E, varias de las proteínas que forman el complejo son fosforiladas lo que permite reclutar a esos sitios a otras proteínas que dan inicio a la replicación. Como durante todo el resto del ciclo celular los niveles de actividad de las Cdk son altos, no es posible la formación de un nuevo complejo replicativo y esto garantiza que el ADN se replique solamente una vez durante el ciclo celular.(Figura 2.5).

La acción de todas esas proteínas permite la abertura de la doble hélice dando acceso a las bases nitrogenadas. La proteína replicativa A (RPA) estabiliza la hebra simple impidiendo vuelvan a aparearse. Un complejo enzimático formado por la ADN polimerasa  $\alpha$  y una enzima iniciadora (pol  $\alpha$ /iniciadora) se unen a la zona de hebra simple que se ha formado. La iniciadora forma un pequeño ARN de unos diez nucleóticos que después es alargado por la pol  $\alpha$  unos veinte nucleóticos aunque puede llegar hasta doscientos. (Figura 2.6).

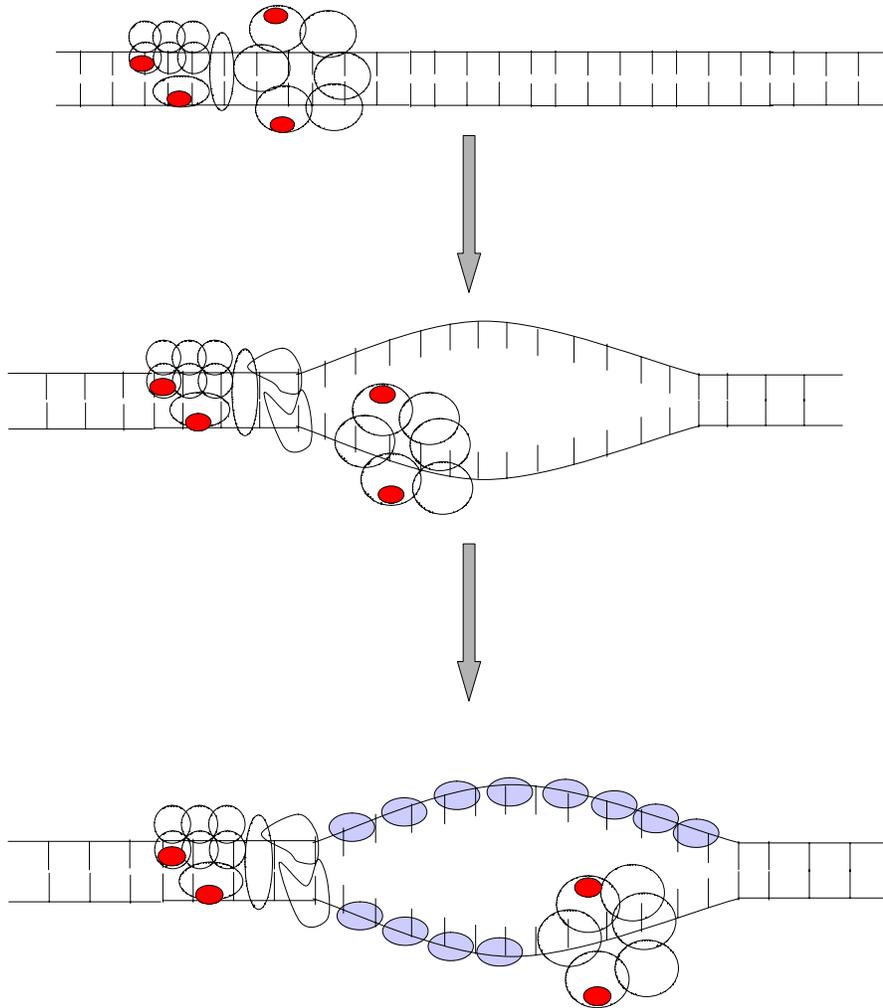


Figura 2.5. En la transición de G1-S aumenta la actividad del complejo Cdk2/cilina E que fosforila varias proteínas del complejo prereplicativo. Si estas proteínas están unidas al ADN permanecen ahí, pero si están libres no pueden unirse al ADN y esto impide que puedan realizarse dos replications en el mismo ciclo celular. Por otra parte estas fosforilaciones permiten la asociación de las proteínas Cdc45p y Mcm10p que de alguna forma propician la apertura del ADN. Esta apertura al parecer es ensanchada por el complejo MCM2-7. Las hebras son estabilizadas por la RP-A y esto permite la incorporación de la ADN polimerasa alfa.

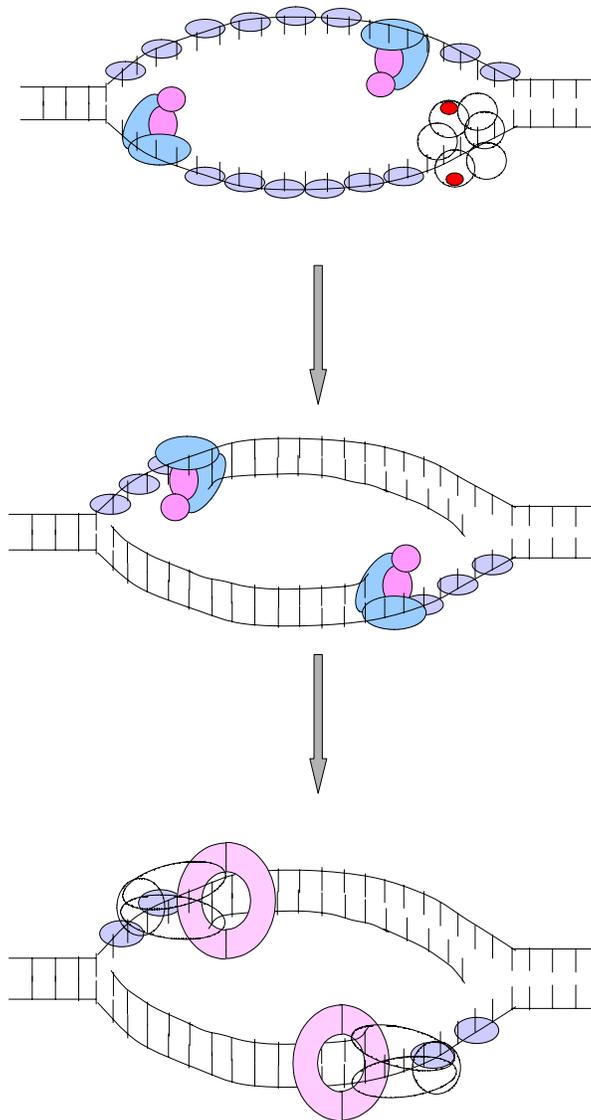


Figura 2.6. La ADN polimerasa alfa tiene actividad de iniciadora y sintetiza un fragmento de ARN complementario al ADN y después lo alarga con desoxinucleótidos hasta formar un polímero de unas 20 unidades que sirven de iniciador o cebador para la síntesis del ADN. En el extremo del iniciador la RF-C (no representada) monta el PCNA que permite la incorporación del la ADN polimerasa delta.

Al extremo 3' de este polinucleótido iniciador se asocia el factor replicativo C (RF-C) que carga al antígeno nuclear de células proliferantes (PCNA) alrededor del ADN. El PCNA forma un anillo deslizante que rodea al ADN pero sin entrar en contacto directo con él. Al PCNA se asocia la ADN polimerasa  $\delta$  (o la  $\epsilon$ ) que alarga el polímero hasta cerca de cinco mil nucleótidos sin separarse del ADN.

Como las polimerasas solamente alargan la cadena en el sentido 5'-3' una de las hebras se sintetiza de forma continua (hebra conductora) mientras que la otra se tiene que sintetizar por fragmentos, siendo necesario el concurso del complejo pol  $\alpha$ /iniciadora para la formación de cada fragmento. Los segmentos iniciadores son retirados por la endonucleasa FEN1, las brechas son rellenadas por la pol  $\epsilon$  (o la  $\delta$ ) y la hebra es sellada por la acción de la ADN ligasa 1 (Figura 2.7).

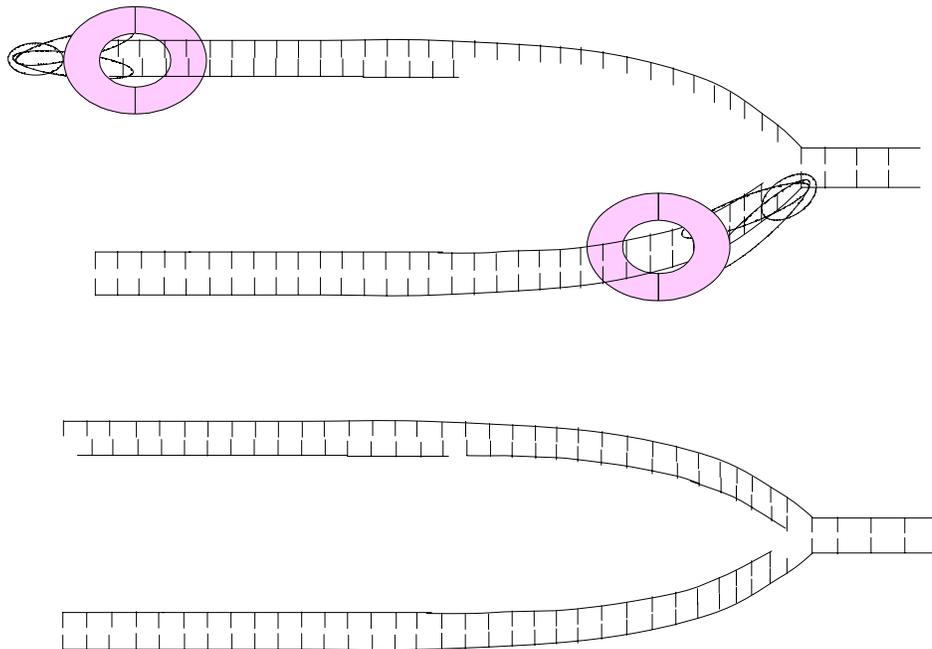


Figura 2.7. Como las ADN polimerasas alargan las hebras en el sentido 5'-3' una de las hebras se sintetiza de forma continua pero la otra tiene que hacerlo por fragmentos pues el movimiento de la horquilla de replicación es contrario al movimiento de la polimerasa

El movimiento del sistema sintetizador crea superenrolamientos en el ADN que son aliviados por la acción de la topoisomerasa I. Cuando dos horquillas de replicación que avanzan en sentido contrario (una hacia la otra) se encuentran el proceso termina. Como en cada cromosoma se forman cientos de horquillas la replicación del ADN de cada uno que tienen entre 50 y 350 millones de pares de bases se produce solamente en unas horas.

Para la replicación de los extremos del ADN que forma parte de los telómeros existe una enzima especial (telomerasa) que contiene como cofactor un ARN que le sirve de molde para el alargamiento de los extremos.

Todo este proceso se realiza con una alta fidelidad de copia pues las ADN polimerasas cometen un error por cada  $10^8$  a  $10^{10}$  desoxinucleótidos incorporados. Una vez terminada la replicación la célula entra en el período G2. Al inicio de esta etapa se realiza un proceso de corrección de la síntesis del ADN. Durante su actividad las ADN polimerasas cometen errores tales como la incorporación de bases incorrectas, la inserción de bases adicionales o la falta de incorporación de una o más bases. Se ponen en acción un grupo de proteínas codificadas por los genes MSH1, MSH2, MLH2, PMS1 y PMS2 cuya actividad coordinada es capaz de rectificar los errores cometidos durante la replicación. De no reparar los malos apareamientos aparecen mutaciones consistentes en cambios de bases, pero la no reparación de inserciones y deleciones dan lugar a la aparición de microsátélites que pueden dar lugar a una inestabilidad cromosómica. Un microsátélite es la repetición de unos pocos pares de base (generalmente de 1 a 3). Cuando se produce la elongación de la replicación del ADN, en ocasiones se producen deslizamientos en el movimiento de la ADN polimerasas  $\delta$  que en unos casos lleva a que una base sea copiada dos veces (inserciones) y en otras al salto de una base que no es copiada (deleciones), originándose así los microsátélites. La inestabilidad cromosómica originada por los microsátélites en algunos casos trae como resultado la transformación cancerosa de la célula, como sucede con el cáncer colorectal no polipósico hereditario.

Una vez rectificado el ADN comienza el proceso de empaquetamiento de la cromatina que al hacerse cada vez más compacta da lugar a los cromosomas que se hacen visible al principio de la mitosis.

## **La mitosis**

La mitosis constituye la etapa final de la transmisión de la información genética, pues en ella las dos moléculas de ADN formadas durante la replicación son segregadas hacia las células hija de modo que cada una de ellas reciba la misma información genética que la célula madre.

El estudio de la mitosis se acostumbra a dividir en cuatro fases: profase, metafase, anafase y telofase.

La profase: Puede decirse que la profase se inicia con la visualización de los cromosomas que este momento aún son largos pues no ha terminado su empaquetamiento. Este empaquetamiento lleva a la desaparición del nucléolo. Por otra parte se produce la desintegración de la envoltura nuclear mientras que en el citoplasma comienza a formarse el huso mitótico.

La metafase: La condensación de la cromatina continúa así como la formación del huso y los cromosomas van asociándose con las fibras del huso hasta que en la metafase quedan orientados en el centro de la célula, unidas a las fibras del huso por el cinetocoro, dando lugar a la llamada placa ecuatorial.

La anafase: Una vez que todos los cromosomas se han alineado comienza la anafase con la separación de las cromátidas y su migración hacia los polos del huso mitótico.

La telofase: Ya en la telofase se produce la desaparición del huso, la reaparición de la envoltura nuclear, se produce la descondensación de la cromatina y reaparece el nucléolo. El proceso termina cuando un anillo fibroso de actina se forma por debajo de la membrana plasmática en la posición donde estuvo la placa ecuatorial. Este anillo va contrayéndose y produce la estrangulación de la célula hasta formar dos células hijas. Este último fenómeno recibe el nombre de citocinesis.

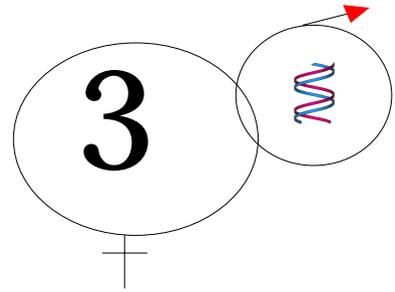
De esta forma cada una de las células formadas contiene la misma información genética que a su vez es igual a la de la célula que le dio origen y con ello concluye el proceso de transmisión de la información genética.

De lo anterior se desprende que la función reproductora de los seres vivos se lleva a cabo mediante dos procesos más o menos consecutivos, la replicación del ADN en el cual la información genética de la célula se duplica y la división celular que divide la información duplicada entre las dos células hijas. Aunque en los organismos multicelulares el proceso es más complejo, los fundamentos moleculares son los mismos.

Los mecanismos de expresión y conservación de la información genética se estudiarán en el siguiente capítulo.

# LA EXPRESIÓN DE LA INFORMACIÓN GENÉTICA

Rolando Hernández Fernández



*La función única de la molécula de ADN es la de conservar la información genética. Pero con eso no es suficiente para la formación de un organismo que necesita estructuras que realicen las funciones que les son inherentes. Para que ese organismo funcional aparezca es necesario que la información se exprese. Las moléculas encargadas esencialmente de realizar esas funciones son las proteínas, por lo tanto el proceso de expresión de la información genética consiste en la formación de toda la dotación de proteínas que posee un organismo y cuyas estructuras están codificadas en la información conservada en el ADN. Este proceso consta básicamente de dos etapas; en la primera, la transcripción, la información del ADN es copiada en una molécula de ARNm y en la segunda, la traducción, la molécula del ARNm dirige la síntesis de las proteínas. Estos procesos están separados físicamente pues mientras la transcripción se realiza en el núcleo la traducción se lleva a cabo en los ribosomas que están en el citoplasma.*

## LA TRANSCRIPCIÓN

La síntesis del ARNm lo realiza la ARN polimerasa II, una enzima compleja formada por 8 a 12 subunidades y que además requiere el concurso de un grupo considerable de otras proteínas, llamadas factores de transcripción para realizar el proceso. Los factores de transcripción pueden ser generales si son necesarios para la transcripción de cualquier gen, mientras que se denominan génicos específicos los que hacen falta para un número reducido de genes. Las señales para el inicio de la transcripción se encuentran en el promotor, segmento de ADN hacia el extremo 5' del gen que está formado por pequeños módulos de seis a ocho nucleótidos y entre los cuales existen determinadas distancias que son importantes para el proceso. El elemento básico del promotor de la ARN polimerasa II es la secuencia TATA localizada a unos 30 pares de bases hacia el extremo 5' del gen. Un grupo de factores generales de transcripción se une a esta secuencia y permiten la entrada de la ARN polimerasa que aún requiere otros factores generales para poder comenzar la transcripción (Figura 3.1).

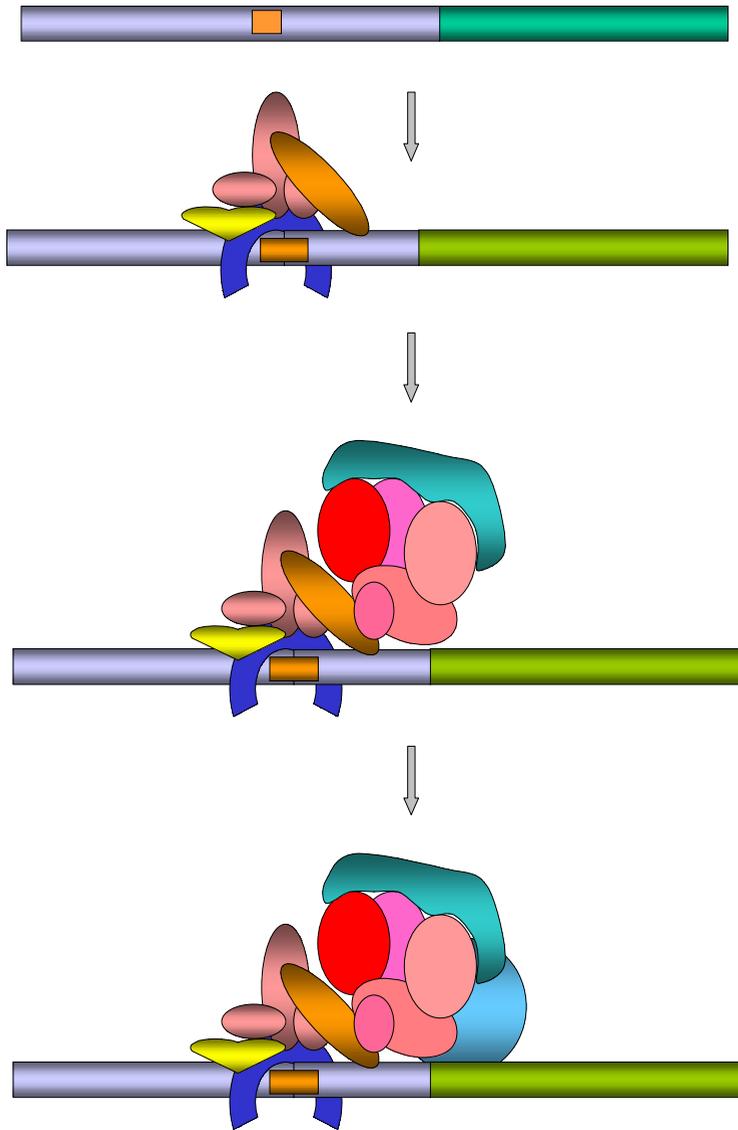


Figura 3.1. En la secuencia TATA del promotor se ensambla en complejo multiproteínico formado por los factores de transcripción D, A y B. A este complejo se une la ARN polimerasa II acompañada del factor de transcripción E. Posteriormente se incorpora el factor de transcripción F. Otras proteínas (no representadas) se incorporan posteriormente.

Una vez que este complejo multiproteínico está formado comienza la transcripción que se detiene rápidamente a menos que la ARN polimerasa sea fosforilada en varios sitios del dominio carboxilo terminal de la subunidad mayor. La transcripción no ocurre a una velocidad constante, existen pausas que la enzima puede superar y paros o detenciones que requieren de proteínas adicionales llamadas factores de elongación para continuar. Las mutaciones en uno de esos factores de elongación da lugar a la enfermedad de von Hippel Lindau. Una señal aún desconocida indica el sitio donde la transcripción debe terminar (Figura 3.2).

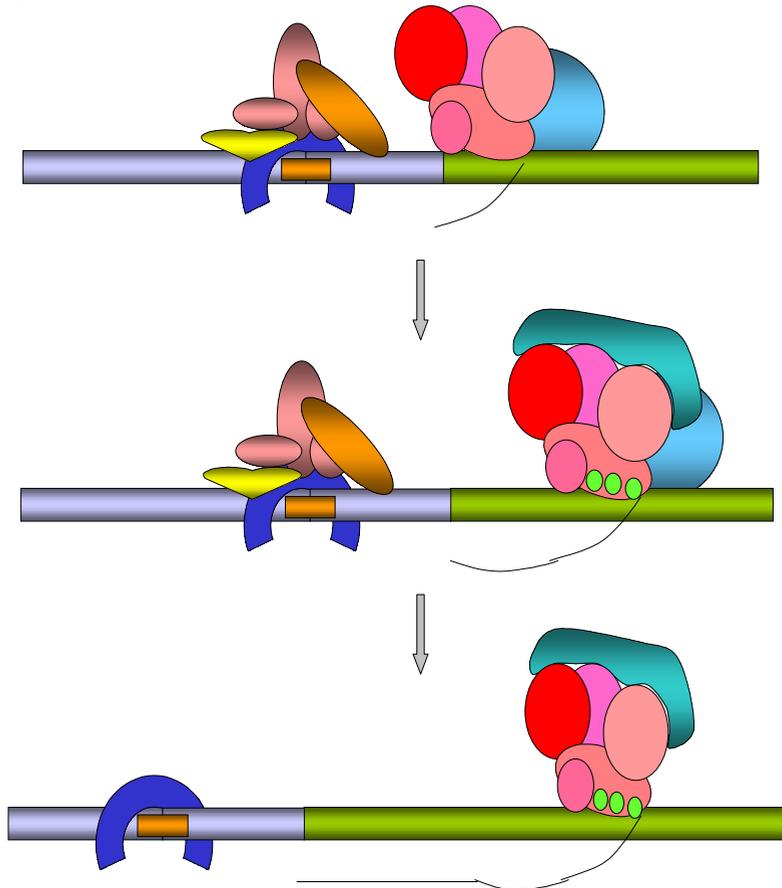


Figura 3.2. La ARN polimerasa II comienza la transcripción formando un polinucleótido de 15 a 20 unidades y se detiene. Es necesario que sea fosforilada en varios sitios del dominio carboxilo terminal de la subunidad mayor para que pueda continuar hasta el final la síntesis del ARN.

Una vez terminada la síntesis del ARNm se producen modificaciones en la molécula en un proceso conocido como maduración. Un nucleótido de guanina metilada es añadido al extremo 5' mediante un enlace pirofosfato. Esta estructura conocida como casquete protege al ARNm de la acción de exonucleasas y además es importante para la incorporación a los ribosomas. También el extremo 3' es modificado por la adición de nucleótidos de adenina hasta un número de 250. Esta estructura, conocida como cola de poli(A) también protege al ARNm de la acción de exonucleasas y sirve para la unión de proteínas específicas en el citoplasma que al parecer juegan un papel importante en la traducción. Por último son eliminados los intrones en un proceso complejo que requiere el concurso de varios ARN pequeños nucleares y un número considerable de proteínas. Los intrones son eliminados uno a uno desde el extremo 5' hacia el 3'. Una vez concluido el proceso de maduración el ARNm es transportado hacia el citoplasma a través del complejo del poro nuclear. Una vez en el citoplasma es conservado unido a proteínas hasta el momento de la traducción.

## LA TRADUCCIÓN

La traducción genética es en términos bioquímicos el proceso de síntesis de proteínas. La información genética que tanto en el ADN como en el ARNm está en forma de secuencia de bases nitrogenadas pasa ahora al lenguaje de la secuencia de aminoácidos y por eso es el nombre del proceso. Para poder realizar la traducción es necesario la existencia de un código que permita establecer la equivalencia entre la secuencia de bases del ARNm y la secuencia de aminoácidos de las proteínas, ese es el llamado código genético. El código genético está formado por trío de bases nitrogenadas (llamados codones) que cada uno de ellos codifica para un aminoácido específico. Cuando varios codones significan el mismo aminoácido se dice que son sinónimos. La existencia de codones sinónimos es un mecanismo que permite atenuar la existencia de mutaciones. Existen un codón de iniciación (que es el AUG) y tres codones para la terminación ( que son el UGA; UAG y UGG). Si en el ADN el gen es discontinuo debido a la presencia de los intrones, en el ARNm los codones se encuentran uno a continuación del otro sin ninguna interrupción desde el codon de iniciación hasta el de terminación.

La traducción tiene lugar en los ribosomas que como ya fue mencionado presentan dos subunidades de tamaño desigual. Para la traducción se requiere además el concurso de proteínas no ribosomales que se conocen con el nombre de factores de iniciación, de elongación y de terminación.

Los ribosomas se encuentran en un estado de equilibrio dinámico entre la forma asociada y la disociada. Un factor de iniciación se une a la subunidad menor y otro a la mayor provocando el desplazamiento del equilibrio hacia la forma disociada. El metionil-ARNt que funciona como iniciador se une a la subunidad menor acompañado de otro factor de iniciación. Entonces se produce la unión entre el ARNm y la subunidad menor gracias a otro factor de iniciación que está asociado al casquete. La subunidad menor recorre el ARNm hasta que el codon de iniciación queda apareado con el anticodon del metionil-ARNt. La iniciación se completa con la incorporación de la subunidad mayor quedando constituido el ribosomal funcional. Se produce entonces la incorporación de un aminoacil-ARNt acompañado de un factor de elongación, la formación del enlace peptídico entre la metionina y el aminoácido entrante, el ribosoma se mueve un codon sobre el ARNm gracias al concurso de otro factor de elongación. Este proceso se repite tantas veces como aminoácidos tengan que ser incorporados a la proteína. La aparición en el ARNm de un codon de terminación produce la detención del ribosoma pues no existe ningún ARNt capaz de leer ese codon. Entonces se produce la incorporación de una proteína conocida como factor de liberación que interactúa directamente con el codón de terminación y produce la liberación de la cadena polipeptídica (Figura 3.3).

En muchas ocasiones las cadenas polipeptídicas así formadas no son todavía funcionales y requieren de modificaciones postraduccionales para alcanzar su total funcionalidad. Entre estas modificaciones se encuentran: eliminación de aminoácidos de cualquiera de los dos extremos o de los dos, eliminación de péptidos internos, modificación de aminoácidos, formación de puentes disulfuro, incorporación de grupos prostéticos, etc.

Muchas proteínas contienen secuencias específicas de aminoácidos que actúan como señales que sirven para dirigirlas hacia el lugar donde van a realizar sus funciones, digamos, el núcleo, las mitocondrias, la membrana plasmática, o para ser segregadas al exterior. En todos los casos esas señales son reconocidas por otras proteínas que actúan como sistema transportador que las lleva a su destino (Figura 3.4).

Las proteínas realizan funciones múltiples en el organismo; sirven como soporte o sostén a muchas estructuras, soportan fuerzas de tensión o estiramiento, participan en los mecanismos de contracción y relajación que dan lugar al movimiento, catalizan las reacciones químicas del metabolismo, actúan como receptores que reciben señales internas o externas, funcionan como señales que contribuyen a la regulación de muchos procesos, participan en mecanismos de defensa contra agresores externos, etc. Es por eso que cuando se forman las proteínas y éstas realizan sus funciones se está expresando la información que originalmente estaba codificada en la secuencia de bases del ADN.

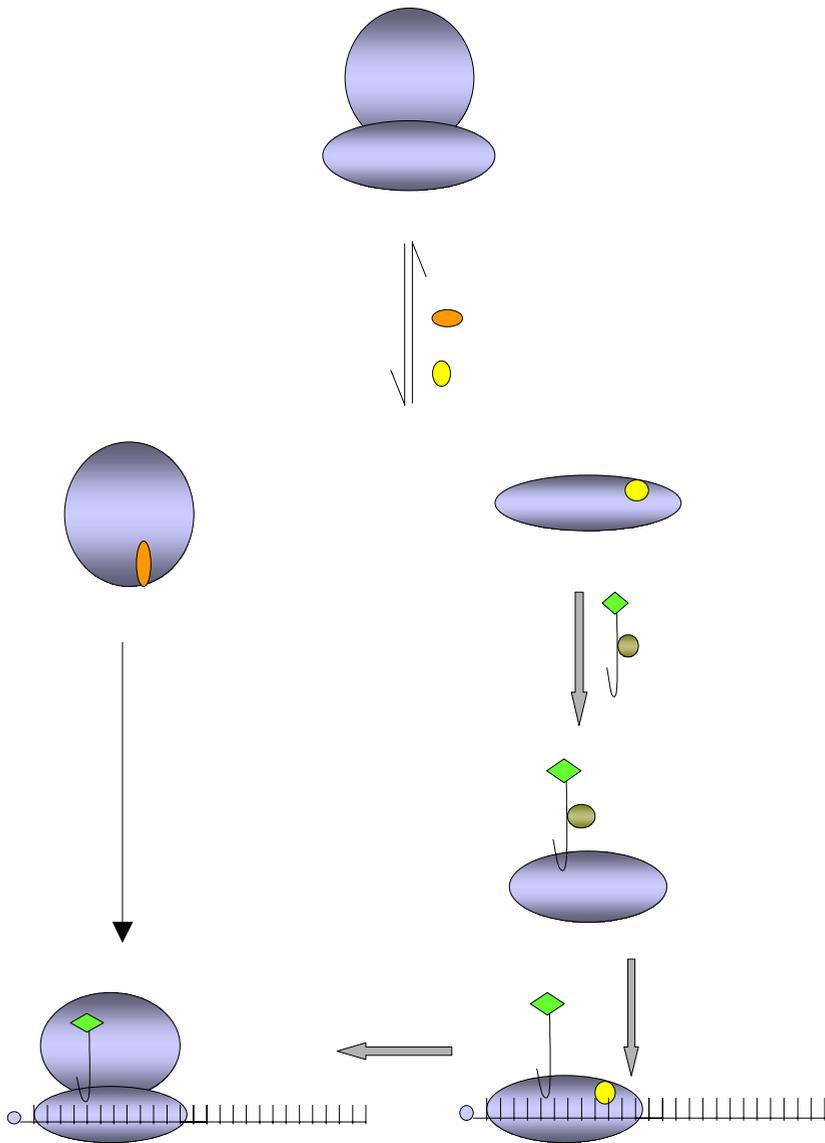


Figura 3.3. El comienzo de la traducción se produce por la separación de las dos subunidades del ribosoma debido a la acción de factores de traducción. Después a la subunidad menor se une el aminoacil-ARNt iniciador llevado por otro factor de iniciación. La subunidad menor se une al casquete del ARNm auxiliado por otro factor de transcripción y rastrea al mensajero hasta que el codón de iniciación se aparea correctamente con el anticodón del ARNt iniciador. Finalmente se incorpora la subunidad mayor y el ribosoma está listo para la síntesis de proteínas.

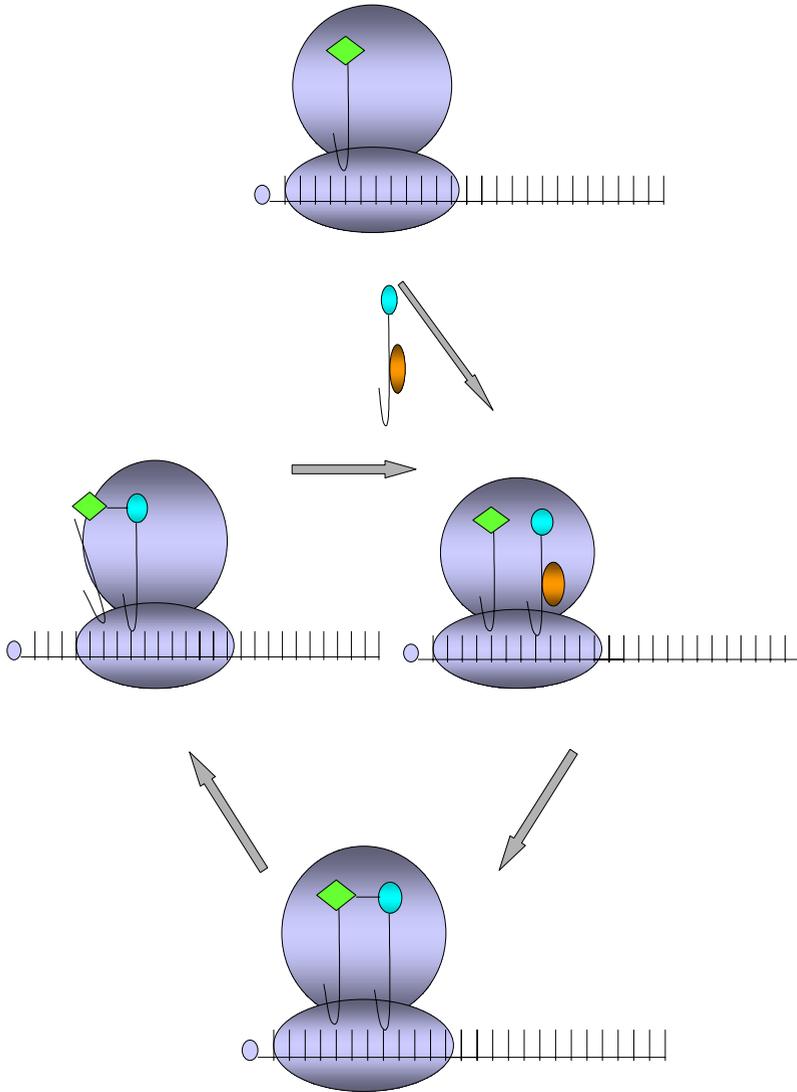


Figura 3.4. La etapa de la elongación es la más larga. Un aminoacil-ARNt se incorpora al ribosoma con el concurso de un factor de elongación. Seguidamente se forma el enlace peptídico entre los aminoácidos unidos a los ARNt. Se produce el movimiento del ribosoma un distancia equivalente a un codón. La incorporación del siguiente aminoacil-ARNt reinicia el ciclo que se prolonga tantas veces como aminoácidos tenga la proteína.

## LA CONSERVACIÓN DE LA INFORMACIÓN GENÉTICA

La integridad de ninguna otra molécula es tan preciada para la célula como la del ADN. Dada esa importancia a lo largo de la evolución se han ido creando numerosos mecanismos para garantizar esa integridad. En primer lugar está la propia estructura del ADN. El hecho de que las bases nitrogenadas se encuentren hacia el interior de la molécula proporciona un primer nivel de protección. En todos los organismos el ADN está asociado con proteínas que lo rodean y constituyen un segundo nivel de protección. En los organismos eucariontes el ADN está confinado al núcleo celular separado del resto de la célula por la envoltura nuclear constituida por un doble membrana constituyen así un tercer nivel de protección. Pero por si esto fuera poco, cuando todos estos niveles fallan y se producen daños al ADN, todos los organismos cuentan con sistemas reparadores.

Las alteraciones más frecuentes que pueden ocurrir en el ADN son las modificaciones de las bases y las pérdidas de bases. En cualquiera de los dos casos pueden producirse de forma espontánea o debido a la acción de agentes externos. Los agentes externos pueden producir también la rotura de una de las hebras o de las dos. Estos últimos daños resultan muy difíciles de reparar y el mecanismo no está todavía totalmente conocido.

Aunque existen numerosos mecanismos para la reparación de las alteraciones o pérdidas de bases, parece ser que los eucariontes superiores emplean un mecanismo general que es el denominado reparación por escisión de nucleótidos. Este mecanismo consta de las siguientes etapas. El producto del gen XP-A reconoce la zona que ha sido dañada y produce el reclutamiento hacia ese sitio del factor de transcripción TFIIF del cual forman parte entre otros los productos de los genes XP-B, XP-C, XP-D y XP-G. El XP-G que tiene actividad de endonucleasa corta la hebra dañada unos cinco nucleótidos hacia el extremo 3' de la lesión, mientras que XP-F hace lo mismo unos veinte y cuatro nucleótidos hacia el extremo 5'. Participan entonces los productos de los genes XP-B y XP-D que tienen actividad de helicasa y facilitan la eliminación del segmento entre los dos cortes que es precisamente donde está la lesión. La brecha de veinte y nueve nucleótidos que así se ha creado es rellenada por acción de la ADN polimerasa  $\delta$  unida al PCNA y posteriormente es sellada por una ADN ligasa.

El nombre de estos genes deriva del hecho de que fueron identificados en pacientes con Xeroderma pigmentosum, una enfermedad hereditaria que afecta la piel y el sistema nervioso y con una alta predisposición al desarrollo de cáncer del piel.

Un fenómeno interesante es que todas las lesiones del ADN no son reparadas con igual rapidez. Existe un sistema de prioridades. Así las zonas de transcripción activa son reparadas con más rapidez que las inactivas y, además, en las zonas activas la hebra molde es reparada más rápido que la codificante. El estudio de pacientes con el síndrome

de Cockaine y de la Tricotiodistrofia, llevó a la identificación de algunos genes que están implicados en estos mecanismos y que fueron designados como CS-A y CS-B los afectados en el síndrome de Cockaine y TTD-A y TTD-B los mutados en la tricotiodistrofia.

Otro mecanismo que contribuye a conservar la información genética original de un organismo es el sistema de modificación restricción. Una vez que el ADN ha sido replicado es metilado en bases específicas que forman parte de secuencias específicas. Este patrón de metilación es característico de cada organismo y viene a constituir algo así como la marca de identificación del ADN propio. En esto consiste la modificación. Cuando un ADN de otro organismo penetra en una célula se buscan las secuencias específicas que deben estar metiladas y si no lo están el ADN foráneo es hidrolizado. En esto consiste la restricción, de ahí que a las enzimas que hidrolizan el ADN de esta forma se les llame enzimas de restricción. Así, la célula puede distinguir entre el ADN propio y el ajeno.

Las enzimas de restricción que hidrolizan el ADN en secuencias específicas han sido un instrumento invaluable para el desarrollo de la moderna tecnología del ADN recombinante y su aplicación práctica la Ingeniería Genética.

## **LAS MUTACIONES**

Cuando cualquier daño al ADN no es reparado correctamente aparecen las mutaciones. Las mutaciones son alteraciones permanentes que se producen en el ADN y que son transmitidas de generación en generación. Pueden ser espontáneas si surgen como consecuencias de errores en los procesos relacionados con el ADN o inducidas si son productos de agentes externos. Los agentes externos más frecuentes son: los análogos de bases, los mutágenos químicos y las radiaciones.

Los análogos de bases son sustancias similares a las bases nitrogenadas capaces de formar nucleótidos y que son incorporados al ADN durante el proceso de replicación. Estos análogos tienen formas tautoméricas que en una de ellas se aparean con una base y en la otra se aparean con otra. Un ejemplo típico es el bromouracilo que es un análogo de la timina y por lo tanto se aparean con la adenina en su forma ceto pero en su forma enol lo hace con la guanina, por lo que en el siguiente ciclo replicativo aparecerá un par GC donde había un par AT.

Un mutágeno químico es una sustancia que reacciona con cualquiera de las bases del ADN y la modifica de forma tal que cambia su patrón de apareamiento. Entre ellos se encuentra el ácido nitroso que transforma los grupos aminos en cetónicos convirtiendo la citosina (que forma par con la guanina) en uracilo (que forma par con la adenina). Otro agente de este tipo es el sulfonato de etilmetano que produce la alquilación de la guanina

con la labilización del enlace N-glicosídico, que al romperse forma un sitio apurínico que de no repararse en el próximo ciclo replicativo puede dar lugar a la incorporación de cualquiera de las cuatro bases.

La luz ultravioleta, los rayos gamma y los rayos X son poderosos agentes mutagénicos que pueden producir tanto alteraciones de las bases nitrogenadas como las ruptura de una o las dos hebras del ADN. Un efecto similar a las radiaciones tienen las llamadas especies reactivas del oxígeno.

## **Consecuencias de las mutaciones**

Como acabamos de ver las consecuencias de las mutaciones sobre la estructura del ADN dependen en gran medida del agente causal. Sin embargo, el efecto de esas mutaciones se miden más bien por las alteraciones que pueden provocar en el producto génico primario, es decir, en las proteínas.

Por su extensión las mutaciones se clasifican en cromosómicas y génicas. Las primeras afectan grandes sectores del ADN y se hacen visibles al microscopio óptico. Entre ellas están las deleciones, las inserciones, las translocaciones, etc. que serán estudiadas con más detenimiento en el capítulo 7 de citogenética.

Las mutaciones génicas afectan pequeños sectores del gen y pueden producirse por cambios, adiciones o sustracciones de bases. El efecto de estas mutaciones sobre el producto génico está en dependencia del tipo y de su localización. Así por ejemplo si las mutaciones se producen en la zona de regulación del gen (el promotor) se altera la cantidad de proteínas que se producen, aumentando o disminuyendo aunque este último caso es el más frecuente. Si se produce en la zona de codificación del gen se altera la actividad de la proteína, siendo la disminución lo más frecuente.

Los cambios de bases no siempre producen cambios en los aminoácidos de las proteínas debido al carácter redundante del código genético (mutaciones silentes) y en ocasiones se producen mutaciones neutras pues se cambia un aminoácido por otro del mismo tipo. Cuando se cambia un aminoácido por otro diferente en polaridad o tamaño puede afectarse la actividad de la proteína, como es el caso de la sickleemia que surge como consecuencia del cambio de glutámico (aminoácido polar iónico) por valina (aminoácido apolar) en la posición 6 de la cadena b de la hemoglobina.

La adición o sustracción de bases provocan grandes cambios en la proteína pues como fue señalado anteriormente los codones del ARNm se encuentran uno a continuación del otro y por lo tanto la adición (o sustracción) de una base modifica todo el marco de lectura a partir de ese punto.

Un tipo particular de mutaciones por cambio de una base es el que ocurre en lo codones de terminación. Pueden darse dos situaciones. Si un codon de lectura se transforma en un codon de terminación la cadena polipeptídica termina abruptamente. Por el contrario si un codon de terminación se convierte en un codon de lectura la proteína tendrá un exceso de aminoácidos como ocurre con la hemoglobina de Constant Spring.

Cuando las mutaciones se producen en las zonas críticas de los intrones pueden dar lugar a proteínas totalmente diferentes e inservibles que la célula degrada rápidamente dando lugar a una deficiencia cuantitativa.

## **REORDENAMIENTO DE LA INFORMACIÓN GENÉTICA**

Todos los sistemas informáticos en algún momento deben ser reordenados para facilitar el funcionamiento del sistema. Esto sucede igualmente con la información genética. El fundamento molecular de ese reordenamiento es el proceso de recombinación genética que consiste en el intercambio de grandes segmentos de ADN entre dos moléculas. Los mecanismos moleculares de este proceso en las células eucariontes no está totalmente aclarado pero su existencia no se discute.

La observación de la recombinación genética al nivel del microscopio óptico se ha realizado durante los estudios de la meiosis. La meiosis es un proceso que ocurre durante la maduración de las células germinales en los organismos superiores. El proceso consta de dos divisiones celulares sucesivas sin que medie entre ellas la replicación del ADN. Durante la profase de la primera división los cromosomas homólogos (el de origen materno y el de origen paterno) se aparean (sinapsis) y se establecen entre ellos vínculos visibles al microscopio que se denominan entrecruzamientos (crossing over). Durante esa etapa se produce el intercambio de segmentos grandes de las moléculas de ADN que forman cada una de las cromátidas de los cromosomas homólogos. En la metafase los cromosomas se colocan en la placa ecuatorial pero en la anafase se produce la migración hacia los polos de cromosomas enteros y no de las cromátidas como ocurría en la mitosis. En la telofase las células son reconstruidas al igual que en la mitosis. La segunda división ocurre de inmediato sin producirse la replicación del ADN y transcurre de forma similar a la mitosis. Los cromosomas (que ahora son la mitad del número original) se disponen en la placa ecuatorial y en la anafase las cromátidas se separan y una por cada cromosoma se dirige a los polos celulares que en la telofase servirán para la organización de las células hijas. De esta forma, la información genética que estaba cuadruplicada al inicio de la primera división ha sido dividida en cuatro células, cada una de las cuales contiene

solamente una copia de la información genética de la especie. Cuando en la fecundación se unen el gameto masculino y el femenino se restituye el carácter duplicado de la información que caracteriza a todas las células somáticas superiores. (Ver Capítulo 4).

Estos son los procesos básicos de tratamiento de la información genética en los organismos. Es el único tipo de información que se transmite equitativamente entre los antecesores y los sucesores. Sin embargo en los organismos pluricelulares es necesario coordinar las acciones de billones de células de manera que el organismo funcione como un todo único y armónico. En esos organismos se crean flujos de información molecular que permiten su coordinación y que en última instancia tienen su origen en la información genética.

## **LA COMUNICACIÓN INTERCELULAR**

Los organismos pluricelulares están dotados de mecanismos que les permiten coordinar las acciones de todas sus células de forma tal que el organismo funcione como un todo único y armónico. El fundamento de todo ese mecanismo es el fenómeno de la comunicación intercelular, es decir, el flujo de información que existe entre las diferentes células y tejidos. En última instancia toda esa información está contenida como posibilidad en el material genético pero se torna realidad al expresarse esa información y dirigir la síntesis de moléculas específicas que funcionan en esos mecanismos. Una vez expresada la información genética se establecen entre las células flujos de información molecular cuya función fundamental es la de coordinar las funciones de todas las células para conseguir el funcionamiento armónico del organismo.

Los flujos de información molecular presentan las siguientes características generales:

Están determinados genéticamente, por lo tanto las principales moléculas implicadas en ellos son las proteínas, aunque pueden existir componentes no proteínicos.

La mayor parte de los componentes son enzimas, aunque pueden existir proteínas no enzimáticas.

Las principales enzimas son las kinasas y las fosfatasa pues el principal mecanismo de regulación del flujo es la fosforilación y desfosforilación de proteínas.

La fuerza que impulsa el flujo de información es por lo general la diferencia de potencial químico por lo tanto se trata de un fenómeno de transducción.

Los flujos de información suelen ser redundantes, es decir, que varios flujos pueden tener los mismos efectos.

Los flujos de información poseen mecanismos internos para desconectarse rápidamente y evitar la permanencia de los efectos por tiempos prolongados.

Básicamente la comunicación intercelular consista de tres componentes esenciales: una célula que emite una señal, el medio de propagación de la señal y otra célula que capta la señal y elabora una respuesta. Para que el ciclo de comunicación quede totalmente establecido la respuesta debe modificar la señal y volver todo al estado anterior. En este campo la señal es el portador material de información. En la información molecular las señales son moléculas, independientemente de su naturaleza química. Así, son señales las hormonas, los neurotransmisores, las citoquinas, las prostaglandinas, etc. Como consecuencia de cambios en el entorno o debido a su propia actividad, las células emiten estas señales hacia el espacio extracelular. Algunas de ellas actúan localmente mientras que otras alcanzan el torrente sanguíneo y pueden actuar a larga distancia. Pudiera intentarse una clasificación de los sistemas de señales teniendo en cuenta su radio de acción en tres grupos principales:

Sistemas de señales generales, son aquellas que actúan prácticamente en todo el organismo y estarían representadas por las señales del sistema nervioso, el sistema endocrino y el sistema inmune.

Sistemas de señales particulares, son las que tienen un radio de acción más limitado y por lo general coordinan la actividad de órganos y sistemas particulares, como las señales del sistema cardiovascular, el digestivo, etc.

Sistemas de señales locales, son las que controlan la actividad de células que por lo general están cercanas y que para alcanzarlas no necesitan llegar a la sangre, como son las prostaglandinas, los leucotrienos y los tromboxanos.

La emisión de cada una de estas señales tiene un carácter específico pues cada célula tiene que emitir la señal que se corresponda con el estímulo recibido de manera que esas moléculas sean verdaderas portadoras de información.

La captación de esas señales también tiene un carácter específico. Todas las células poseen proteínas que actúan como receptores de señales. Pero cada tipo celular solamente posee una dotación de receptores lo cual le permite responder a unas señales pero a otras no. Los receptores pueden estar localizados en la membrana plasmática o en el interior de la célula. En este último caso pueden localizarse en el citosol, en los organitos citoplasmáticos o en el núcleo. La localización del receptor se corresponde con las propiedades de la señal. Cuando por su naturaleza química la señal no puede penetrar a la célula el receptor se encuentra en la membrana mientras que las que pueden entrar libremente encuentran su receptor en el interior.

Los receptores de la membrana constan al menos de tres dominios. Un dominio extracelular que es el que posee el sitio de reconocimiento para la señal, un dominio transmembranal que conecta la parte externa con la interna y un dominio intracelular cuya función es comunicar al interior de la célula la presencia de la señal. En cada tipo de

receptor estos dominios tienen estructuras diferentes y funciones diferentes en el dominio intracelular.

De acuerdo con el mecanismo por el cual se produce la transducción de la señal hacia el interior de la célula los receptores pueden clasificarse en:

*Receptores que son canales iónicos:* En la misma estructura se encuentra la zona receptora y el canal iónico y la unión de la señal modifica el estado del canal (abierto o cerrado) modificando el flujo de iones a través de la membrana lo cual tiene una gran importancia para el funcionamiento celular especialmente en los mecanismos de excitación y secreción.

*Receptores que producen la endocitosis de la señal:* En este caso la señal pasa hacia el interior de la célula a realizar sus funciones pero para ello requiere del concurso de un receptor específico en la membrana celular.

*Receptores acoplados a proteínas G:* Las proteínas G reciben ese nombre porque se unen a nucleótidos de guanina. Cuando están unidas al GDP no transmiten información, lo que sí hacen cuando están unidas al GTP. En estado no excitado estas proteínas están unidas al GDP. Cuando la señal se une al receptor, éste actúa sobre la proteína G y provoca el cambio de GDP por GTP con lo cual produce su activación. La proteína G activada actúa sobre proteínas celulares y modifica su actividad transmitiendo así la información recibida por el receptor.

*Receptores con actividad enzimática en el dominio intracelular:* Como su nombre lo indica estos receptores tienen alguna actividad enzimática específica en su dominio intracelular. Cuando la señal se une al receptor se produce una activación de la parte enzimática que cataliza determinada reacción. Se han descrito receptores con actividad de tirosil protein kinasa (transfieren un grupo fosforilo del ATP hacia residuos de tirosina que forman parte de proteínas), con actividad de seril (o treonil) protein kinasas (éstas transfieren el fosforilo hacia residuos de serina o treonina), con actividad de guanilato ciclasa (convierten en GTP en GMP cíclico), con actividad de fosfotirosil protein fosfatasa (hidrolizan la fosfotirosina de algunas proteínas). En todos los casos se producen modificaciones de la actividad de proteínas intracelulares en consonancia con la información recibida por el receptor.

*Receptores asociados a enzimas:* A diferencia de los anteriores estos receptores no poseen una actividad enzimática intrínseca sino que la unión de la señal produce el reclutamiento de determinadas enzimas hacia el receptor. Esta unión provoca la activación de la enzima que a su vez modifica la actividad de otras proteínas intracelulares.

*Receptores intracelulares:* Por su parte los receptores intracelulares pueden localizarse en distintos compartimentos. Los que se encuentran en el retículo endoplásmico son por lo general canales iónicos especialmente para el calcio. Los que están en el

citósol o en el núcleo suelen ser factores de transcripción génico específicos que una vez unida la señal actúan sobre el ADN modificando el estado de transcripción de los genes. La unión de la señal al receptor promueve un proceso de transducción de la señal que puede provocar entre otros los siguientes efectos:

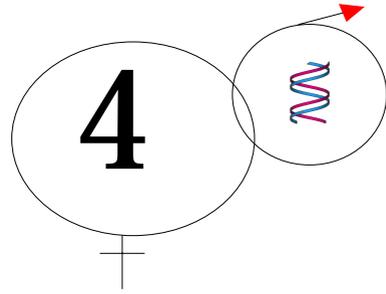
1. Se modifica la intensidad del paso de iones y nutrientes a través de la membrana plasmática.
2. Se modifica la actividad de enzimas específicas que a su vez modifican la intensidad de las vías metabólicas donde ellas participan.
3. Se produce la remodelación del citoesqueleto.
4. Se modifica el estado de transcripción de genes específicos.

Para lograr esos efectos es necesario el concurso de numerosas proteínas, muchas de ellas enzimas, capaces de propagar la información recibida por el receptor hacia el efector final.

Procesos tan vitales como la proliferación y diferenciación celulares, el control de la glicemia, el control del crecimiento y desarrollo del organismo, el desarrollo sexual y la respuesta inmune entre otros, pueden funcionar eficientemente gracias a la comunicación intercelular que permite coordinar las acciones de numerosas células para elaborar la respuesta adecuada y oportuna al estímulo recibido. Por otra parte numerosas son las enfermedades que tienen su origen en trastornos en la comunicación intercelular, bien por la ausencia de la señal, bien por deficiencias en el receptor, bien por alteraciones en las proteínas transductoras que propagan la señal hacia el efector final. La diabetes mellitus, la hipercolesterolemia familiar y el cáncer son ejemplos de cada una de estas categorías.

# DE LA MEIOSIS AL BLASTOCISTO

Araceli Lantigua Cruz



*La meiosis es un tipo especial de división celular propia de las células germinales. Con esta división celular se generan los gametos que son células altamente especializadas a partir de cuya unión comienza el desarrollo de una nueva vida. Es incalculable el número de procesos moleculares que ocurren en este fenómeno tan especial de la vida. Durante el mismo pueden ocurrir muchos errores, algunos de los cuales se expresan por fallas en la fecundación, abortos espontáneos, defectos congénitos incompatibles con la vida y que pueden identificarse como fenómenos de selección natural y que escapan de los mecanismos genéticos de reparación de los múltiples errores que en este delicado proceso deben ocurrir.*

*Pero también la meiosis es un proceso biológico a partir del cual se garantiza una gran variabilidad de cualidades en los múltiples caracteres que son generados por el genoma de las especies de reproducción sexual y que junto a las mutaciones, nos permiten identificar y diferenciar a los individuos inter especies en los que por supuesto está incluido el Humano.*

*Este Capítulo está dirigido a enfatizar en los mecanismos biológicos comunes que tienen lugar en la meiosis en el proceso de obtención de gametos y en las particularidades que presenta la gametogénesis del hombre y de la mujer y cuyas características explican un grupo de defectos de origen genético. También se tratarán los procesos biológicos que median entre la fecundación y la formación del blastocisto, necesarios para la comprensión de fenómenos involucrados en la etiología de enfermedades o defectos congénitos que serán abordados en el presente texto.*

## LA MEIOSIS

En esta división celular, las células diploides de la línea germinal dan lugar a células denominadas gametos, que se caracterizan por tener un número haploide de cromosomas. ¿Cómo se originan esas células de la línea germinal?

Durante la formación del embrión en la segunda semana de desarrollo y procedentes del ectodermo primario, las células germinales migran hacia la pared del saco vitelino recibiendo el nombre en esta etapa de células germinales primordiales. Esta línea celular (línea germinal) permanece protegida en este sitio hasta la cuarta o sexta semana en que migran hacia la pared posterior del embrión, donde continúan multiplicándose por mitosis sucesivas y forman las crestas genitales que representan las gónadas primitivas. Estas gónadas primitivas se desarrollan en ovarios o testículos en dependencia de la presencia de los cromosomas X (XX) o de un cromosoma X y un Y (XY) ( ver Capítulo 9).

Cada célula germinal humana que dará inicio a la meiosis presenta un número diploide de 46 cromosomas equivalentes a 23 pares. En este proceso de división celular deben ocurrir una serie de eventos que permitan concluir la misma con un contenido haploide de 23 cromosomas en cada célula o gameto.

La meiosis consta entonces de dos divisiones consecutivas denominadas MEIOSIS I y MEIOSIS II cada una de ellas transcurre como un proceso continuo que para su mejor comprensión se ha dividido, como en la mitosis en PROFASE, METAFASE, ANAFASE Y TELOFASE (Figuras 4.1 y 4.2).

La meiosis I. Comienza después que la célula germinal ha llegado a la fase G2 de su ciclo luego de la síntesis del ADN. Esto significa que cada molécula cromosómica de ADN está doble y unida por el centrómero. En este momento del inicio de la meiosis la información genética en el núcleo celular es igual a  $4n$ . La figura 4.1 permite comprender mejor la explicación.

La profase de la meiosis I es uno de los eventos más importantes de la meiosis como aparece en el Capítulo 3 el acápite sobre reordenamiento de la información genética.

Durante esta fase los cromosomas sufren un proceso de condensación progresiva y se describen cinco subfases denominadas leptoteno, cigoteno, paquiteno, diploteno y diacinesis. Como en cada una de ellas ocurren fenómenos de importancia genética es necesaria la descripción de los elementos más significativos.

*Leptoteno.* Es el inicio de la profase I, lo más significativo en ella es el comienzo de la condensación de los cromosomas que permiten la observación de zonas más gruesas del ADN denominadas cromómeros que poseen un patrón característico para cada par cromosómico.

*Cigoteno:* Los cromosomas homólogos comienzan a acomodarse por parejas a lo largo de toda su extensión, a este fenómeno se le denomina sinapsis y es muy preciso de modo tal que las secuencias de ADN contactan punto a punto a lo largo de la extensión de las parejas de cromosomas homólogos. Al microscopio electrónico se observa que gran parte de esta unión está favorecida por lo que se ha denominado complejo sinaptonémico una estructura formada por proteínas involucradas en el entrecruzamiento.

to del ADN y que son esenciales para los eventos de recombinación que serán estudiados en el Capítulo 13.

*Paquíteno:* En esta subfase la sinapsis es completa, los cromosomas están mucho más condensados y es posible visualizar a sus cromátidas por lo que en este estado se les denomina tetrada y ya ha ocurrido el entrecruzamiento y la recombinación de zonas del ADN como consecuencia del mismo.

*Diploteno:* El complejo sinaptonémico ha desaparecido sin embargo los cromosomas homólogos se mantienen unidos por unas estructuras denominadas quiasmas que permiten que la pareja de cromosomas homólogos se mantenga unida. Estos quiasmas parecen ser la evidencia citológica del intercambio entre las moléculas de ADN de las cromátidas de la pareja de cromosomas homólogos. La observación de los quiasmas en la espermatogénesis sugiere que hay varios quiasmas por parejas de cromosomas homólogos y este fenómeno tiene un importante papel en la separación precisa de ambos homólogos (disyunción). La falla en la formación de quiasmas predispone a la no disyunción. Los cromosomas X y Y hacen sinapsis a nivel del extremo de sus brazos cortos y en esa extensión se produce entrecruzamiento y se visualizan quiasmas (ver Capítulo 9).

*Diacinesis* en esta etapa la pareja de cromosomas homólogos unidas por los quiasmas alcanzan su máxima condensación y de esta forma se sitúan en el plano ecuatorial en la metafase I.

La metafase I comienza con la desaparición de la envoltura nuclear y la formación del huso acromático en tanto que las parejas de cromosomas homólogos se sitúan alineados en el plano ecuatorial y los microtúbulos del huso alcanzan a las estructuras proteínicas (cinetocoro) situadas a nivel de los centrómeros de cada cromosoma homólogo para de esta forma comenzar la separación de las parejas de cromosomas homólogos.

La anafase I se extiende desde la separación de cada cromosoma homólogo hasta el comienzo de la telofase. Lo más significativo de esta fase de la meiosis es que se reduce el número de cromosomas a la mitad al separarse los cromosomas homólogos. Sin embargo, aún la información genética se encuentra doble ya que cada cromosoma homólogo mantiene sus cromátidas hermanas.

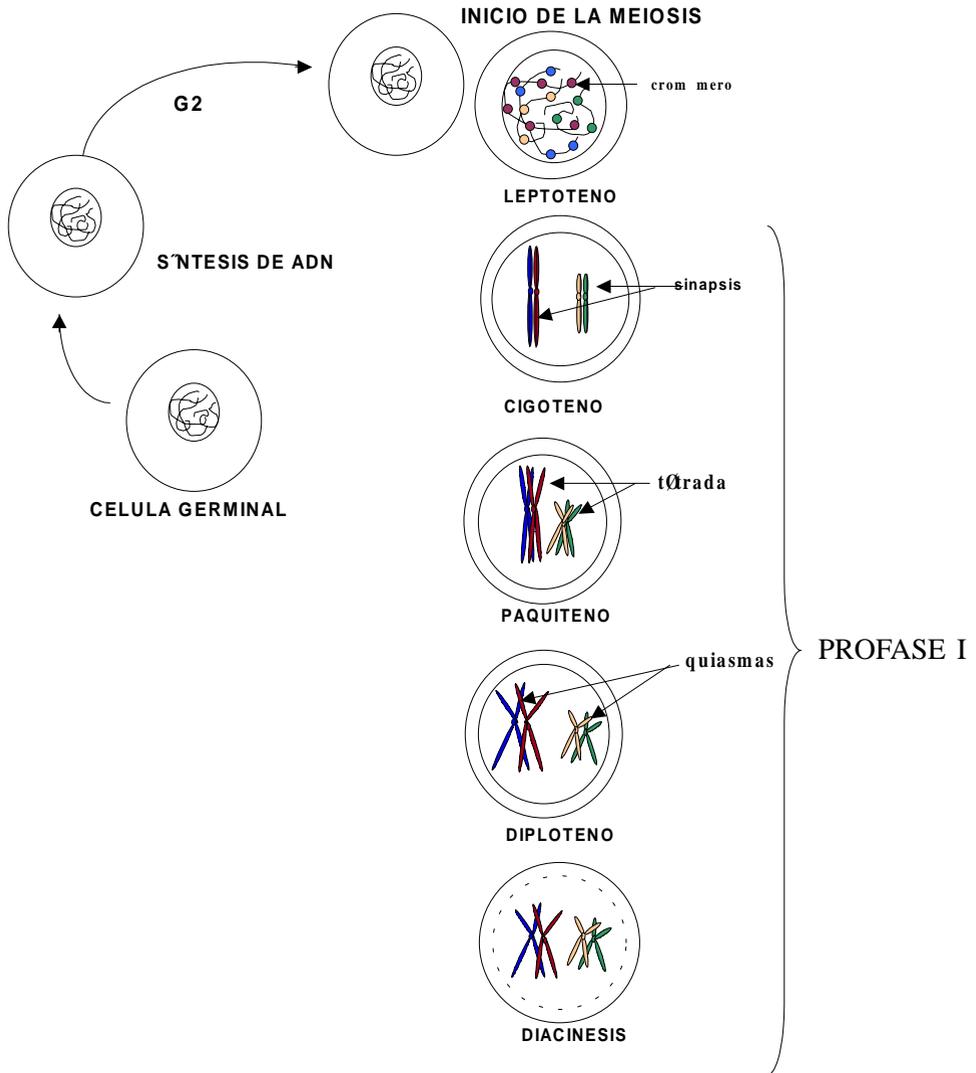
La telofase I como en la mitosis los cromosomas comienzan a descondensarse se reorganiza la membrana nuclear y el citoplasma se separa para dar lugar a dos células hijas.

Una vez terminada la meiosis I aún las células resultantes no son gametos maduros ya que la información genética como ya explicamos se encuentra doble. Es a partir de este final de la meiosis I y sin nueva síntesis de ADN que comienza la meiosis II.

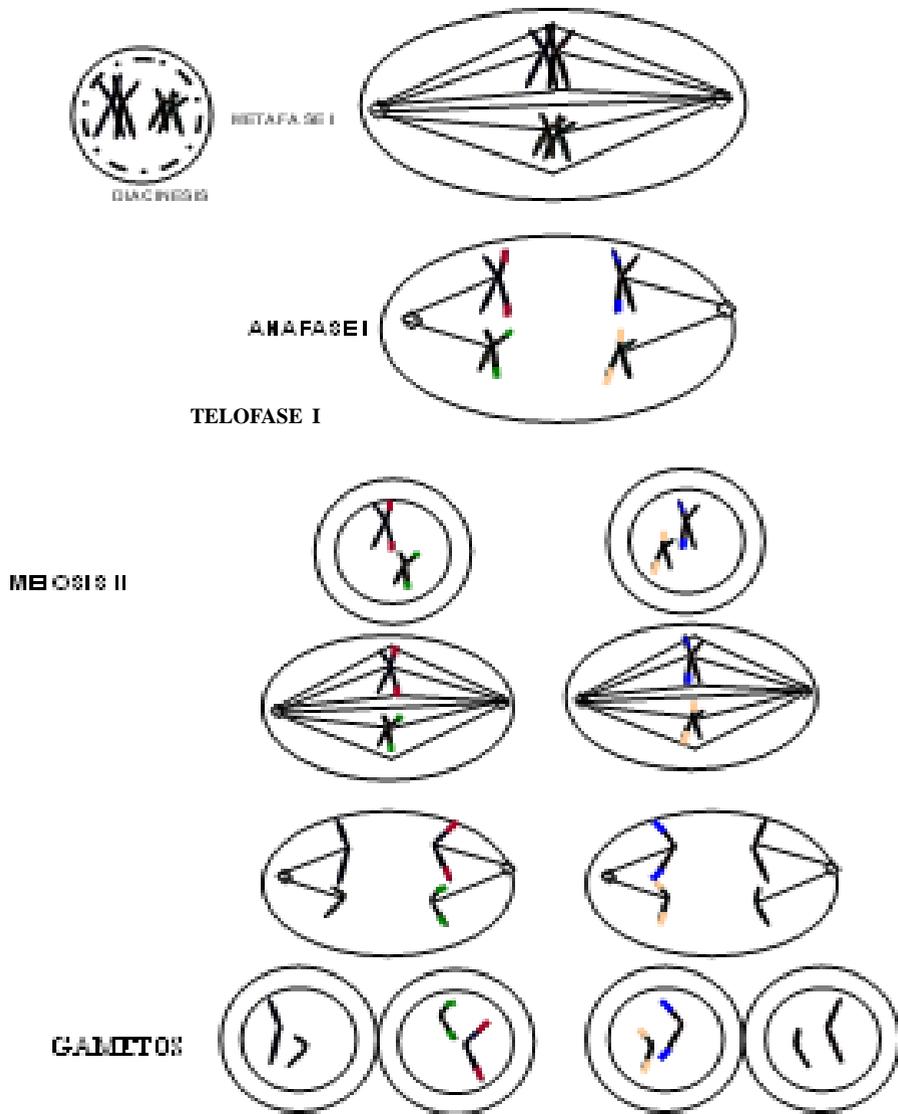
La meiosis II transcurre como una mitosis común, su diferencia está en el número de cromosomas ya que en la meiosis II hay en lugar de 46 cromosomas 23 (Figura 4.2).

Al finalizar la Meiosis II se obtienen cuatro gametos. Cada uno de ellos tiene 23 cromosomas con solo una cromátida. Una característica importante de la meiosis II es la

distribución azarosa de cada uno de los 23 cromosomas una vez ubicados en el plano ecuatorial de la metafase II.



**Figura 4.1.** Esquema de los eventos que tienen lugar en la Meiosis representados solo en dos pares de cromosomas.



**Figura 4.2.** De la diacinesis de la Meiosis I hasta la formación de los gametos.

El proceso de gametogénesis en la mujer recibe el nombre de ovogénesis y en el hombre de espermatogénesis.

## **ESPERMATOGÉNESIS**

La espermatogénesis comienza en la pubertad cuando los testículos segregan grandes cantidades de testosterona (hormona esteroidea).

Bajo el efecto de la testosterona, las células de Sertoli de los testículos desarrollan los túbulos seminíferos en cuya formación están comprometidas las células germinales primordiales que a través de sucesivas mitosis originan las espermatogonias que ocupan un sitio bajo la membrana basal de los túbulos seminíferos y que darán lugar al espermatocito primario, célula a partir de la cual comienza la meiosis en el hombre y que continúa sin interrupción hasta la formación de los espermatozoides (Figura 4.3).

Las células obtenidas al concluir la meiosis I, reciben el nombre de espermatocitos secundarios y estos al concluir la meiosis II dan lugar a cuatro células denominadas espermátides.

Las espermátides sufren cambios dramáticos en su forma y organización interna para finalmente quedar formado el espermatozoide, proceso este que recibe el nombre de espermiogénesis.

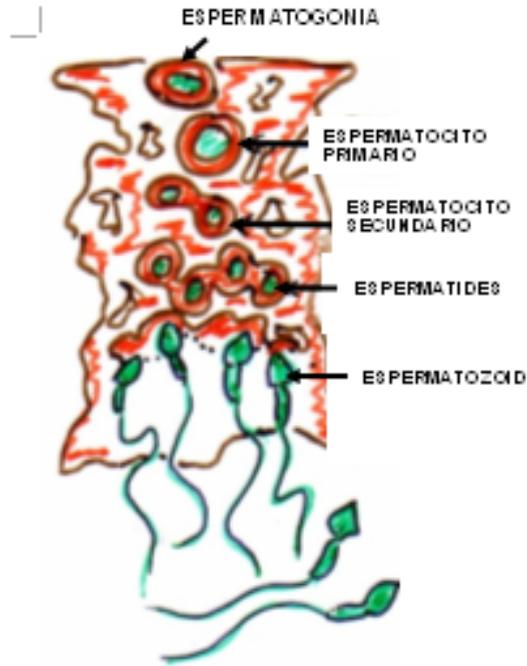
El espermatozoide queda configurado por una cabeza, una porción intermedia y una cola (Figura 4.4).

La cabeza queda desposeída de citoplasma y está ocupada por el núcleo haploide extremadamente condensado y por una vesícula denominada acrosoma situada por delante de la envoltura nuclear y que está llena de enzimas hidrolíticas.

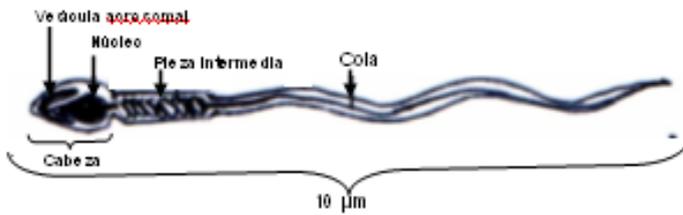
La pieza o porción intermedia contiene grandes mitocondrias que son fuente de energía requerida para la velocidad de traslación de los espermatozoides (Figura 4.4).

La cola contiene microtúbulos cuya disposición permitirá su rápido desplazamiento desde la red de tubos del testículo hasta las trompas uterinas, sitio en el cual debe alcanzar y fecundar al óvulo.

El espermatozoide tiene una longitud total de 10 micrómetros ( $\mu\text{m}$ ). En la vagina de la mujer son depositados unos 200 millones, que pueden sobrevivir con capacidad de fertilización hasta tres días.



**Figura 4. 3.** Esquema de túbulo seminífero y espermatogénesis



**Figura 4. 4.** Esquema de un espermatozoide

## LA OVOGÉNESIS

Una vez que la gónada primitiva se desarrolla como ovario, las células germinales se multiplican por mitosis sucesivas y en la semana doce del desarrollo del embrionario femenino, comienzan la profase de la meiosis I varios millones de ovogonias que se convierten en ovocitos primarios y casi inmediatamente se mantienen latentes en este estadio de la meiosis I rodeados de células foliculares constituyendo folículos primordiales (Figura 4.5).

La mayoría de estos folículos (al inicio unos 7 millones), degeneran y al nacimiento de la niña se mantienen entre 2 millones y 700 000. Al arribar a la pubertad solamente quedan unos 400 000 y unos 5 a 12 de ellos se desarrollan por cada mes y de estos solo uno madura el resto degeneran. Ya a este nivel de desarrollo el ovocito primario completa la primera división meiótica quedando una célula mayor en tamaño (el ovocito secundario) y un cuerpo polar. El folículo ha crecido, el ovocito está rodeado por la zona pelúcida y las células foliculares; se convierte en un folículo vesicular.



**Figura 4. 5.** Desarrollo de la meiosis en la mujer, obsérvese que la meiosis I está presente en el cuarto mes de desarrollo embrionario y termina todos los meses desde la pubertad hasta la menopausia.

La segunda división meiótica comienza unas tres horas antes de la ovulación que ocurre al entrar la división en la metafase II. El folículo roto forma una estructura endocrina que recibe el nombre de cuerpo lúteo. Todo este proceso a partir de la pubertad ocurre cíclicamente como parte del ciclo menstrual, aspecto este que se sale de los objetivos de este capítulo.

La meiosis II en la ovogénesis culmina cuando el ovocito secundario es alcanzado por un espermatozoide. Es en ese momento que se completa la meiosis II en el ovocito secundario y en el Primer cuerpo Polar. Al finalizar la ovogénesis quedan cuatro células

rodeadas por la zona pelúcida y la corona radiante: el óvulo y los tres cuerpos polares que eventualmente degeneran.

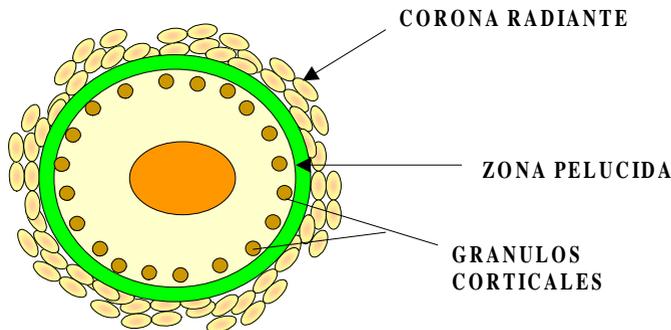
De no ocurrir la fecundación la meiosis II de la ovogénesis nunca llega a terminar desapareciendo esta estructura celular en el proceso de la menstruación.

## El óvulo

Al finalizar la anafase II el citoplasma del ovocito secundario se agranda y se divide en la telofase II asimétricamente. Las dos células hijas del primer cuerpo polar y el óvulo al finalizar la meiosis dan lugar a cuatro células una de ellas es el óvulo propiamente dicho y las otras tres corresponden a los cuerpos polares. Todas estas células tienen un número haploide de cromosomas. El tamaño del óvulo es de 1 mm o 1000  $\mu\text{m}$ .

Durante toda esta etapa de formación y al final de la misma el óvulo requiere un gran número de ribosomas y recibe apoyo nutricional de las células foliculares de la corona radiante incluyendo macromoléculas que pasan directamente al citoplasma a través de puentes entre estas células foliculares y la membrana plasmática del óvulo.

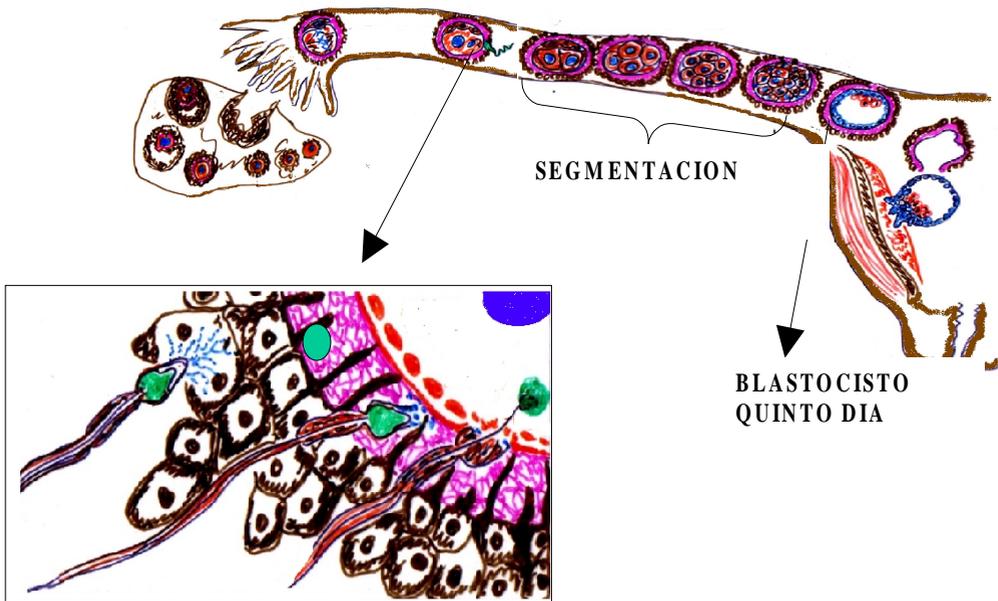
El óvulo en su estructura queda rodeado por la zona pelúcida compuesta de glicoproteínas y de la corona radiante formada por las células foliculares e inmediatamente por debajo de la membrana plasmática se encuentran los gránulos corticales cuyo contenido se libera al contacto con el primer espermatozoide que llega a la zona pelúcida impidiendo con los cambios químicos que produce en ella, que penetren más de un espermatozoide. El óvulo contiene los componentes membranosos y no membranosos comunes a toda célula incluyendo las mitocondrias. El óvulo queda constituido al concluir la meiosis II pero esto ocurre solamente cuando es alcanzado por el espermatozoide por lo cual tiene un tiempo muy breve como tal (Figura 4.6).



**Figura 4.6** Esquema de la estructura del óvulo.

## LA FECUNDACIÓN

En condiciones normales de funcionamiento de los mecanismos que tienen lugar en la fecundación y que ya se han ido describiendo, solamente un espermatozoide logra hacer contacto con la membrana plasmática del óvulo donde la liberación del contenido de las enzimas hidrolíticas de la vesícula acrosómica del espermatozoide por un lado y las de los gránulos corticales por el lado interno del citoplasma del óvulo abren una brecha por la cual penetran solamente el núcleo haploide y los microtúbulos del espermatozoide. Esto significa que los componentes citoplasmáticos de esta unión corresponden solamente al óvulo. La presencia de los dos núcleos haploides, del óvulo y del espermatozoide da inicio a una nueva estructura celular, el cigoto (Figura 4.7).



**Figura 4. 7.** Esquema desde la ovulación hasta la implantación del blastocisto.

### La primera división mitótica del cigoto

El cigoto entra en un ciclo celular. Ambos núcleos haploides no se fusionan en un primer momento sino que se replican de forma independiente en la fase de síntesis de su

ADN. Los cromosomas maternos y paternos cuando desaparece la envoltura nuclear entran en contacto por primera vez después de las primeras 24 horas comenzando la primera división mitótica del cigoto. Esta división produce dos células simétricas que dividen el cigoto en dos células o primeras blastómeras sin que ocurra cambio alguno en su tamaño que se encuentra limitado por la zona pelúcida y la corona radiante. La segunda división mitótica se completa 48 después de la fecundación y da lugar a cuatro blastómeras. En este estado inicial de preembriogénesis las blastómeras son indiferenciadas, la ausencia de una de ellas no deja huellas en el futuro del embrión. Por este motivo es en esta etapa en la cual pueden hacerse diagnósticos prenatales de preimplantación sin riesgos para el feto. Tres días después de la formación del cigoto, existen entre seis a 12 blastómeras y a los cuatro días ya hay entre 16 a 32 células cada vez más pequeñas en su contenido citoplasmático.

En este momento de pre embriogénesis esta estructura recibe el nombre de mórula es a partir de este estadio cuando comienza a ocurrir el proceso de inactivación de uno de los dos cromosomas X cuando se trata de un cigoto femenino (ver más detalles de la inactivación del X en capítulos 6 y 9). A partir de este momento del desarrollo las blastómeras entran en contacto más estrecho y se desarrollan mecanismos de adhesión diferencial entre ellas comenzando a presentarse diferencias entre las blastómeras que se encuentran en contacto con la zona más externa y las que se encuentran en el interior y que reciben el nombre de masa externa y masa interna respectivamente. En la etapa de 30 células la mórula comienza a absorber fluidos que forman una cavidad delimitando perfectamente la masa de células externas de la interna y formándose el blastocisto que consiste de una cavidad blastocística, una masa compacta interna denominada embrioblástico y una capa de células de la masa externa que rodea a toda la estructura y que recibe el nombre de trofoblasto. Cuando el blastocisto se libera de la cubierta de la zona pelúcida 124 horas (al quinto día) después de la fecundación comienza el proceso de la implantación que concluye en la segunda semana después de la fecundación.

## **RESUMEN**

La formación de los gametos requiere de una división celular especial denominada meiosis y que presenta regularidades comunes tanto para los gametos femeninos como para los masculinos. Se describen en este proceso de la división meióticas dos divisiones celulares consecutivas (meiosis I y meiosis II) sin que medie entre ambas nueva síntesis de ADN. La primera división o reduccional separa los cromosomas homólogos en las dos células resultantes. Estas células una vez concluida la meiosis II cada una da lugar a otras dos células de modo tal que al concluir la meiosis de una célula germinal inicial se

obtienen cuatro células hijas que contienen un número haploide de cromosomas. La profase I de la primera división meiótica garantiza con el contacto estrecho entre las parejas de cromosomas homólogos y el intercambio de ADN entre las cromátidas hermanas que se originen cromosomas con nuevas combinaciones de genes que al final de la meiosis quedan distribuidos en los cuatro gametos resultantes de forma aleatoria. El intercambio entre las cromátidas y las combinaciones aleatorias de los cromosomas en los gametos junto con las nuevas mutaciones que constantemente ocurren, explican la gran variabilidad entre las especies.

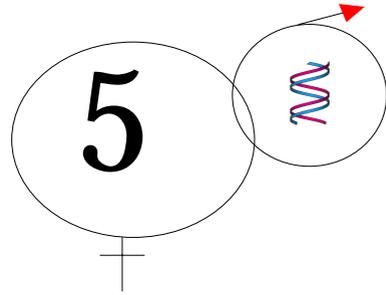
Si bien hay mecanismos meióticos comunes en la formación de los gametos también hay diferencias sustanciales en el cronograma de la formación del óvulo y del espermatozoide. En ambos las células germinales desde la etapa embrionaria tienen el mismo destino, sin embargo mientras en el sexo masculino la activación de la meiosis comienza en la pubertad con el estímulo de la testosterona y una vez comenzado el proceso no se detiene en la vida adulta, en el sexo femenino la meiosis comienza en la semana 12 del desarrollo embrionario manteniéndose en profase I hasta que la niña alcanza la pubertad en que la meiosis I finaliza y comienza la meiosis II pero con la particularidad de que se limita a la liberación del ovario a solo un ovocito secundario por mes. De las cuatro células solo una se desarrolla como óvulo y tres quedan como cuerpos polares que después desaparecen. La producción de óvulos es limitada ya que de un número inicial de 7 millones de folículos conteniendo ovocitos primarios en división, al nacimiento de la niña quedan menos de dos millones y se reducen a 400 000 en la etapa de la pubertad.

La unión del óvulo y del espermatozoide es un fenómeno especial en el que intervienen un gran número de procesos moleculares y movimientos celulares complejos que requieren del buen funcionamiento fisiológico y anatómico de las estructuras comprometidas en el mismo.

Desde la fecundación hasta la formación del blastocisto ocurren múltiples mitosis en un proceso de segmentación que se caracteriza porque las células resultantes se adaptan con un citoplasma cada vez menor al mismo contenido limitado por la zona pelúcida. Las primeras blastómeras pueden ser utilizadas con fines de diagnóstico prenatal de preimplantación ya que son altamente indiferenciadas en esta etapa de la vida. A partir del estadio de 30 células el contacto entre ellas y genes involucrados en el desarrollo originan la formación del blastocisto iniciándose así el periodo de implantación que culmina dos semanas después de la fecundación dando paso a la etapa de desarrollo del embrión. Algunos de los defectos genéticos o ambientales que ocurren desde la fecundación hasta esta etapa de preembriogénesis serán también abordados en varios de los capítulos de este texto.

# LAS LEYES DE MENDEL

Araceli Lantigua Cruz



*Un señor muy avaricioso (el amo) regateaba con un pastor acerca de un negocio en el cual el pastor tendría que determinar el tipo de cordero que debía dar al amo y con cuales tendría que quedarse él. Al fin decidieron que el pastor se quedara con las ovejas berrendas y rayadas (la mayoría) y que las negras (la minoría) serían para el amo.*

*Pero el amo se las dio de astuto, y durante la noche se llevó todas las ovejas berrendas y rayadas y le dejó al pastor solamente las ovejas negras.*

*Cuentan que entonces el pastor que era muy pícaro, echó ramas de castaño al pozo de agua de la que bebían las ovejas y para asombro del amo, las ovejas negras parieron crías berrendas y rayadas y el pastor se hizo rico.*

*Este pasaje tomado del primer libro de Moisés de la Biblia en el que se narra de cómo Jacob el Santo burló a su avaricioso suegro, es una de las múltiples historias en las que hombres de la época, exponían métodos con los cuales creían explicar el misterio de la vida y en particular de la herencia.*

*Ahora el enfoque para obtener una cría específica es muy diferente, pero sin los avances que paso a paso ha acumulado la ciencia hubiera sido imposible tener los asombrosos conocimientos sobre la clonación de ovejas, pero cuidado... que siempre hay señores muy pero muy avariciosos que querrán hacerse ricos clonando ovejas berrendas y rayadas.*

*Fueron los trabajos realizados por Gregor Mendel la base de los conocimientos actuales de la Genética. Sin embargo fueron a su vez las demandas prácticas de los agricultores y ganaderos de la época las que movieron las investigaciones en la dirección de los híbridos y a su vez ambos hechos a Mendel a realizar sus experimentos.*

*En 1822 se presentaron trabajos acerca de la polinización cruzada efectuada en insectos; en 1830 en la Academia de Ciencias holandesa se analizó la fecundación artificial de plantas ornamentales. En 1849 se publicó un trabajo que demostró la posibilidad de la hibridación y de algunas regularidades en la transmisión de caracteres.*

*En 1861 en la Academia de Ciencias de París, se presentaron dos trabajos sobre los híbridos vegetales, en uno de ellos hubo una aproximación al descubrimiento de las leyes mendelianas al llegarse a la conclusión: de la pureza de los gametos,*

*la homogeneidad de la primera generación de los híbridos y la heterogeneidad de la segunda generación. Finalmente en 1865, en la Sociedad de Naturalistas de Brunn, el monje Gregor Mendel expuso su trabajo "Experimentos de hibridación en plantas". Cuenta la historia que nadie hizo preguntas, nadie comprendió la magnitud de sus experimentos y conclusiones.*

*Las obras de Johann Gregor Mendel estuvieron sin tocar en las estanterías de las bibliotecas hasta marzo de 1900, año en que Hugo De Vries botánico holandés de 52 años y con gran prestigio científico en su época, publica "La Ley de la segregación de los híbridos" en la que hace una tímida referencia al trabajo de Mendel, ese mismo mes del 1900, Carl Correns profesor alemán de botánica de 36 años de edad, presenta el trabajo "Las reglas de Gregor Mendel de la conducta de los descendientes de híbridos" y Erick von Tschermak estudiante austriaco de 29 años presenta el trabajo titulado "Sobre el cruzamiento artificial del guisante" en el que refiere que leyó el trabajo de Mendel después de terminar sus experimentos. Con estos trabajos se redescubren simultáneamente las Leyes de la Herencia en tres regiones diferentes del mundo y a las cuales había arribado Mendel 35 años atrás.*

*La historia de los descubrimientos científicos está llena de anécdotas interesantes de los hombres que hicieron aportes significativos, pero todas tienen en común: las necesidades del hombre en forma de demandas prácticas de la época y los conocimientos científicos que les antecedieron.*

*La velocidad con la que la ciencia avanza es abrumadora, la red integrada de descubrimientos es impresionante, hay que seleccionar temas que permitan comprender solidamente los conocimientos genéticos actuales y uno de ellos es sin dudas el tema que abordaremos en este capítulo y cuyo contenido no tiene menor valor ahora que el que tuvo el publicado en 1902 por la revista Science con el título "Las leyes mendelianas de la herencia y la maduración de las células sexuales".*

## **LOS EXPERIMENTOS MENDELIANOS**

La historia de los experimentos mendelianos cuenta que Mendel encargó a distintas casas especializadas en semilla, 34 variedades del guisante de jardín *Pisium sativum*.

No comenzó sus experimentos de inmediato, primero se cercioró de la pureza de las semillas y esto le tomo dos años.

Finalmente eligió 22 variedades de guisantes de los cuales observó la pureza de la transmisión de siete caracteres relacionados con las semillas, las vainas y el tallo.

De las semillas:

- Superficie: 1. lisa o rugosa, 2. cotiledón amarillo o verde, 3. flores blancas (cubierta blanca) o violetas (cubierta gris);

- de las vainas: 4. lisas y con constricciones, 5. color de las vainas amarillas o verdes.
- del tallo: 6. si las vainas eran axiales (a lo largo del tallo) o si eran terminales en la parte superior del tallo y finalmente la 7. altura de la planta muy alta (6 a 7 pies) o muy pequeña (3 a 4 pies).

Como ya habían antecedentes de que la polinización se podría realizar de forma artificial, Mendel entonces polinizó dos tipos de guisantes con un carácter cuya pureza había demostrado, de esta forma eliminó los estambres donde se encuentra el polen de una planta y fecundó sus flores con el polen de la otra, esperó una estación de cultivo en la cual obtenía una generación de guisantes del experimento. Su ingenio estuvo en que con increíble paciencia siguió el rastro de cada cruzamiento para cada uno de los siete caracteres y contó todos los descendientes de cada generación.

Los caracteres cuyas descendencias fueron más rápido de analizar estaban relacionadas con el color y superficie de las semillas. El resto de los caracteres requerían para su análisis un tiempo mayor de espera ya que aparecen a partir de las semillas cruzadas o híbridas.

Al cruzamiento inicial para cada uno de los caracteres le denominó generación paterna P y a los descendientes de este cruzamiento le denominó primera generación filial o F1 mientras que a las generaciones sucesivas se les denominó F2, F3.

Hasta aquí podemos reconocer algunos conceptos relacionados con los experimentos mendeliano: las generaciones paternas del primer cruzamiento en los cuales los parentales se caracterizan por la pureza de sus caracteres se les denomina líneas puras, la descendencia del producto del cruzamiento entre dos líneas puras se les denomina F1, y siempre son híbridos, al cruzamiento en el que solamente se observa la herencia de un carácter se le denomina cruce monohíbrido, si se trata de dos caracteres, cruce dihíbrido, tres caracteres cruce trihíbrido y así sucesivamente.

## **Cruzamiento monohíbrido**

Analicemos un cruzamiento mendeliano entre dos líneas puras para el carácter color amarillo y verde del cotiledón.

Mendel polinizó las plantas de guisantes que daban siempre semillas de cotiledón amarillo con el polen de guisantes que siempre daban semillas de cotiledón verde, pero también lo hizo a la inversa.

La primera generación o F1 de este cruzamiento dio semillas solamente de cotiledones amarillos.

Cuentan que Mendel cuando llegó la siguiente primavera sembró las semillas híbridas pero dejó que estas se autopolinizaran, las cuidó de las plagas y obtuvo resultados que le permitieron interpretar que el color amarillo se comportaba como dominante pues aparecía siempre en la F1 y reaparecía en mayor proporción en la F2, en tanto que al color verde le denominó recesivo ya que desaparecía en la F1 y reaparecía en la F2 en menor proporción.

Los cuidados que Mendel tuvo al proteger a sus guisantes de plagas estaban fundamentados en el hecho de que por primera vez en la historia de la ciencias de la época se integraban la biología y la matemática, si no hubiera protegido a sus guisantes no hubiera podido llegar a la proposición de que la probabilidad de obtener guisantes verdes a partir de la autofecundación de un guisante monohíbrido sería de 3 a 1 y mucho menos a proponer la regularidad que hoy conocemos como su primera ley o ley de la segregación de los factores que dan lugar a los caracteres estudiados.

En los primeros años del siglo XX un genetista danés Wilhelm Johannsen denominó a los factores mendelianos como genes. Seguir la historia de la genética desde los experimentos mendelianos nos llevaría mucho tiempo y aunque resulta sumamente interesante y de gran motivación, el propósito de este capítulo se puede cumplir con éxito en muchísimo menor tiempo que el que necesitó el Profesor Nageli a quien Mendel solicitó su ayuda a mediados del siglo XIX, comprender el valor científico de los experimentos que dieron origen a las conocidas Leyes de Mendel y al valor actual de las mismas en las investigaciones del Genoma Humano.

Los genetistas dan nombre a los genes y generalmente y muy en especial para experimentos mendelianos sobre caracteres discontinuos o alternativos como amarillo o verde, se le nombra a los genes que determinan el carácter dominante con su primera letra en mayúscula por ejemplo el carácter color amarillo dominante será representado por la letra A (mayúscula) y su cualidad alternativa color verde con la letra minúscula a.

## **Análisis del cruzamiento mendeliano para el carácter color del cotiledón de las semillas**

Analicemos las características genéticas de las líneas puras color AMARILLO del cotiledón y su alternativa VERDE. Si el color amarillo dominante está representado por **A** y el verde por **a**, ambas plantas tienen ambos genes iguales o sea **AA** los guisantes de cotiledón amarillo y **aa** los que tienen el cotiledón verde, mientras que los monohíbridos resultantes serán genéticamente **Aa**. El término genético que se emplea para distinguir las características de los genes que expresan un carácter determinado recibe el nombre de genotipo. Se denomina genotipo homocigótico al que está representado por dos genes

que expresan el mismo carácter iguales, también serán denominados genotipos homocigóticos dominantes en el caso de que estos genes expresen el carácter dominante (AA) o recesivo si expresan el carácter recesivo (aa).

El carácter que se expresa debido a determinado genotipo y que podemos estudiar en algún nivel de observación, cualquiera que este sea, es denominado fenotipo. Las cualidades alternativas de un carácter son los eventos que realmente son reconocidos en este nivel de estudio, por lo que podemos decir que es el fenotipo el que realmente puede ser denominado como dominante o recesivo.

Mientras más se profundiza en el estudio del fenotipo más nos acercamos al genotipo como veremos más adelante en otros capítulos de este texto.

Como ya se conoce el gen es un segmento de ADN que tiene un lugar en el cromosoma, a este sitio que ocupa un gen en el cromosoma se le denomina locus una palabra del latín cuyo plural es loci. Significa que en este experimento mendeliano nos referimos al locus donde se encuentra un segmento de ADN que codifica para una proteína cuya expresión se observa en el fenotipo por la presencia del color amarillo o verde del cotiledón.

Los genes que producen la alternativa color son denominados alelos. Luego los alelos son formas alternativas del mismo gen que ocupa un locus en igual posición en dos cromosomas homólogos y que se originan por mutaciones que ocurren en algún sitio del segmento de la cadena ADN que limita a este locus.

Los avances alcanzados en la genética obedecen a la observación de fenotipos curiosos o raros y de investigar por qué no son iguales.

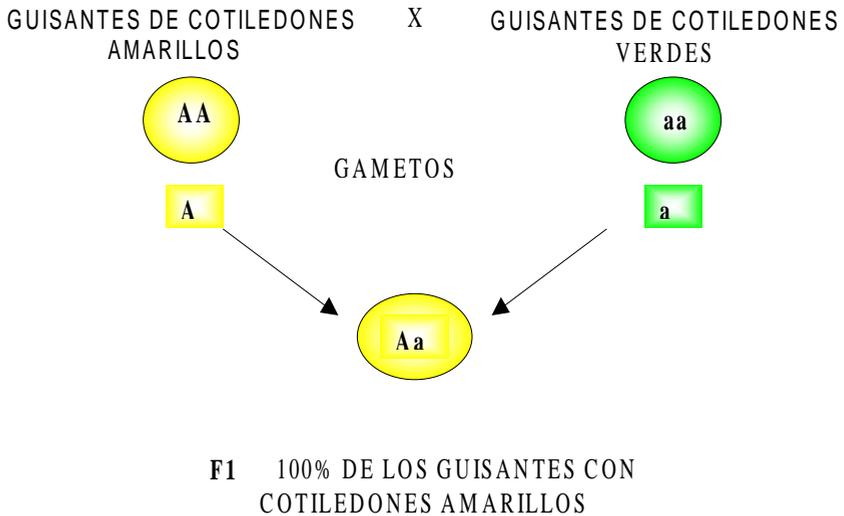
Cada locus puede tener muchos más de dos alelos como veremos más adelante en este texto.

Ahora podemos analizar el experimento de Mendel según la figura 5.1.

En esta F2 Mendel obtuvo 6022 semillas de cotiledones Amarillos y 2001 semillas de cotiledones Verdes en una proporción 3.01 a 1 (75 % Amarillos y 25 % verdes), esto se repite en los trabajos de Mendel para cada uno de los siete caracteres que estudió y que le permitió concluir lo que ya hemos visto sobre caracteres dominantes y recesivos, pero también que la autofecundación de la F1 produce estos caracteres en su fenotipo en una proporción 3:1 ( $\frac{3}{4}$ ,  $\frac{1}{4}$ ) y que las proporciones en que aparecen sus factores o genes en el genotipo es de 1:2:1 ( $\frac{1}{4}$ ,  $\frac{2}{4}$ ,  $\frac{1}{4}$ ). El color verde solo se expresa si el genotipo es homocigótico para el carácter recesivo verde.

Tendremos cuatro combinaciones de gametos

GAMETOS	A	a
A	AA (Amarillos)	Aa (Amarillos)
a	aA (Amarillos)	aa (Verdes)



AUTOFECONDACION DE LA F1

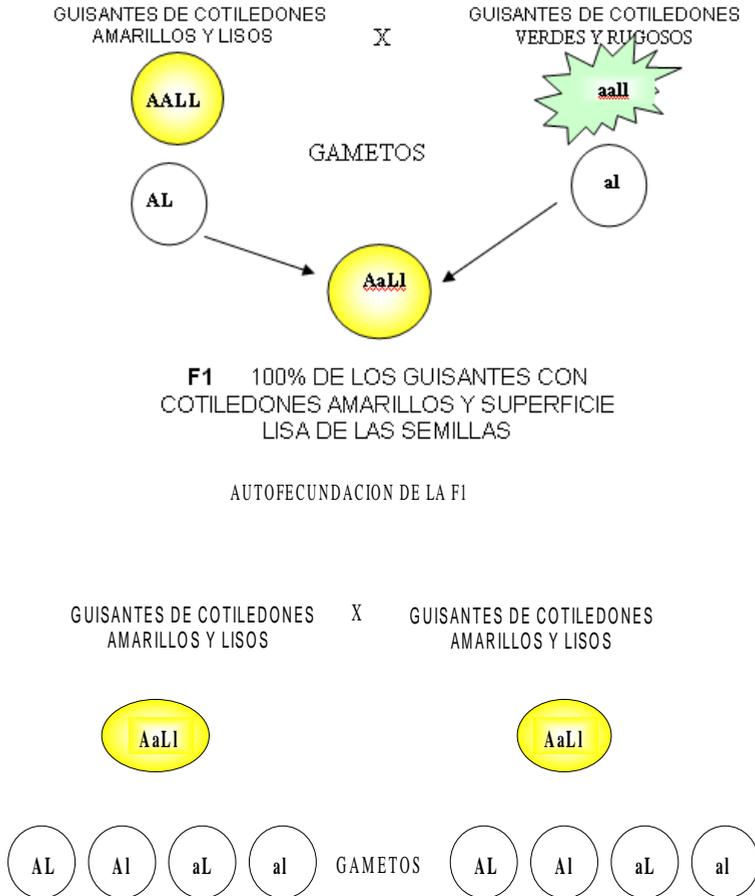


**Figura 5.1.** Cruzamiento de las líneas puras para un solo carácter o cruce monohíbrido

Esto significa que los llamados factores mendelianos ahora genes, segregan en los gametos o sea se separan durante la meiosis en los cromosomas donde se encuentra su locus. Esta es la primera Ley de Mendel conocida como Ley de la Segregación.

## Cruzamiento mendeliano para dos caracteres

Otro de los experimentos que Mendel realizó fue la observación de lo que ocurría cuando se cruzaban líneas puras para dos caracteres (Figura 5.2)



**Figura 5.2.** Cruzamiento de las líneas puras para dos caracteres: además del color del cotiledón la superficie lisa o rugosa de las semillas en un cruce dihíbrido.

Ahora al combinar los gametos tendremos 16 posibilidades :

GAMETOS	AL	aL	Al	al	
AL	AALL(Amarillos y lisas)	Aa LL (Amarillos y lisas)	AALI (Amarillos y lisas)	AaLI (Amaillos y lisas)	
aL	aALL (Amarillos y lisas)	aa LL (Verdes y lisas)	AaLI (Amarillos y lisas)	aaLI (verdes y lisas)	
AI	AALI (Amarillos y lisas)	AaLI (Amarillos y lisas)	AAII (Amarillas y rugosas)	AaII (Amarillas y rugosas)	
aI	AaLI (Amarillas y lisas)	aaLI (Verdes y lisas)	AaII (Amarillas y rugosas)	aaII (Verdes y rugosas)	

Resultados obtenidos por Mendel:

566 Amarillas y lisas

108 Amarillas y rugosas

101 Verdes y lisas

32 Verdes y rugosas

Las proporciones fenotípicas obtenidas fueron equivalentes a:

9 Amarillas y lisas 9/16

3 Amarillas y rugosas 3/16

3 Verdes y lisas 3/16

1 Verde y rugosas 1/16

Estas proporciones se ajustaban a las esperadas cuando solo se implicaba un solo carácter de modo tal que al combinar (multiplicación) los resultados esperados para ambos caracteres de forma independiente tendremos lo siguiente:

$\frac{3}{4}$  Amarillas  $\frac{3}{4}$  Lisas  $\frac{9}{16}$  Amarillas y lisas

$\frac{1}{4}$  Verdes  $\frac{3}{4}$  Lisas  $\frac{3}{16}$  Verdes y lisas

$\frac{3}{4}$  Amarillas  $\frac{1}{4}$  Rugosas  $\frac{3}{16}$  Amarillas y Rugosas

$\frac{1}{4}$  Verdes  $\frac{1}{4}$  Rugosas  $\frac{1}{16}$  Verdes y rugosas

Esto significa que la probabilidad de que una planta sea lisa o rugosa no interfiere o es independiente de la probabilidad de que sea verde o amarilla.

En esto consiste la segunda Ley de Mendel o sea la transmisión independiente de los alelos de los loci que producen estos dos tipos de caracteres con sus dos cualidades de color y superficie de la semilla. Ley de la Segregación Independiente y al Azar de los alelos correspondientes a dos loci.

## Retrocruces

Un retrocruce denominado también cruce prueba es el cruce que se realiza con uno de los descendientes obtenida de una F2 con el parental línea pura para el o los caracteres recesivos.

En el caso de los fenotipos de guisantes con cotiledones amarillos, obtenidos de una F2, estos pueden ser genotípicamente AA ó Aa en proporciones 1:2, pero....¿Cómo saberlo?

F2 cotiledón amarillo                      X    Línea pura, color verde (Genotipo aa)

- Si el 100% de los guisantes resultantes del cruzamiento, es de cotiledón amarillo, entonces el genotipo de la F1 que se investiga será AA.
- Si el 50% es de cotiledón amarillo y el 50% de cotiledón verde, entonces el genotipo de la F1 es Aa.

¿Y si se tratara de un dihíbrido de la F2, de semillas con cotiledones amarillos y superficie lisa de la semilla?

Estos tipos de guisantes F2 pueden tener los siguientes genotipos:

1 AALL, 2 AALl, 2 AaLL, 4 AaLl

F2 semllas amarillas y lisas            X    Líneas puras, semillas verdes y rugosas.  
(Genotipo aall).

- Si el 100% de los guisantes resultantes de este retrocruce es de semilla amarilla y lisa. El genotipo de la F2 es AALL.
- Si el 50% es amarilla y lisa y el otro 50 % amarilla y rugosa, el genotipo de la F2 es AALl.

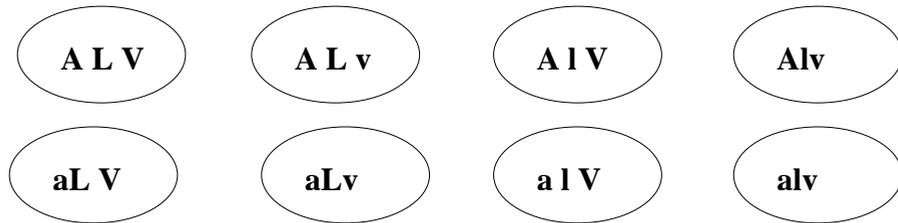
- Si el 50 % es amarilla y lisa y el otro 50 % verde y lisa, el genotipo de la F2 es AaLL.
- Si el 25 % es amarilla y lisa, el 25 % amarilla y rugosa, el 25 % verde y lisa y el 25 % verde y rugosa, el genotipo de la F2 es AaLl.

## Cruzamiento trihíbrido

Mendel también realizó cruzamiento trihíbridos teniendo en cuenta tres caracteres: color amarillo y verde del cotiledón, superficie lisa y rugosa de la semilla y flores blancas y violetas. Ya sabía que el color violeta de las flores era el carácter dominante de las alternativas de este locus.

Cruzó líneas puras de guisantes de semillas amarillas, lisas y flores violetas (genotipos AA LL VV) con líneas puras de guisantes con semillas verdes, rugosas y de flores blancas ( genotipos aa ll vv).

La F1 de este cruzamiento resultó ser como se esperaba guisantes de semillas amarillas, lisas y flores violetas y genotípicamente Aa Ll Vv.



**Figura 5.3.** Gametos de la F1 AaLlVv.

A su vez la autofecundación de la F1 dio lugar a una F2 resultante de la combinación de ocho tipos de posibles gametos (Figura 5.3).

- 27 Amarillas, lisas y flores violetas (8 genotipos)
- 9 Amarillas, lisas, flores blancas (4 genotipos)
- 9 Verdes, lisas, flores violetas (4 genotipos)
- 9 Amarillas, rugosas, flores violetas (4 genotipos)
- 3 Verdes, lisas, flores y blancas (2 genotipos)
- 3 Amarillas, rugosas y flores blancas ( 2 genotipos)
- 3 Verdes, rugosas y flores violetas (2 genotipos)
- 1 Verde, rugosa, flores blancas (1 genotipo)

Este cruzamiento fue una prueba más de la transmisión independiente y al azar de los genes que expresan caracteres diferentes y cualidades alternativas de éstos.

## **RESUMEN**

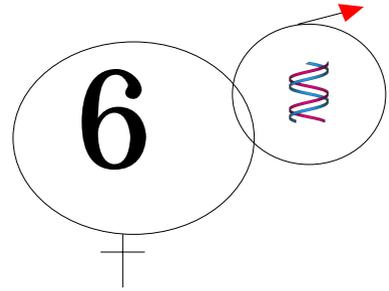
Los experimentos mendelianos permitieron descubrir las leyes conocidas como Primera Ley de la Segregación y Segunda Ley de la Transmisión Independiente y al Azar de los caracteres. Ambas leyes se corresponden con la meiosis ya que los genes segregan con los cromosomas en los gametos y a su vez los cromosomas de origen materno y paterno se distribuyen independientes y al azar en los gametos.

La presencia de formas alternativas de genes involucrados en la determinación de un carácter o alelos fue un evento decisivo para los experimentos mendelianos.

De estos experimentos derivan los conceptos de líneas puras refiriéndose a los genotipos homocigóticos de generación en generación, fenotipos dominante cuando se expresa en el 100 % de la F1 o primera generación filial y en el 75 % de la segunda generación filial o F2. Los genotipos en estos casos pueden ser homocigóticos para el carácter dominante y heterocigóticos, mientras que el fenotipo recesivo desaparece en la F1 para reaparecer en el 25 % en la F2 y para que se exprese es absolutamente necesario que el genotipo sea homocigótico para los genes que expresan un carácter recesivo.

# LOS CROMOSOMAS HUMANOS Y SU ESTUDIO

Araceli Lantigua Cruz



*Existen varios enfoques sobre el estudio de los cromosomas humanos, que dependen del nivel de profundidad de lo que se quiere conocer, la urgencia del estudio y de los recursos técnicos con los que se cuenta para hacer el estudio.*

*Las fases del ciclo celular de una célula somática, pueden ser clasificados desde el punto de vista citológico en dos grandes momentos de estadio celular: la interfase y la mitosis. Tanto en una como en la otra es posible obtener información sobre los cromosomas humanos. En la interfase, que comprende los estadios G1, S y G2, la información se obtiene por las características de la cromatina nuclear y está relacionada específicamente con los cromosomas humanos X y Y.*

*Durante la mitosis es posible conocer muchos más detalles de cada uno de los 46 cromosomas humanos. En el Capítulo 1 de este texto se abordaron aspectos relacionados con la historia de la citogenética, en el presente capítulo se exponen los fundamentos de las técnicas citogenéticas con el propósito de comprender sus resultados e interpretaciones.*

## CROMATINA NUCLEAR

La molécula de ADN de un cromosoma existe como un complejo formado por una familia de proteínas básicas cromosómicas denominadas histonas y de un grupo heterogéneo de proteínas ácidas no histonas que, a pesar de que se encuentran menos caracterizadas, tienen un importante papel en la estructura y expresión apropiada de los genes. La cromatina nuclear depende entonces, del estado de condensación y descondensación del ADN. Hay dos formas de cromatina de acuerdo con lo hasta aquí descrito: la eucromatina, en un estado de condensación que permite la expresión génica, y la heterocromatina en un estado mucho más condensado que, atendiendo a sus características de activación o inactivación, se clasifica en dos grupos:

- la constitutiva, siempre inactiva y que se encuentra en sitios específicos de la estructura de los cromosomas.

- la facultativa, que puede existir en forma genéticamente activa (descondensada) o en forma inactiva y condensada situación ésta propia del cromosoma X.

## LOS CROMOSOMAS

En la división celular o mitosis, la información es más completa y se extiende al estudio de cada par cromosómico, por lo que es posible analizar el complemento cromosómico, tanto desde el punto de vista numérico como estructural.

Como la mitosis comienza al finalizar el periodo G2 del ciclo de vida celular, al que a su vez le antecede la síntesis del ADN, los cromosomas siempre estarán constituidos por dos cromátidas (expresión citológica de la síntesis de ADN), unidas por una constricción primaria o centrómero y por extremos denominados telómeros.

Cada especie presenta un número haploide constante de cromosomas y a su vez un número diploide en el que cada par cromosómico se caracteriza por una estructura constante.

En los cromosomas humanos se destacan tres tipos, de acuerdo con la posición del centrómero y la longitud de las cromátidas. La posición del centrómero divide al cromosoma en dos regiones denominadas brazos y que son designados como cortos p (del francés petit: pequeño) y largos q (siguiente letra del alfabeto después de la p) (Figura 6.1).

Así, los cromosomas humanos son clasificados de acuerdo con la posición del centrómero en:

- Metacéntricos, cuando el centrómero está muy próximo al centro y ambos brazos, cortos y largos, impresionan de igual longitud.
- Submetacéntricos, cuando el centrómero está desplazado hacia un extremo identificándose brazos cortos y brazos largos.
- Acrocéntricos, cuando el centrómero está muy desplazado hacia un extremo, siendo los brazos cortos extremadamente pequeños.

En el humano hay cinco pares de cromosomas autosómicos, acrocéntricos, y todos presentan satélites. Los satélites son estructuras redondas unidas a los brazos cortos de estos cromosomas por una fina constricción secundaria denominada tallos. Los tallos de estos cinco pares de cromosomas humanos, contienen cientos de copias de genes que codifican ARN ribosomal, por lo que se dice que contienen ADN relacionado con el organizador nucleolar. El cromosoma Y por su estructura, es también acrocéntrico, pero en sus brazos cortos hay genes muy importantes que permiten la unión al cromosoma X durante la meiosis I y otros genes involucrados en la diferenciación sexual, y a diferencia

de los acrocéntricos autosómicos, no tiene satélites y en sus brazos largos presenta una zona extensa de heterocromatina constitutiva.

Hay un cuarto tipo de cromosoma denominado telocéntrico, con el centrómero tan desplazado hacia un extremo que los brazos cortos no se observan. Este tipo de cromosoma no es característico del humano y una estructura similar pudiera observarse en cromosomas humanos productos de rearrreglos estructurales que serán estudiados más adelante.

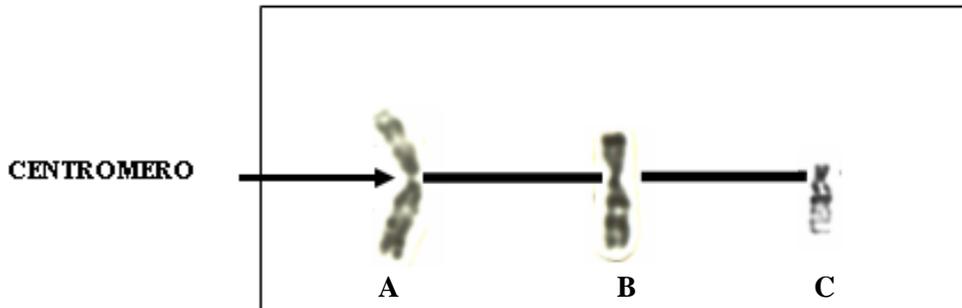


Figura 6.1 Tipos de cromosomas humanos según posición del centrómero. A: metacéntrico, B: submetacéntrico y C: acrocéntrico.

## **ESTUDIO DE LOS CROMOSMAS HUMANOS EN CÉLULAS EN INTERFASE: CROMATINA SEXUAL**

### *Estudio del cuerpo Y*

El cromosoma Y puede ser identificado en células en interfase tratando una extensión de un tejido con colorantes fluorescentes. El tejido obtenido se coloca sobre un portaobjeto para ser coloreado. La muestra puede ser obtenida por medio de raspado de la mucosa bucal. Este tipo de colorante tiñe intensamente la región de heterocromatina constitutiva que caracteriza al ADN de los brazos largos del cromosoma Y, observable sólo con el uso de luz ultravioleta, por lo que se requiere un microscopio con estas características. El cuerpo Y, como se le denomina, sólo es observado cuando el cromosoma Y está presente en el genoma del individuo en estudio, de tal modo que es positivo en las muestras obtenidas de individuos masculinos y negativo en el sexo femenino. También se tiene en cuenta el número de cuerpos Y que se observan por cada núcleo examinado.

## Estudio del cromosoma X

En el texto ya se ha tratado sobre el fenómeno de inactivación (heterocromatina facultativa) de uno de los dos cromosomas X en estadios tempranos de preimplantación del cigoto.

En el año 1949, dos investigadores Barr y Bertran, observaron diferencias entre los núcleos de las células de tejido nervioso de los animales sobre los que realizaban sus experimentos. A partir de esta observación, comenzaron a realizarse investigaciones que permitieron identificar el hallazgo de estos investigadores con la inactivación de uno de los cromosomas X en el sexo femenino.

Como para el estudio del cuerpo Y, la muestra se obtiene de raspado de la mucosa bucal y a diferencia del estudio del cuerpo Y, la coloración puede realizarse con colorantes habituales y la observación bajo microscopio común. En el núcleo se observa una pequeña masa heterocromática, en forma convexa con uno de sus lados como fijado a la envoltura nuclear, más intensamente (Figura 6.2).

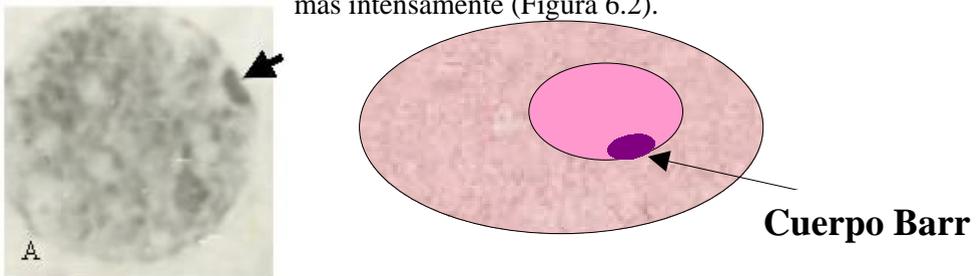


Figura 6.2. A. Foto de un núcleo en interfase con el cuerpo de Barr señalado por la flecha. B. Esquema de la imagen de un cuerpo Barr en el núcleo de una célula epitelial.

La mujer presenta en el análisis de 100 células, aproximadamente un 40% de células en las que se observa un cuerpo Barr, que corresponde con el número de cromosomas X-1.

El estudio de la cromatina sexual para análisis del cuerpo Barr, constituye una técnica sencilla, económica, rápida de realizar y muy útil para identificar la presencia del cromosoma X en recién nacidos con genitales externos no bien definidos, y que requieren de un diagnóstico rápido, niñas con baja talla, individuos femeninos o masculinos con historia de infertilidad o el sexo de deportistas femeninos de alto rendimiento.

## EL CARIOTIPO HUMANO

### *Generalidades técnicas del análisis de los cromosomas humanos*

A diferencia de la cromatina sexual que su estudio puede realizarse en células en interfase, los cromosomas humanos requieren de la obtención de divisiones celulares.

A finales de la década del 50 del siglo pasado, se desarrollaron técnicas de cultivo de tejidos *in vitro* que permitieron identificar el número preciso de cromosomas del humano.

En la actualidad, el estudio cromosómico es una técnica de avanzada bastante común. Puede realizarse en diferentes tipos de tejidos como piel, cartílago, médula ósea, sangre, células de diversos órganos, tejidos fetales y trofoblásticos, incluyendo el líquido amniótico.

Por su fácil obtención, la sangre periférica se ha convertido en el tejido más utilizado para los estudios cromosómicos corrientes. El término empleado para referirse al estudio de los cromosomas humanos es el de cariotipo.

El cariotipo se define como la culminación del ordenamiento de los cromosomas humanos según su forma y la posición de su centrómero, en grupos que van de la A a la G, y en pares del uno al veintidós, recortando los cromosomas a partir de una fotografía.

Pero también este término suele emplearse para referirse al conjunto de cromosomas de un individuo o al conjunto de cromosomas de una especie, por ejemplo "el cariotipo de un hombre o mujer" o el "cariotipo humano".

En la actualidad se cuenta con sistemas automatizados que permiten la confección del cariotipo automáticamente, una vez que a través del sistema de lentes del microscopio, y a partir de una lámina portaobjeto previamente preparada, se capta la imagen de la metafase que se desee estudiar (Figura 6.3).

Existe un sistema internacional de clasificación de los cromosomas acordado en la Conferencia de París, en el año 1971. Este sistema ha sido enriquecido en la medida en que se han ido perfeccionando las técnicas citogenéticas.

De acuerdo con este sistema internacional cada grupo y par cromosómicos tienen las siguientes características:

- . Grupo A. Está formado por los pares cromosómicos 1, 2 y 3. El 1 y el 3 son ambos metacéntricos, siendo el cromosoma 1 el más grande de los cromosomas humanos y el cromosoma 2, el mayor submetacéntrico .
- . Grupo B. Está integrado por los pares 4 y 5. Ambos submetacéntricos, prácticamente de igual tamaño.
- . Grupo C. Incluye a los pares del 6 al 12 y todos son submetacéntricos.
- . Grupo D. Integrado por los pares 13, 14 y 15. Todos son acrocéntricos, los mayores con esta forma cromosómica, del cariotipo humano. Todos presentan satélites.

- . Grupo E. Está formado por los pares 16, metacéntrico y 17 y 18, ambos submetacéntricos.
- . Grupo F. Incluye a los pares 19 y 20 ambos son los cromosomas metacéntricos más pequeños del cariotipo humano.
- . Grupo G. Está formado por los pares 21 y 22, son los cromosomas acrocéntricos más pequeños, ambos tienen satélites y de ellos el 21 es el más pequeño.
- . El cromosoma X es submetacéntrico y por su tamaño corresponde al grupo C mientras que el cromosoma Y es acrocéntrico, por su tamaño se incluye en el G.

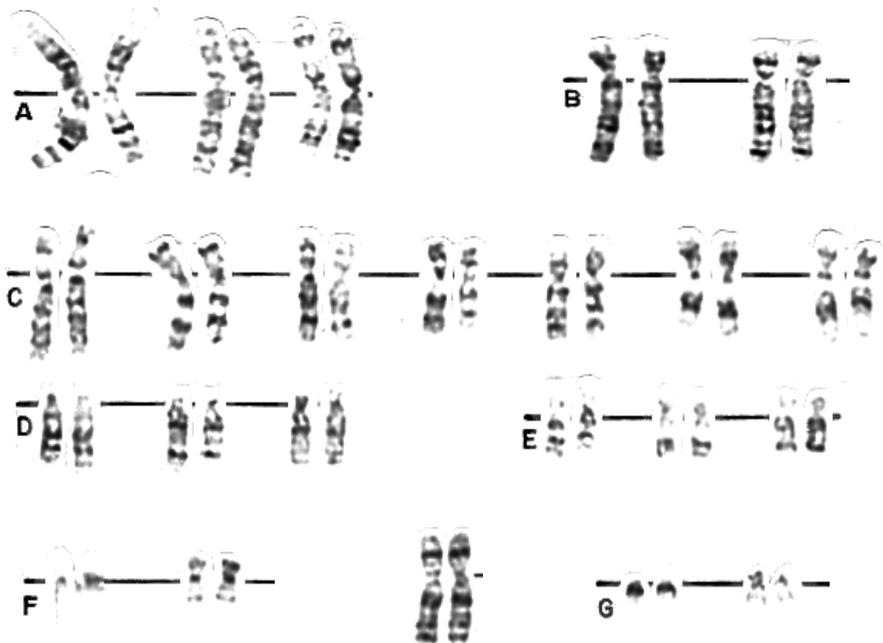


Figura 6. 3 Cariotipo de mujer cromosómicamente normal.

## Técnicas para la obtención de cromosomas

El momento del ciclo celular que permite la observación de los cromosomas es la división celular, por lo que, con pocas, muy pocas excepciones, se requiere del cultivo in vitro de tejidos que permitan este tipo de análisis por crecimiento rápido del mismo. El tejido humano de más fácil acceso con estos propósitos es la sangre.

Los componentes celulares de la sangre que se encuentran en mayor proporción son los hematíes, que por su alto grado de especialización han perdido su núcleo y se encuentran en una fase G0 de su ciclo celular por lo que, son los leucocitos y en especial los linfocitos T, las células a partir de las cuales podrá ser posible, bajo la estimulación de la fitohemaglutinina (FHA), que es un agente mitogénico (estimula la mitosis), potencializar la iniciación del ciclo celular. En 24 horas se obtienen nuevas células que ya no requieren de la acción de la FHA.

Se describen varios protocolos de procedimientos técnicos para la obtención de cromosomas, pero todos se basan en los siguientes pasos:

- . Obtención de una muestra de sangre periférica, mezclada con heparina para prevenir la coagulación, y no perder la posibilidad de mantener libres a los linfocitos:
- . Medio de cultivo enriquecido con suplemento exógeno.
- . Uso de FHA, para estimular la mitosis de los linfocitos T.
- . Incubación a 37<sup>o</sup> durante 72 horas,
- . Detección de la división celular en metafase con el uso de colchicina, producto que inhibe la formación del huso acromático, incubando a 37<sup>o</sup> por varios minutos.
- . Cosechar el cultivo, iniciando este paso, con una primera centrifugación que permita la sedimentación de los elementos formes.
- . Extraer el sobrenadante sustituyéndolo por igual cantidad de una solución hipotónica con lo cual se logra aumentar el volumen celular y separar a los cromosomas lo suficiente para su identificación evitando la sobreposición de los cromosomas.
- . Fijación con ácido acético y metanol, para finalmente depositarlos en gotas sobre una lámina portaobjeto que finalmente será sometida a diversos métodos de coloración.
- . Observación bajo microscopio óptico y análisis del número de metafases estimado según los objetivos del estudio.
- . Fotografía de varias metafases según sea necesario y finalmente la confección de uno o varios cariotipos.

## **Método de coloración para análisis cromosómico común**

Existen diversos métodos de coloración de los cromosomas después de aplicar procedimientos técnicos, que tienen como objetivo común la identificación de cada pareja cromosómica teniendo en cuenta señales que permitan reconocer la estructura longitudinal de cada uno de ellos. A estas técnicas se les conoce como de bandas ya que dejan en

toda la longitud del cromosoma un patrón de señales en forma de bandas que tienen la característica de ser constantes para cada par cromosómico y para cada especie ya que las bandas obtenidas parecen estar relacionadas con regiones del ADN ricas en AT y GC. Los protocolos técnicos empleados con mayor frecuencia en el análisis de los cromosomas humanos son denominados:

*Bandas G*, refiriéndose a un patrón constante de bandas claras y oscuras como consecuencia del tratamiento de las láminas con soluciones de tripsina y posterior coloración con Giemsa. Este tipo de bandas es el más empleado por los laboratorios que realizan el servicio citogenético de cariotipos corrientes.

*Bandas Q*, se basan en el uso de colorantes fluorescentes como la quinacrina, y la acción de la luz ultravioleta sobre la metafase en observación. Deja un patrón como el de las bandas G siendo brillantes las bandas que son oscuras y no brillantes las bandas claras. Tienen el inconveniente técnico de necesitar microscopio de fluorescencia.

*Bandas R*, este patrón de bandas se obtiene al someter las láminas a un proceso de calor que produce un fenómeno de desnaturalización del complejo ADN-proteínas de los cromosomas. Al ser coloreadas las láminas con Giemsa se obtiene un patrón de bandas que son el *reverso* del patrón obtenido en las bandas G y Q, de ahí el nombre de bandas R. Esta técnica se emplea comúnmente por laboratorios de algunos países europeos como Francia.

Existen otros procedimientos especiales, como las *bandas C*, para cuya obtención se emplea un método de coloración que destaca las zonas heterocromáticas de cada cromosoma permitiendo identificar con mayor precisión a los cromosomas de los pares 1, 9 y 16 que presentan una región variable de heterocromatina pericentromérica hacia los brazos largos y al cromosoma Y, que presenta una importante extensión de heterocromatina que ocupa casi los dos tercios del brazo largo hacia el telómero y a la que ya hemos hecho mención (Ver cuerpo Y). Estas regiones de heterocromatina son útiles para reconocer el origen materno o paterno de estos cromosomas cuando se encuentran presentes.

*Bandas de alta resolución o prometáfásicos*. Este tipo de bandas se utiliza cuando se quiere identificar algún pequeño defecto estructural de un cromosoma. Consiste en aplicar protocolos de bandeado G, Q o R a láminas obtenidas después de tratar los cultivos con sustancias que sincronizan la mitosis con el objetivo de obtener un gran número de células en prometafase tardía o metafases muy tempranas. Los cromosomas se alargan y el patrón de bandas que se obtiene es lo suficientemente grande como para identificar pequeños defectos estructurales. Los cromosomas con este tipo de técnica pueden tener un número de bandas tan grande como de 550 a 850 o más, mientras que con las técnicas de cromosomas en metafase se alcanzan menos de 400 bandas.

No podemos dejar de mencionar a la citogenética molecular, que se basa en el uso de segmentos de ADN complementarios, obtenidos por técnicas de ADN recombinante. Con el uso de estas técnicas, la distancia entre grandes mutaciones cromosómicas y mutaciones de un solo gen se acortan y su uso ha permitido cartografiar grandes genes. Una descripción de este tipo de técnica aparece con más detalles en el Capítulo 7.

Describir el cariotipo de forma resumida ha requerido de un acuerdo entre todos los citogenetistas del mundo. Finalmente se han adoptado un conjunto de abreviaturas y símbolos con los cuales informar lo que se observa en el análisis del cariotipo pero de una forma muy sintética. En la tabla se muestran los principales. Los defectos genéticos expresados se estudian en el Capítulo 8.

#### TERMINOLOGÍA UTILIZADA PARA LA DESCRIPCIÓN DE LOS CROMOSOMAS Y SUS ANORMALIDADES

Abreviatura	Significado	Ejemplo	Condición
p	Brazo corto		
q	Brazo largo		
cen	Centrómero		
ter	Hacia el telómero		
+	Ganancia	46, XX, + 21	Femenino, Trisomía 21
-	Pérdida	46, XY, 5p-	Masculino deleción brazos cortos del 5
/	Mosaicismo	45,X / 46,XX	Dos líneas celulares.
del	Deleción	46,XX,del (4p)	Femenino, deleción de los brazos cortos del cromosoma 4
dup	Duplicación	46,XY, dup (3p)	Masculino, duplicación de brazos cortos del cromosoma 3
inv	Inversión	46, XX, inv (9)	Femenino con inversión del cromosoma 9
ins	Inserción		
i	Isocromosoma	46,X,i(Xq)	Femenino isocromosoma de brazos largos del X
t	Translocación	45, XY,-14,-21, t(14;21)	Masculino con translocación balanceada entre los cromosomas 14 y 21.
t	Translocación	46,XX, -14, t(14;21)	Femenino con translocación entre los cromosomas 14 y 21 y trisomía 21.
recp	Translocación recíproca		
rob	Translocación robersoniana o por fusión centromérica		
mar	marcador	47, XY,+ mar	Masculino con cromosoma marcador extra.
pat	Paterno		
mat	Materno		
r	anillo	46,XX, r(13)	Femenino con cromosoma 13 en anillo
		46, XX	Femenino normal
		46,XY	Masculino normal

## RESUMEN

El estudio microscópico de células en interfase, con objetivos de identificar la presencia de ADN de los cromosomas X y Y, en forma de cromatina, ofrece un método rápido y económico que permite identificar el sexo cromatínico del individuo en estudio.

Esta técnica se indica cuando se requiere conocer con urgencia el sexo en un recién nacido cuyos genitales externos son ambiguos.

Es un paso técnico que se encuentra entre la clínica y el cariotipo cuando se estudia a niñas con baja talla o a parejas infértiles.

Permite identificar hombres con síndromes de feminización testicular y fenotipo de mujer, en equipos deportivos de mujeres de alto rendimiento.

El cariotipo es una técnica más elaborada y costosa, requiere de un tiempo mayor de análisis que depende del cultivo del tejido fundamentalmente. Para cariotipos comunes se utiliza como tejido sangre de la persona que se desea estudiar. Este tipo de cultivo lleva un tiempo menor ya que a las 72 horas se detiene y se pueden obtener extensiones en láminas portaobjeto listas para ser sometidas a las coloraciones deseadas. La técnica de bandas usada en cariotipos comunes son las bandas G y la resolución más efectiva es el nivel prometafásico de estudio.

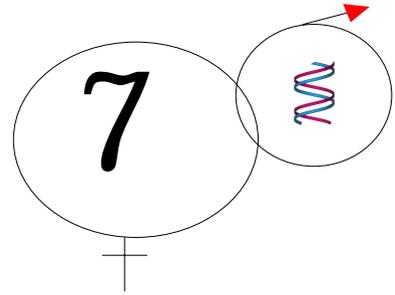
Oras técnicas de coloración para la obtención de bandas, se realizan cuando es necesario tener más detalles de algún defecto cromosómico no bien identificado o cuando se proyectan investigaciones específicas.

En análisis de cromosomas de mayor resolución se emplea cuando se desea identificar algún defecto pequeño no identificado en el estudio de rutina.

La citogenética molecular ofrece un nivel técnico mucho más especializado y algunas de sus indicaciones están en manos de Especialistas en Genética Clínica, cuando se quieren identificar defectos submicroscópicos de cromosomas específicos o de uso de los Citogenetistas con fines de investigaciones en las que intervienen grupos de especialistas involucrados en el estudio de etiología de defectos genéticos poco comprendidos.

# CITOGÉNÉTICA MOLECULAR

Jorge Quintana Aguilar



*El año 1977 marca el inicio de la era de la citogenética molecular. Los avances en este campo de la citogenética son impresionantes.*

*Con este tipo de estudio se puede lograr identificar defectos submicroscópicos del ADN y disminuir la brecha que existe entre la detección de una simple inserción o deleción de un nucleótido, la inserción o deleción de varios de ellos y la observación de estos defectos a nivel de la citogenética convencional.*

*La importancia extrema de estos avances técnicos motivó la realización de este capítulo en el que se exponen las características y fundamentos que combinan instrumentos moleculares a partir del ADN recombinante y la citogenética.*

## TÉCNICAS DE HIBRIDACIÓN *in situ*

La tecnología de "hibridación in situ" (HIS) combina las técnicas de citogenéticas convencionales con técnicas moleculares y está basada en la detección de secuencias específicas de ácidos nucleicos, bien sea en cromosomas aislados o células interfásicas. Fue descrita originalmente por Pardue y Gall, John y cols., en 1969 utilizando isótopos radiactivos para marcar las sondas, las cuales, combinadas con técnicas de autoradiografía posibilitaron la detección de las secuencias hibridadas.

En 1977, Rudkin y Stollar describieron un método inmunocitoquímico basado en la utilización de anticuerpos anti ADN ó anti ARN marcados con sustancias fluorescentes detectables microscópicamente. Este procedimiento se conoce como técnica de "hibridación in situ fluorescente" (FISH) o "hibridación no isotópica".

Actualmente existen dos métodos de FISH, llamados directos e indirectos.

Los métodos directos permiten realizar la visualización microscópica de la señal inmediatamente después de realizada la HIS. El marcaje directo emplea nucleótidos marcados con sustancias fluorescentes.

Los métodos indirectos se basan en la utilización de sondas unidas a moléculas tales como la biotina o digoxigenina marcadas con una sustancia fluorescente que permite su

visualización al microscopio con luz ultravioleta. Estos métodos se pueden combinar con técnicas inmunocitoquímicas basadas en reacciones antígeno - anticuerpo para aumentar la intensidad de las señales fluorescentes.

La Biotina 11 - dUTP y la digoxigenina 11 - dUTP son dos ejemplos de bases análogas que pueden ser incorporadas al ADN en lugar de dTTP.

La biotina (vitamina H) tiene la ventaja de poseer una gran afinidad por las proteínas avidina y estreptoavidina, dando lugar a uniones casi irreversibles.

La digoxigenina es un derivado de la digitoxina procedente de la *Digitalis purpúrea* y *D. lanata* que resulta altamente eficiente en reacciones antígeno anticuerpo en células.

Existe una amplia variedad de sondas disponibles comercialmente. Otra alternativa para la obtención de sondas se basa en la amplificación del ADN en vectores y su marca posterior por medio de la técnica conocida como "nick translation".

Mediante la FISH pueden detectarse diferentes tipos de secuencias en el genoma humano, de acuerdo con las sondas utilizadas. Algunas de ellas se citan a continuación.

- . Sondas de secuencias únicas o copia simple: se utilizan para la detección de secuencias específicas en regiones subteloméricas y otros sitios útiles para la identificación de alteraciones submicroscópicas, como por ejemplo, 15q11-q13.
- . Sondas centroméricas: se basa en la utilización de sondas a satélites que permiten la detección de secuencias altamente repetitivas localizadas en regiones pericentroméricas. Una desventaja de estas sondas es la hibridación cruzada entre regiones homólogas de diferentes cromosomas, por ejemplo entre los cromosomas 13/21 y 14/22.
- . Sondas de secuencias para regiones específicas: se basa en la detección de secuencias altamente repetitivas localizadas en determinadas regiones de los cromosomas, como por ejemplo, la región Yq12.
- . Sondas para el pintado de cromosomas completos (WCP): detectan secuencias de eucromatina en determinados brazos o cromosomas completos.

## **MÉTODOS DE HIBRIDACIÓN *in situ***

La metodología general utilizada para la FISH sobre ADN descrita por Pinkel y cols., en 1986, se basa en los principios siguientes.

- . Preparación de láminas y extensiones.
- . Pretratamiento del material extendido.

- . Desnaturalización del ADN.
- . Hibridación.
- . Lavados post hibridación.
- . Marca de la sonda.
- . Observación al microscopio.

A continuación se describen los aspectos básicos esenciales de los protocolos de laboratorio, en relación con la hibridación in situ ADN - ADN. Para ello se requiere de preparaciones de células, cromosomas, o ambos, de óptima calidad.

*Preparación de láminas y extensiones:* se recomienda la limpieza de láminas portaobjetos con alcohol éter (1:1) y realizar fijación de las extensiones.

*Pretratamiento del material extendido:* Se utiliza la ARNasa para eliminar el ARN endógeno. El HCl permite la extracción de proteínas e hidrólisis parcial del ADN - blanco. Las proteasas provocan la digestión de la cubierta proteínica del ADN - blanco mejorando la accesibilidad de la sonda.

*Desnaturalización del ADN:* en caso de que se utilicen sondas de doble hélice es necesario realizar la desnaturalización del ADN - sonda y el ADN - blanco. La desnaturalización se realiza mediante pH extremadamente alcalino o por calor.

*Hibridación:* múltiples factores influyen sobre la hibridación. La velocidad de hibridación aumenta proporcionalmente con la concentración del ADN. Además, la cantidad de híbridos obtenidos será mayor cuanto más largo sea el tiempo de hibridación. Por otra parte, el dextrán sulfato es importante también porque al hidratarse facilita obtener una mayor concentración relativa de la sonda.

*Lavados post hibridación:* los lavados astringentes permiten eliminar el llamado "ruido de fondo" (HIS no específica) mediante la utilización de soluciones salinas poco concentradas a altas temperaturas.

*Marca:* se pueden realizar diferentes tipos de marcas mediante sistemas que utilizan principalmente la biotina ó digoxigenina. Las sondas de ADN marcadas con biotina pueden detectarse por la vía de la avidina la cual es una glicoproteína unida a la fluoresceína-isotiocianato (FITC) que es la sustancia fluorescente. La avidina tiene 4 sitios de unión con la biotina, lo cual resulta en un complejo muy estable. Para aumentar la señal fluorescente se puede realizar la amplificación con un anticuerpo anti-avidina (obtenido de cabras) el que posteriormente se pone en contacto nuevamente con avidina marcada con FITC.

*Observación al microscopio:* la observación al microscopio requiere de una fuente de luz ultravioleta y de un sistema de filtros adecuados de acuerdo con las longitudes de onda de las señales fluorescentes. Además, se utilizan programas automatizados, los cuales permiten realizar el análisis utilizando diferentes colores simultáneamente (FISH multicolor), así como también mediante análisis de la intensidad de las señales fluorescentes (Figuras 7.1 y 7.2).

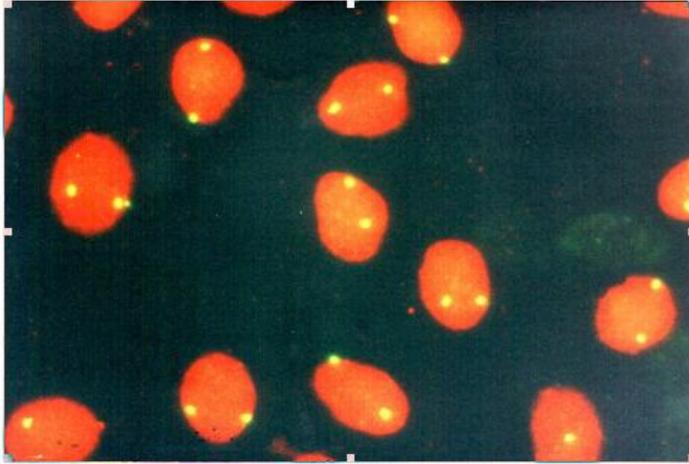


Figura 7.1. FISH sobre células en interfase utilizando sonda centromérica para cromosomas X (Oncor). Obsérvese el marcaje de 2 cromosomas X.

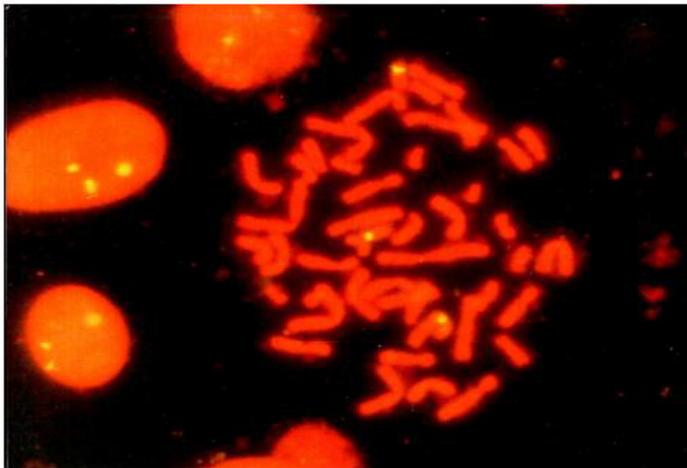


Figura 7.2. FISH sobre células en interfase y cromosomas utilizando sonda centromérica para cromosomas 18 (Oncor) en un caso de trisomía 18.

Otros procedimientos, tales como el cariotipo espectral (SKY), la microdissección y pintado reverso de cromosomas, la hibridación genómica comparativa (CGH) se desarrollan actualmente principalmente en el campo de las investigaciones

Las técnicas de citogenética molecular se han aplicado a los estudios de cartografía genética y de expresión génica.

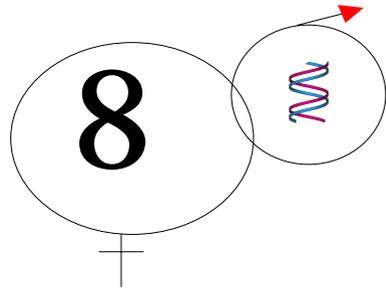
## **RESUMEN**

Más que sintetizar los aspectos tratados mencionar la utilidad de la tecnología de citogenética molecular en el diagnóstico de las enfermedades genéticas:

- Análisis de células interfásicas. Permite realizar marcas fluorescentes en células interfásicas sin necesidad de realizar cultivos para la obtención de cromosomas lo cual posibilita realizar diagnósticos prenatales rápidos de las aneuploidías más comunes.
- Diagnóstico de alteraciones submicroscópicas tales como los síndromes de microdeleciones o por defectos de genes contiguos.
- Análisis de marcadores cromosómicos de origen desconocido. Los estudios moleculares resultan particularmente útiles para precisar el origen y composición del material genético en estos casos.
- Reordenamientos complejos en casos de células tumorales y hemopatías malignas. Cuando se presentan translocaciones complejas que involucran a más de dos cromosomas pueden detectarse con precisión los sitios de roturas e intercambios del material genético.

# MUTACIONES QUE AFECTAN A LOS CROMOSOMAS HUMANOS

Araceli Lantigua Cruz



*Una vez perfilados los detalles técnicos para el estudio de los cromosomas humanos, los investigadores de la genética de la época, planearon la aplicación de estas técnicas a ciertos síndromes cuya similitud entre los individuos afectados sugería un defecto genético común.*

*El primer defecto cromosómico detectado como causa genética de un síndrome se realizó por Lejeune, en personas que presentaban las características clínicas delineadas en el año 1866 por Lamgdon Down..*

*Esto ocurrió en el año 1959, dos años después que se reconoció que el número de cromosomas humanos era de 46 y no de 48 como al inicio se había postulado.*

*Una vez más la investigación de una desviación del desarrollo da paso a un nuevo conocimiento y desencadena el inicio de una nueva era que marca la relación entre la Genética Médica y el nacimiento de la Genética Clínica.*

*En ese mismo año se detectan los cariotipos 47,XXY y 45,X como causa de los síndromes Klinefelter y Turner respectivamente. Le siguieron en orden el descubrimiento de la trisomía D hoy reconocida como 13, en el año 1960, el primer defecto estructural fue identificado también por Lejeune en el año 1963, en niños que presentaban el síndrome del "maullido del gato". Otros defectos cromosómicos fueron descubiertos entre 1964 y 1965. De 1968 a 1970 se introducen las técnicas de bandas y con éstas, la posibilidad de la clasificación inequívoca de todos los cromosomas humanos comenzando una década que amplió el descubrimiento de nuevos defectos cromosómicos y nuevos enfoques de mutaciones que pueden ser reconocidas al nivel del nuevo campo de la citogenética.*

*La tecnología actual ha logrado avances sorprendentes en el estudio de los cromosomas humanos. La citogenética por si misma o ampliada con técnicas moleculares permiten la detección de defectos cada vez más pequeños que disminuyen la distancia del desconocimiento de defectos genómicos que median entre las mutaciones monogénicas y las cromosómicas y cuyo conocimiento puede expli-*

*car la etiología de otras desviaciones genéticas del desarrollo y profundizar en las funciones aún desconocidas del genoma humano.*

*En este capítulo vamos a estudiar los conocimientos originados a partir de la aplicación de los avances de la tecnología citogenética en la comprensión de defectos genéticos cromosómicos y los mecanismos que los originan.*

## **ANORMALIDADES O DEFECTOS CROMOSÓMICOS**

A las anomalías o defectos cromosómicos, se les denomina aberraciones cromosómicas, se clasifican en dos grandes grupos: numéricas y estructurales.

Entre las primeras se incluyen aquellas en las cuales el componente cromosómico normal de 46 está alterado, por exceso o por defecto. Estas alteraciones numéricas reciben el nombre de poliploidías y aneuploidías.

En el segundo grupo se afecta solamente la estructura de uno o varios cromosomas y reciben el nombre de aberraciones estructurales.

### **Aberraciones cromosómicas de número**

Este tipo de aberraciones cromosómicas se clasifica atendiendo al número de cromosomas involucrados y a que sean o no un múltiplo exacto del número haploide de cromosomas en: Poliploidías y aneuploidías.

Las poliploidías son defectos que involucran un conjunto o juego cromosómico haploide extra a los dos juegos haploides que se esperan y que originan el número diploide del cariotipo normal, por lo que se caracterizan por presentar un múltiplo exacto del número haploide de cromosomas superior a dos. Se expresan como  $3n$ ,  $4n$ , etc., y se les nombra triploidías, tetraploidías, pentasomías, etc.

Las poliploidías no solo suelen ser frecuentes en especies como los vegetales, sino que se logran artificialmente con el propósito de investigaciones o para obtener variantes más apetitosas y voluminosas.

En el humano son eventos poco viables, pero ocasionalmente se reportan triploidías ( $3n$ ) o tetraploidías ( $4n$ ). Las triploidías probablemente son el resultado de una anomalía que ocasiona una falla en la maduración tanto de la ovogénesis como de la espermatogénesis. La expresión fenotípica de las triploidías se han descrito en fetos y depende del origen del gameto inmaduro. Si el doble set cromosómico es de origen materno hay poco desarrollo de la placenta y el feto con poca nutrición, es abortado; si el doble conjunto

cromosómico es aportado por un espermatozoides inmaduro entonces se observa una placenta muy desarrollada que se clasifica como mola idatiforme y poco desarrollo o ausencia de las estructuras originadas por el embrioblasto.

Las tetraploidías que se han reportado, han sido siempre 92, XXXX o 92, XXYY sugiriendo que son el resultado de una anomalía en el "cleavage", segmentación o división del citoplasma, a partir de la primera división cigótica.

## **Las aneuploidías como eventos precigóticos**

Las aneuploidías se deben a una falla en la segregación de los cromosomas en los gametos durante la división meiótica, o también en la primera división mitótica del cigoto.

Como evento precigótico se considera a la meiosis, proceso donde el número de cromosomas de la célula germinal (diploide) se reduce a la mitad (haploide), de forma que durante la fecundación se restituye el número diploide característico de la especie.

Cada gameto debe tener 23 cromosomas pero si un gameto con 22 o más de 23 cromosomas participa en la fecundación con un gameto normal se originará un cigoto con 45, 47 o más cromosomas. Este desbalance se expresará en fenotipos que van desde una falla reproductiva hasta anomalías del sistema nervioso central como el retraso mental que puede tener de diversas gradaciones como se verá más adelante. Por supuesto que se presentan situaciones intermedias constituidas por síndromes malformativos múltiples con gradaciones en su severidad, que estarán relacionados, no solo con el defecto o el exceso de ADN, sino también con el cromosoma involucrado.

A diferencia de las poliploidías, las aneuploidías se producen debido a fallas de segregación de un par cromosómico específico, durante la anafase de cualquiera de las dos divisiones meióticas o en la primera o las primeras divisiones mitóticas del cigoto. Este defecto de segregación se conoce con el nombre de no disyunción y da lugar a un múltiplo no exacto del número haploide de cromosomas.

Las figuras 8.1 y 8.2, exponen un esquema que permite reflexionar sobre las diferencias genéticas que tienen cuando la no disyunción ocurre en la primera o en la segunda división meiótica.

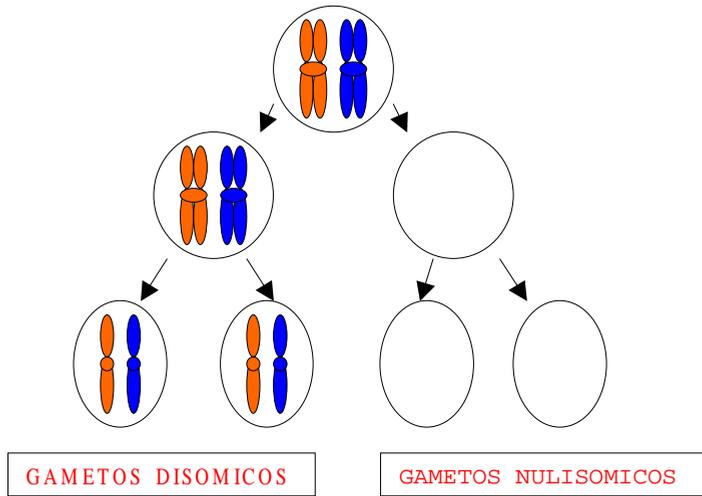


Figura 8.1 Esquema de la no disyunción en la primera división meiótica. Obsérvese que los gametos diploides para el par cromosómico son heterodisómicos con relación a la información genética contenida en la pareja cromosómica involucrada.

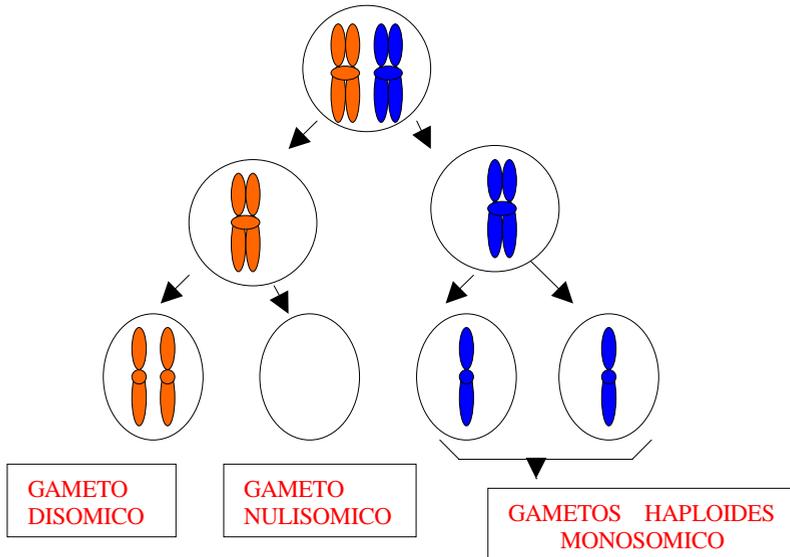


Figura 8.2 Esquema de la no disyunción en la segunda división meiótica. Observe que la información genética del gameto disómico es igual o isodisómica.

La no disyunción puede involucrar a cromosomas autosómicos como las trisomías 21, 13, 18 y a cromosomas sexuales como el síndrome Klinefelter que presenta dos cromosomas X y un cromosoma Y (trisomía XXY) o el síndrome Turner que presenta una mososomía del cromosoma X.

Uno de los aspectos más interesantes es poder conocer en qué momento de la división celular ocurre la no disyunción. En el síndrome Down se ha podido dilucidar, utilizando estudios moleculares que ocurre con más frecuencia en la mujer que en el hombre, que este fenómeno se incrementa en los gametos femeninos en dependencia de la edad y que ocurre preferentemente en la meiosis I.

Desde el punto de vista genético cuando la no disyunción ocurre en la meiosis I, el gameto disómico resultante tiene información heterodisómica, porque en esta división celular se separan los cromosomas homólogos que tienen una información genética procedentes a su vez de los gametos parentales.

La no disyunción en la segunda división meiótica es el resultado de la separación de las cromátidas de un cromosoma específico que van juntas al mismo gameto por lo que recibe el nombre de isodisomía, ya que la información genética contenida es muy parecida si no totalmente igual, lo que depende de la magnitud o tamaño de los segmentos de cromátidas intercambiados entre los cromosomas homólogos de la profase de la meiosis I (Figura 8.3).

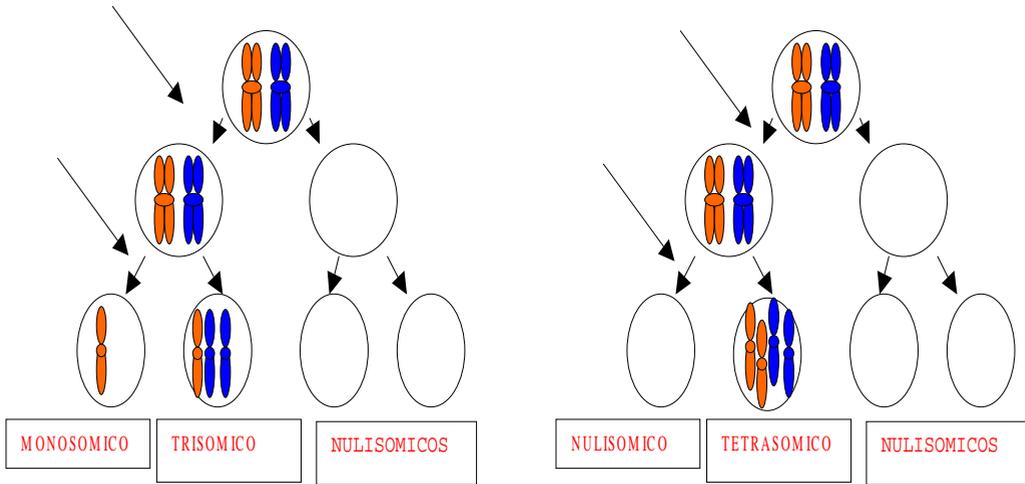


Figura 8. 3 Doble no disyunción en la formación de los gametos.

La fecundación de gametos disómicos o nulisómicos por gametos haploides normales origina entonces las trisomías y monosomías. Las tetrasomías y pentasomías pueden haber sido producidas por no disyunción en primera y segunda meiosis de la misma gametogénesis, originando gametos trisómicos o tetrasómicos que al ser fecundados por

un gameto haploide normal, dan lugar a tetrasomías o pentasomías, por tratarse del resultado de una fecundación de dos gametos que hayan sufrido, el fenómeno de no disyunción para el mismo par cromosómico. La no disyunción también puede ocurrir afectando a más de un par cromosómico como se demuestra en los casos reportados de trisomía 21 y trisomía XXY simultáneamente.

### Las aneuploidías como eventos postcigóticos

La no disyunción en la primera división mitótica postcigótica, origina, al menos teóricamente, dos líneas celulares (mosaicismo). En estos casos, al realizar el análisis cromosómico, se pueden observar dos o más cariotipos, con diferente número de cromosomas, afectando al mismo par (Figura 8.4).

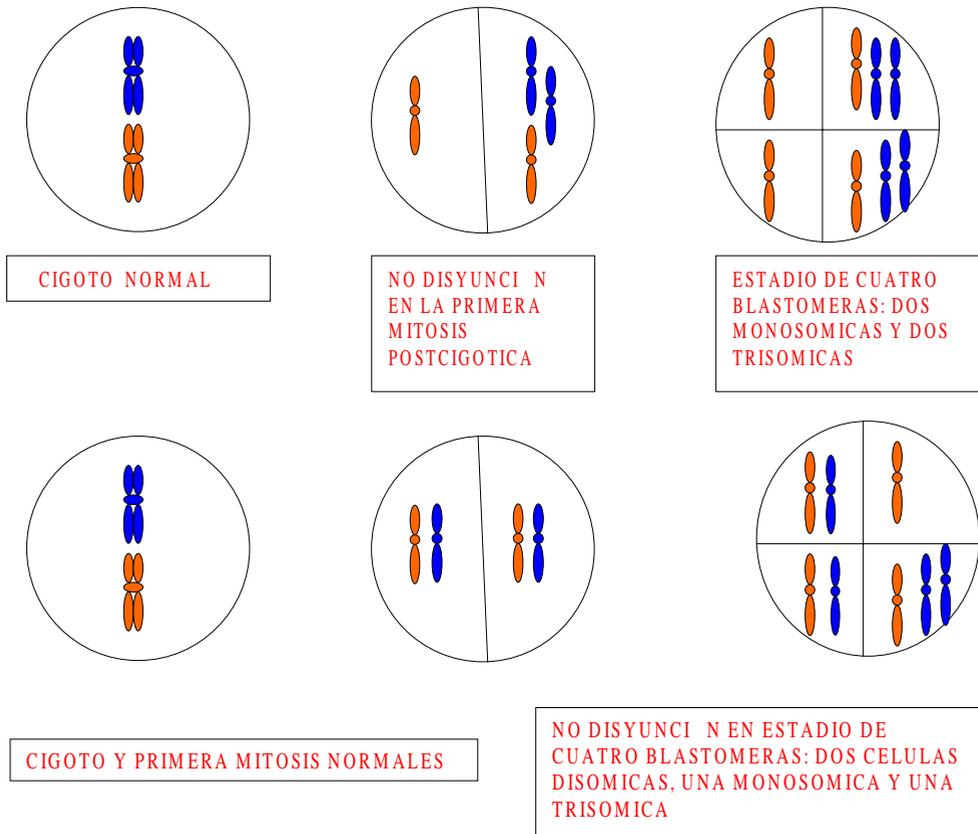


Figura 8. 4 No disyunción en las mitosis del cigoto.

Cuando la no disyunción ocurre en la primera división mitótica se obtienen dos líneas celulares una mosómica y otra trisómica. Sin embargo, las células con monosomías de cromosomas autosómicos no son viables por lo que, en estos casos desaparece la línea celular monosómica quedando finalmente solamente la línea celular trisómica, pero cuando la no disyunción involucra al cromosoma X entonces quedan dos líneas celulares 45,X / 47,XXX.

Cuando la no disyunción ocurre en la tercera división mitótica y están involucrados cromosomas autosómicos, quedarán dos líneas celulares por ejemplo 46, XX / 47, XX, +21 ya que las células con monosomía 21 no son viables.

Si el cromosoma involucrado es el X entonces se pueden observar tres líneas celulares 45, X / 46, XX / 47, XXX.

### **La anafase retardada**

Se trata de un defecto de la anafase, cuando un cromosoma queda retrasado y se pierde una de las dos células resultantes. Siempre origina pérdida de un cromosoma o monosomías. Si ocurre durante las primeras divisiones mitóticas de un cigoto cromosómicamente 46, XY y el cromosoma retardado en anafase fuera el Y, este mecanismo daría lugar a dos líneas celulares una 45, X y la otra 46, XY.

La repercusión fenotípica de los mosaicismos celulares como eventos postcigóticos depende del momento de la segmentación donde esta ocurra y por tanto del número de células afectadas que queden formando estructuras trofoblásticas o embrioblástica y en estas últimas, el destino de diferenciación de ellas.

## **ABERRACIONES CROMOSÓMICAS DE ESTRUCTURA**

Las aberraciones cromosómicas estructurales se caracterizan porque siempre existen puntos de ruptura del ADN que determinan rearrreglos lo suficientemente importantes para ser observados por las técnicas citogenéticas. Estas mutaciones pueden ser balanceadas, o sea un individuo fenotípicamente normal que presenta anomalías cromosómicas cuya manifestación clínica prácticamente se limita a fallas reproductivas (abortos o hijos con múltiples defectos fenotípicos a veces incompatibles con la vida), que ha heredado del padre, con las aberraciones cromosómicas balanceadas algunos de los cromosomas afectados por el rearrreglo del material genético. Las aberraciones cromosómicas estructurales más importantes son no balanceadas, es decir, siempre el individuo afectado expresa en su fenotipo alguna anomalía cuya severidad depende del cromosoma involucrado y la magnitud del defecto, en este grupo se encuentran todas las aberraciones cromosómicas de número ya referidas .

Las aberraciones cromosómicas estructurales se clasifican en:

*Deleciones, pérdida de un segmento del cromosoma.* Las deleciones pueden ser terminales, intersticiales, de acuerdo con el número de puntos de rupturas, uno en el caso de las terminales y dos en las intersticiales, perdiéndose el segmento roto. También las deleciones producen cromosomas en anillo, cuando se presentan doble deleción terminal y el ADN se repara perdiéndose los extremos rotos. Este tipo de defecto genera en el cariotipo, una monosomía parcial de los brazos cortos o largos del cromosoma involucrado del cual puede perderse todo el telómero, solamente un pequeño fragmento de éste o puede perderse un segmento subtelo mérico mayor (Figura 8.5).

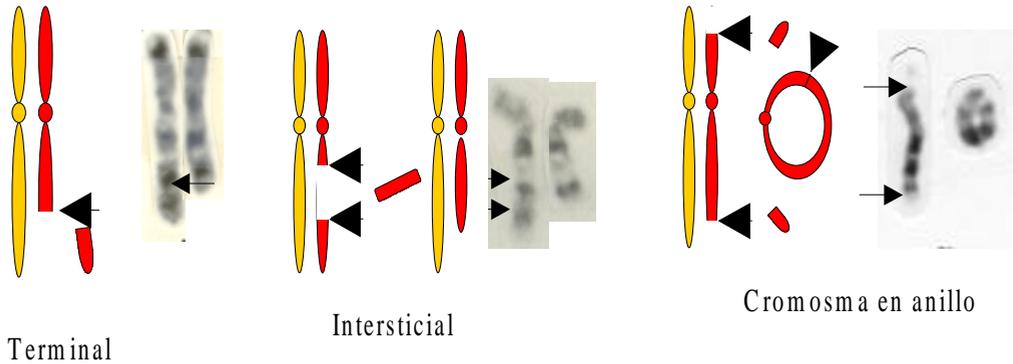


Figura 8.5 Tipos de deleciones

*Duplicaciones,* como su nombre indica hay una duplicación de segmentos cromosómicos. Un mecanismo puede ser el entrecruzamiento desigual entre cromosomas homólogos que tiene lugar en la profase de la primera división meiótica y que puede generar también deleciones intersticiales. Este tipo de defecto genera en el cariotipo trisomías parciales (Figura 8.6).

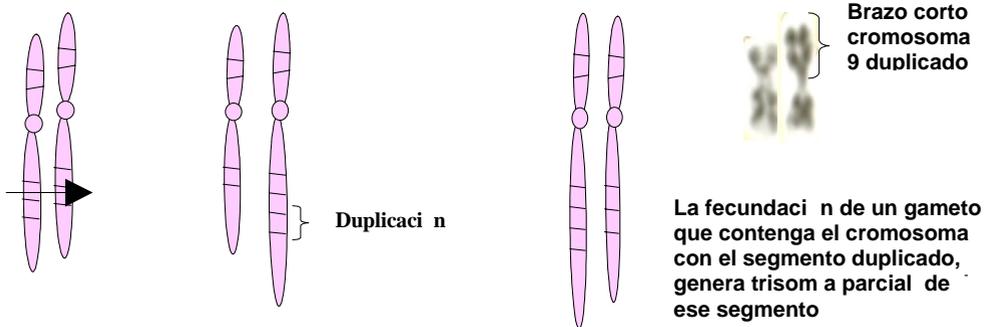


Figura 8.6 Mecanismo de producción de duplicaciones y fotografía de duplicación de brazos cortos del cromosoma 9.

*Isocromosomas, anomalías en la separación de las cromátidas hermanas.*

Es un defecto que ocurre durante la separación de cromátidas hermanas en la meiosis II, generando cromosomas anormales que contienen doble la información de los brazos involucrados. Este defecto se ha observado en el cromosoma X. La mujer que porta este tipo de defecto puede presentar trisomía parcial de este brazo y monosomía parcial del brazo corto, cuando el isocromosoma es de brazos largos (Figura 8.7).

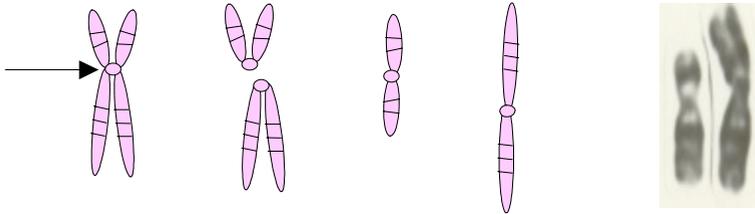


Figura 8.7 Esquema de formación de isocromosoma y fotografía de isocromosoma de brazos largos del cromosoma X.

Otro mecanismo de formación del isocromosoma sería el intercambio que involucra el extremo proximal al centrómero entre cromátidas hermanas de cromosomas homólogos generando isocromosomas isodicéntricos en los cuales el centrómero doble no se detecta citogenéticamente por estar muy unidos.

*Translocaciones, intercambio de ADN entre dos cromosomas.* Este tipo de defecto ocurre cuando hay ruptura de al menos dos cromosomas y la reparación se produce uniendo los segmentos rotos de un cromosoma en el otro cromosoma roto. Los cromosomas involucrados suelen ser no homólogos. Hay dos tipos de translocaciones: Las recíprocas que involucran a cualquier cromosoma (Figura 8.8) y las por fusión centromérica, que consiste en la ruptura al nivel de los centrómeros y reparación fusionando centrómeros o compartiendo uno (Figura 8.9). Estas últimas también reciben el nombre de Robertsonianas y ocurren entre cromosomas acrocéntricos. Un individuo portador de este defecto presenta teóricamente todos sus genes. Sus manifestaciones no pueden ser detectadas por el simple examen físico, a menos que en los puntos de ruptura se pierda algún segmento o incluso algunas bases importantes en la estructura de algunos genes que puedan expresarse en el fenotipo del individuo portador. Sin embargo, cuando el individuo portador de este tipo de rearrreglo llega a su edad reproductora puede presentar fallas reproductivas. Esto se debe a que en el fenómeno de apareamiento de los cromosomas homólogos en la profase de la meiosis I, los cromosomas involucrados forman tétradas en las cuales contactan los segmentos homólogos pero que en la metafase I se separan de diferentes formas, de modo tal que generan con alta frecuencia gametos con aberraciones cromosómicas no balanceadas. Esto explica que los individuos afectados tengan infertilidad, abortos espontáneos, o hijos con múltiples malformaciones. También como se observa en la figura 8.10 los individuos con este tipo de aberraciones cromosómicas balanceadas pueden tener gametos normales o portadores balanceados de la translocación y por eso un defecto de este tipo tiene un carácter hereditario.

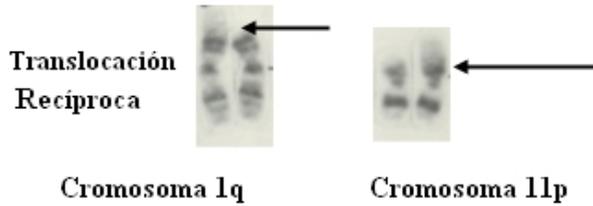


Figura 8.8 Translocación recíproca entre brazos cortos del cromosoma 1 y brazos cortos del cromosoma 11.

PROBABILIDADES DE SEPARACIÓN DE LOS CROMOSOMAS DE LA TETRADA EN LA FORMACIÓN DE LOS GAMETOS..

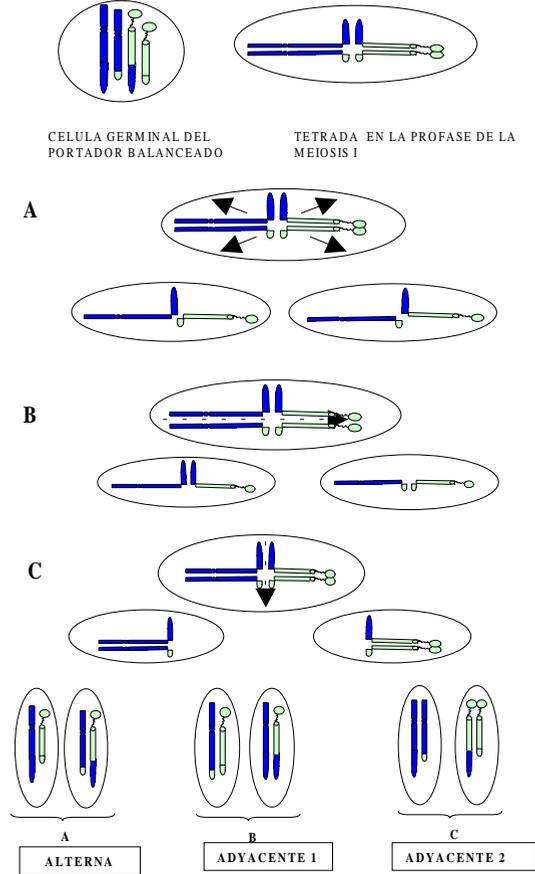


Figura 8.9 Seis posibilidades de separación de los cromosomas involucrados en la translocación, de ellos, por cada meiosis solo se obtendrán cuatro gametos y las alternativas al ser fecundados por gametos normales, serán: A (50% cariotipo normal y 50% portador balanceado de la translocación igual que el progenitor; B: 50% trisomía parcial 13q y monosomía parcial 4q y 50% trisomía parcial 4q y monosomía parcial 13q; C: 50% trisomía casi completa del 4 y monosomía casi completa del 13 y 50% trisomía casi completa del 13 y monosomía casi completa del cromosoma 4.

Translocación por fusión centromérica

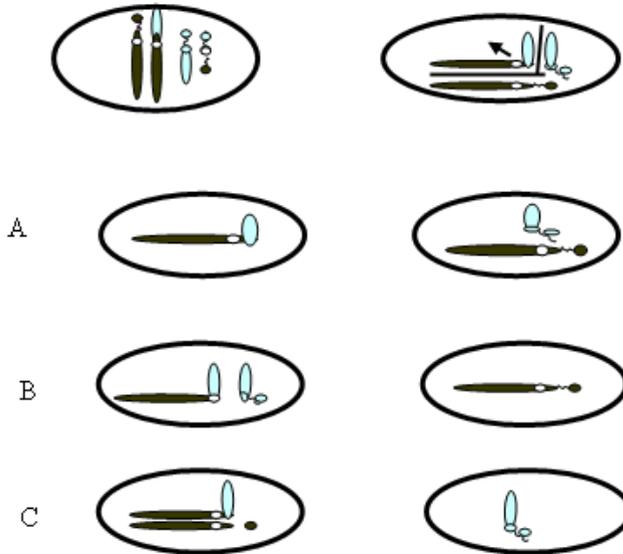
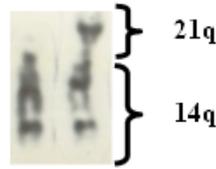


Figura 8. 10 A, B y C son los gametos probables, la fecundación por gametos normales de los gametos obtenidos en A, origina individuos con cariotipos normales o portadores de translocación balanceada, en B generan trisomías por translocación del cromosoma 21, y monosomías del cromosoma 21, en C se generaran trisomías 14 y las monosomías 21 y 14. Las trisomías 14, y las monosomías 14 y 21 son anomalías de número no viables, por lo que de seis posibles tipos de gametos solo tres son viables: el portador balanceado, el normal y trisomía 21 por translocación. Esto significa que un portador balanceado de translocación 14; 21, tiene un tercio de probabilidad de tener un hijo síndrome Down.

Las inversiones consisten en rupturas y reparaciones invertidas del segmento cromosómico involucrado. Se clasifican en dos grupos: Paracéntricas (si no incluyen al centrómero) y pericéntricas (si lo incluyen). Los individuos portadores de estos defectos tampoco presentan pérdida aparente de material genético, pero su gametogénesis será anormal pues en el apareamiento de los cromosomas homólogos el contacto entre las secuencias de bases requiere acomodar el segmento invertido dando lugar a lo que se denomina bucle de inversión.

Las inversiones pericéntricas al configurar la sinapsis entre cromosomas homólogos y ocurrir entrecruzamiento entre sus cromátidas incluidas en el bucle de inversión, generan cromosomas recombinantes que se caracterizan por duplicaciones y deleciones de segmentos cromosómicos con lo que se forman cuatro posibles gametos: normal, portador de la inversión, y gametos con los cromosomas recombinantes anormales que al ser fecundados pueden originar cigotos trisómicos o monosómicos para estos fragmentos (Figura 8.11).

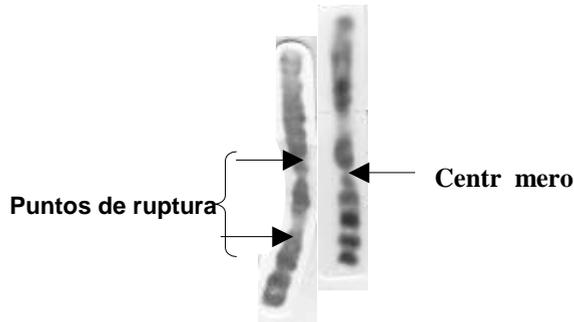


Figura 8.11 Inversión pericéntrica del cromosoma 1

De igual forma ocurre para las inversiones paracéntricas. Pero en estos casos los cromosomas recombinantes serán acéntricos o dicéntricos y los gametos resultantes generalmente al ser fecundados no llegan a ser viables de manera que los individuos portadores de esta inversión tienen historia de infertilidad o abortos más que de hijos malformados múltiples.

Podemos entonces resumir que los tres primeros tipos de aberraciones cromosómicas estructurales, se caracterizan por ser no balanceadas, mientras que las dos últimas generalmente se presentan como balanceadas.

El término balanceado significa desde el punto de vista genético, que a pesar de la existencia del defecto genómico, el individuo se comporta fenotípicamente sano, sus defectos fenotípicos generalmente se expresan en la etapa reproductiva, presentándose en ellos fallas que van, desde infertilidad y abortos espontáneos hasta malformados múltiples y muerte neonatal.

Ahora bien, cuando la anomalía del cariotipo es no balanceada, las manifestaciones fenotípicas dependen, como ya nos hemos referido, del tipo de anomalía cromosómica, magnitud del defecto de la mutación y de los genes afectados en el cromosoma involucrado. Por ejemplo, cuando se trata de cromosomas autosómicos la manifestación clínica más frecuente y notable es el retraso mental, pero además pueden existir discapacidades visuales, auditivas o motoras. Cuando participan los cromosomas sexuales el fenotipo se correlaciona con el número de cromosomas X o Y involucrados y con la magnitud del defecto estructural como se tratará más adelante.

*¿Cuáles son las aberraciones cromosómicas no balanceadas?*

Todas las aberraciones cromosómicas de número y las aberraciones cromosómicas estructurales siguientes: deleciones, duplicaciones e isocromosomas. Es decir toda aberraciones cromosómicas que afecte al genoma por exceso o por defecto del complemento cromosómico característico del genoma Humano.

*¿Cuáles son las aberraciones cromosómicas balanceadas?*

Las inversiones y las translocaciones. Es decir los defectos que implican anomalías de la estructura del cromosoma, detectables a la observación microscópica, sin que falte o sobre en apariencia, ningún segmento significativo de ADN.

## **Inversiones y su repercusión en la gametogénesis**

Las inversiones, son defectos estructurales cuando el cromosoma afectado se rompe y repara según los mecanismos moleculares de reparación del ADN, pero invirtiendo la orientación del segmento involucrado. Cuando en este fenómeno de ruptura y reparación no se han perdido segmentos de ADN, se considera que el genoma está balanceado. Al nivel fenotípico del individuo no se aprecian anomalías que pudieran relacionarse con el rearrreglo cromosómico en cuestión. Los efectos de este tipo de aberraciones cromosómicas sólo repercuten, durante su vida, en la producción de sus gametos, que presentan desbalances genómicos según sea la inversión paracéntrica o pericéntrica.

En la historia reproductiva del individuo se estima, cuando se hacen análisis de segregación teórico, una alta probabilidad de gametos con anomalías en su genoma haploide, cuyo efecto se traduce como: infertilidad y abortos espontáneos, entre los defectos más frecuentes, y la probabilidad de lograr descendencia cromosómicamente normal dependerá del tipo de inversión y de la extensión del segmento involucrado.

Puede sospecharse que las inversiones son no balanceadas cuando en el proceso de ruptura y reparación se produce pérdida de algún segmento de ADN. En estos casos el fenotipo del individuo puede presentar numerosas anomalías clínicas como corresponde a estos tipos no balanceados de defectos.

## **Las translocaciones**

Las translocaciones, siguiendo el pensamiento lógico anterior, son el producto del intercambio entre dos cromosomas y serán aberraciones cromosómicas balanceadas siempre y cuando no se haya perdido ningún segmento de ADN en el proceso de ruptura y reparación entre los cromosomas involucrados.

Los cromosomas que intercambian segmentos y que están incluidos en el concepto de translocación, no son homólogos, es decir son de pares diferentes.

La repercusión de estos defectos está en el análisis de la segregación de los cromosomas afectados en la meiosis. ( Ver figuras 8.8 y 8.9).

Aunque el término de translocación no recíproca no es adecuado, existe un tipo de defecto entre cromosomas no homólogos en el cual se producen tres puntos de ruptura, dos en uno de ellos y uno solo en el otro, de modo tal que al ocurrir la reparación, el segmento intersticial generado por los dos puntos de ruptura, se repara o inserta en el cromosoma donde ocurrió una sola ruptura. Al final de la reparación, en el cromosoma de los dos puntos de ruptura, ahora falta un segmento que se encuentra insertado en el cromosoma donde ocurrió uno solo. A este defecto cromosómico se le conoce como inserción y se acerca a la definición de translocación no recíproca. En resumen, un cromosoma pierde un segmento sin recibir nada del cromosoma no homólogo en el que este segmento se insertó. Este es también un tipo de rearrreglo, entre cromosomas no homólogos, de tipo balanceado, si en el proceso de ruptura y reparación no se ha perdido ningún fragmento de ADN.

*¿Cuándo las translocaciones son no balanceadas?*

Al igual que en las inversiones, cuando en el proceso de ruptura y reparación se ha perdido ADN la translocación es no balanceada.

## **Gametogénesis en translocaciones**

Cuando esto ocurre los cromosomas homólogos no afectados, y los afectados involucrados en la translocación unen sus segmentos homólogos formando una tétrada en la profase/metafase de la meiosis I. (Ver figuras 8.8 y 8.9).

Durante la anafase I al separarse la tétrada puede dar lugar a una segregación denominada alterna en la cual los dos cromosomas no homólogos normales migran hacia un polo celular formando un gameto normal, mientras que los dos cromosomas no homólogos con segmentos translocados lo hacen hacia el otro polo celular formando un gameto portador de translocación balanceado. En este caso, la translocación balanceada puede transmitirse de generación en generación.

Existen otras alternativas entre las que se encuentran las denominadas adyacente 1 y adyacente 2 que siempre originan gametos con genoma haploide no balanceado, debido a la presencia de uno de los cromosomas involucrados en la translocación, dando lugar a duplicaciones o deleciones del cromosoma afectado, y cuando se produce la fecundación con un gameto no afectado, el genoma del cigoto resultante presentara trisomías o monosomías parciales. Cuando esto ocurre, se le denomina al cromosoma translocado, segregado al gameto en cuestión, derivativo (der), materno (mat) o paterno (pat), según sea la procedencia parental del cromosoma translocado.

Este esquema es común para las translocaciones balanceadas ya sean recíprocas o por fusión centromérica. En estos casos siempre hay probabilidad de segregación alterna

y por tanto estos individuos pueden tener hijos sanos con cariotipos normales o portadores balanceados como su progenitor así como hijos con AC no balanceados, o historia de infertilidad, abortos espontáneos, hijos con malformaciones múltiples que pueden fallecer precozmente cuando el desbalance es tal que no es viable, o vivir presentando los defectos fenotípicos a los que haremos referencia más adelante.

Lo hasta aquí expuesto explica por qué, en algunas familias hay más de una persona afectada con igual defecto del cariotipo y antecedentes de infertilidad, de abortos espontáneos del primer trimestre del embarazo, muertes fetales, muertes neonatales, como parte de la amplia variabilidad de expresión de los múltiples desbalances cromosómicos que podrían ocurrir en el cariotipo humano.

El intercambio de material cromosómico, puede ocurrir también entre cromosomas homólogos como resultado de un entrecruzamiento desigual o por fusión centromérica entre una pareja de homólogos acrocéntricos, de ahí que algunos autores se refieran en el primer caso a translocaciones heterólogas y en el segundo a translocaciones homólogas. Las denominadas translocaciones Robertsonianas o por fusión centromérica entre cromosomas acrocéntricos homólogos, ocurren muchas veces debido a inestabilidades centroméricas y realmente suelen tratarse de isocromosomas 13/13; 14/14; 21/21 solo por citar los reportados en la literatura. Cuando esto ocurre la información genética de ambos cromosomas es prácticamente igual y procede de un solo progenitor por lo que se pueden interpretar como disomías uniparentales, más que verdaderas translocaciones. Teóricamente un portador de un rearrreglo entre cromosomas homólogos por los mecanismos mencionados, suelen presentar algunas manifestaciones fenotípicas y severas anomalías de segregación al producir gametos. En general son fenómenos citogenéticos poco frecuentes.

## **EL FENOTIPO COMO EXPRESIÓN DE ABERRACIONES CROMOSÓMICAS NO BALANCEADAS**

Las aberraciones cromosómicas se presentan con una frecuencia de 0.5% nacidos vivos pero al propio tiempo se han observado en 60% en abortos espontáneos. Actualmente, debido a las posibilidades que ofrecen las técnicas de bandas y el estudio de cromosomas prometáfásicos y profásicos ya suman como mínimo tres aberraciones de número o estructurales por cada par cromosómico.

En algunos pares cromosómicos se reportan más tipos de aberraciones que otros y esto se debe fundamentalmente a las posibilidades de viabilidad de los cigotos afectados. Los cromosomas que tienen hasta el momento un mayor número de aberraciones cromosómicas viables reportadas, son los cromosomas sexuales X y Y.

Las manifestaciones clínicas y el fenotipo de las personas afectadas tienen, para cada aberración y para cada par cromosómico, características específicas. Este fenotipo se ha

podido caracterizar bien, en las aberraciones cromosómicas más frecuentes, como en el síndrome Down, sin embargo, aun en las aberraciones cromosómicas que involucran a los cromosomas autosómicos, y que se observan con menor frecuencia, se ha podido hacer un análisis de sus manifestaciones fenotípicas que a su vez, ha permitido caracterizar aspectos que les son comunes y cuyo conocimiento puede alertar sobre la sospecha de esta etiología genética.

El conocimiento de los elementos clínicos comunes, constituye un instrumento valioso para cualquier Médico Especialista y sobre todo para el Médico General Integral en su tarea de interconsulta con el especialista en Genética Clínica.

## **Expresión de las aberraciones cromosómicas autosómicas no balanceadas**

Estos criterios pueden ser resumidos como:

- . Anormalidades anatómicas que varían de acuerdo con el cromosoma involucrado y la magnitud del segmento involucrado, pudiendo tratarse de defectos congénitos, debido a anormalidades de los genes del desarrollo, como veremos en el Capítulo 17, y de pequeños defectos de cráneo, cara, manos, pies y genitales (regiones acrales del cuerpo) que generalmente se producen por crecimientos desproporcionados de ellas durante el desarrollo embriofetal.
- . Anormalidades del crecimiento y del desarrollo que pueden estar presentes al nacimiento o que comienzan a observarse en etapas postnatales.
- . Anormalidades del funcionamiento del sistema nervioso central, que dan lugar a discapacidades mentales variables, que incluyen desde trastornos del aprendizaje hasta retraso mental o defectos conductuales.

La variabilidad y magnitud del fragmento o del cromosoma afectado, determina que todos los criterios no tengan que estar obligatoriamente presentes, pero los más consistentes lo constituyen el efecto en el sistema nervioso y en especial, la deficiencia mental y las anormalidades anatómicas.

## **Anormalidades de estructuras anatómicas por defecto del desbalance genómico en la morfogénesis**

Las anormalidades de las estructuras anatómicas pueden presentarse como elementos dismórficos visibles desde el nacimiento y que se refieren a malformaciones de estructuras anatómicas mayores y menores atendiendo a la severidad en su repercusión funcional, estética o ambas o como malformaciones.

El estudio y análisis de estos defectos entran en el campo de la dismorfología, nombre que recibe la especialización médica de la observación y significado de estos defectos en el curso del desarrollo embrionario.

Como efecto del desbalance genómico por aberraciones cromosómicas no balanceadas, pueden observarse desde malformaciones extremadamente severas, hasta simples evidencias del desarrollo desproporcionado de una parte fetal y que por si mismo no llegan a ser evaluados como una verdadera malformación sino como un pequeño detalle fuera de lo común y al que se le suele denominar signo dismórfico. (Ver Capítulo 17). Las aberraciones cromosómicas más comunes se caracterizan por un conjunto de signos dismórficos persistentes que, por la frecuencia con que aparecen permiten sospechar el diagnóstico clínico con la simple observación del individuo. Tal es el caso del individuo síndrome Down en el que hay evidencia de correlación entre el examen físico y el cromosoma 21 involucrado.

Un conjunto dismórfico (patrón de signos dismórficos) está formado por una serie de hechos (signos dismórficos) que en ocasiones se consideran variantes normales de forma o de tamaño y no existe una delimitación entre un signo dismórfico y lo "normal". Al contrario de la malformación, el signo dismórfico no afecta adversamente la función de un órgano pero si tiene un efecto estético, sin embargo es difícil en ocasiones, separar un hecho dismórfico de una malformación, por ejemplo, una úvula bífida podría ser evaluado como un signo dismórfico, mientras que la hendidura del paladar blando como una malformación.

Un elemento dismórfico puede aparecer en cualquier parte del cuerpo pero las áreas más afectadas son: cara, genitales y extremidades distales (manos y pies).

Algunos ejemplos en cara incluye: tamaño, forma y posición poco común de las orejas, fisuras palpebrales, distancia inter-ocular anormalmente grande (hipertelorismo) o pequeña (hipotelorismo), pliegue que cubre el canto interno o ángulo interno del ojo (epicanto), desviaciones hacia arriba (mongololoides) o hacia abajo (antimongoloides) de las fisuras palpebrales, tamaño y forma de la nariz (nariz pequeña, ventanas nasales en anteversión, raiz nasal deprimida), mandíbula pequeña (micrognatia), grande (macrognatia) retraída (retrognatia), prominente (macrognatia) configuración del paladar muy alto (ojival). Perfil facial aplanado, cóncavo o convexo. Todos estos posibles signos dismórficos reflejan un crecimiento desproporcionado de una parte fetal durante la embriogénesis. En cada caso pueden existir variaciones de ellas durante el crecimiento postnatal y con frecuencia el adulto afectado no muestra el dismorfismo que tuvo de niño.

La edad ideal para la evaluación de un patrón dismórfico es entre la 3ra. y 4ta. semanas posteriores al nacimiento y antes de los dos años de edad, ya que en este período las deformidades por presiones internas y del parto, prácticamente han desaparecido, y el dismorfismo no ha disminuido en severidad.

En extremidades distales constituyen hechos dismórficos: la presencia aberrante de los pliegues de flexión palmar, la clinodactilia del 5to. dedo, la forma de la mano, las características de las uñas, la separación entre 1er. y 2do. dedos de los pies, la presencia

de surco profundo entre ellos, la prominencia del talón, pliegues, almohadillas; es decir características que no llegan a constituir una malformación severa, por ej. falta de falanges, ausencias de uñas, polidactilia, sindactilia pequeñas (unión de dedos) y otras malformaciones frecuentes de extremidades.

En los genitales, un pene pequeño, bolsas escrotales hipoplásicas, testículos pequeños o muy grandes, hipoplasia de labios mayores o menores, todas aquellas variantes que por si no constituyan una malformación.

En una aberración cromosómica son menos frecuentes las malformaciones congénitas aisladas y no tienen el mismo valor clínico que cuando se encuentran asociadas a un conjunto de tres o más signos dismórficos, por otra parte una combinación de varias malformaciones pueden ser la expresión más características de una aberración cromosómica, que la presencia de una malformación aislada.

Por ejemplo, un paladar hendido aislado no tiene el mismo valor para el diagnóstico de una trisomía 14q proximal que cuando está asociado con hipotelorismo, nariz prominente, labios finos y boca característica.

Las combinaciones de varias malformaciones son importantes para sospechar aberraciones cromosómicas específicas, por ejemplo: En la trisomía 18 además de un dismorfismo craneofacial con orejas faunescas, microrretrognatia, occipucio prominente, pies en mecedora (talón prominente) y marcado retraso del crecimiento, pueden estar presentes las siguientes malformaciones: fístula traqueoesofágica, aplasia radial, cardiopatías y malrotación intestinal.

A continuación relacionamos las malformaciones congénitas que asociadas a un patrón dismórfico, se observan con frecuencia en el fenotipo de aberraciones cromosómicas autosómicas.

- . Defectos congénitos del corazón y de los grandes vasos.
- . Paladar hendido, labio leporino o ambos.
- . Atresia esofágica, fístula traqueoesofágica, atresia anal, fístula anal.
- . Malrotación del intestino, mesentérica común, onfalocoele.
- . Malformaciones renales y del tracto urinario.
- . Ciertas malformaciones cerebrales, las más frecuentes: la holoprosencefalia y la agenesia del cuerpo calloso.
- . Ausencia o hipoplasia del radio y del pulgar.
- . Polidactilia post-axial y pre-axial de los pies.
- . Microftalmia, coloboma ocular.
- . Espina bífida (occipital o lumbar).
- . Genitales ambiguos, hipospadia.

Otras malformaciones son poco comunes en aberraciones cromosómicas, entre ellas:

- . Anencefalia.
- . Gastroquisis.
- . Extrofia de vejiga o cloaca.
- . Siringomelia.
- . Peromelia, amelia, facomelia, ectrodactilia.
- . Atresia del yeyuno o íleo..
- . Situs inverso total.
- . Artrogriposis congénita.
- . Defectos perineales o cubitales.

Como regla general los pacientes con severo retraso mental y del crecimiento intrauterino, presentan con mayor frecuencia malformaciones más severas y mueren más precozmente que pacientes con la misma aberración con mejor peso y tamaño al nacimiento.

Anormalidades esqueléticas que suelen presentarse en los individuos con aberraciones cromosómicas.

Generalmente las anomalías del esqueleto son disostosis o sea anomalías anatómicas selectivas a uno o varios huesos y no son tan específicas. Estas anomalías incluyen forma y número anormal de vértebras y costillas, forma anormal de la pelvis, epífisis cónica pseudo-epífisis, retraso en la maduración ósea y otras anomalías menores en metacarpianos, metatarsianos y falanges.

## **Efectos en el crecimiento y desarrollo**

Una característica común a muchas de las aberraciones cromosómicas autosómicas lo es la baja talla, esta puede evidenciarse durante la vida fetal por un crecimiento intrauterino retardado.

La baja talla puede evidenciarse después del nacimiento del niño afectado o sea en la vida postnatal. Al evaluar el crecimiento y desarrollo del niño, suele ocurrir que éste es mucho más lento y con frecuencia declina hasta valores inferiores al tercer percentil para su edad, aun cuando haya nacido con una longitud dentro de límites normales.

## **Efectos en el sistema nervioso**

Cada aberración cromosómica presenta características específicas de su desarrollo neurológico.

El desarrollo mental varía dentro de ciertos límites en los cuáles hay diferentes factores tales como:

- . El defecto cromosómico per se (desbalance cromosómico)
- . Los factores genéticos familiares, herencia multifactorial de la inteligencia como se verá en el capítulo 16.
- . Las influencias adversas intrauterinas y perinatales.
- . Las consecuencias de malformaciones cerebrales, sordera, ceguera, incapacidad motora y otros.

Por ejemplo la mayoría de los pacientes con mosaicos para la trisomía 8 son ligera o moderadamente retrasados, una minoría son inteligentes o severamente retrasados y en estos casos se ha observado asociación con agenesia del cuerpo calloso.

En sentido general el coeficiente de inteligencia (CI) varía alrededor de 50, algunos son profundamente retrasados cuando presentan malformaciones del sistema nervioso central como la holoprosencefalia, otros como el síndrome 4p-, presentan siempre severo retraso mental y epilepsia difícil de tratar.

El desarrollo del lenguaje generalmente está afectado. La coordinación motora no está tan dañada, las funciones intelectuales que requieren concentración y memoria, son pobres y la adaptación social con frecuencia es buena.

En ocasiones no son anomalías en el desarrollo anatómico de las estructuras cerebrales la causa del retraso mental sino la sobredosis de productos proteicos de uno o de varios genes específico o la deficiencia de otros las que determinan un neurodesarrollo característico.

La conducta presenta rasgos distintivos para algunas aberraciones cromosómicas, que pueden potenciarse debido a factores ambientales familiares y sociales.

Algunos pacientes con aberraciones menos conocidas pueden ser ansiosos, hiperactivos, autoagresivos o tener conducta autística.

En sentido general cuando no hay malformaciones específicas que determinen funcionamiento severo del sistema nervioso central (SNC), suelen responder muy bien al estímulo psicopedagógico temprano, desarrollar lenguaje y habilidades técnicas importantes en su integración familiar y social.

El mejor ejemplo de esto es el síndrome Down, en quienes se observa un panorama completamente diferente en los últimos años.

## **Características fenotípicas de las aberraciones de cromosomas sexuales**

Existen notables diferencias entre las aberraciones cromosómicas autosómicas y las aberraciones cromosómicas del X y del Y.

Crecimiento: el retraso del crecimiento no es una característica constante. Aunque sí específica en la monosomía X, no lo es en las aberraciones estructurales del X, ni en aberraciones que contiene el cromosoma Y, en las cuales hay un incremento en la talla, como ocurre en los síndromes 47,XXY y 47,XYY.

En el síndrome 45,X se aprecia una pequeña longitud en el recién nacido que se mantiene en la niña y la adolescente, y que es inferior a los 150-153 cm, siendo el crecimiento muy lento.

Los dismorfismos no son específico para síndromes como XXX, XXY o el XYY, sin embargo un patrón de signos dismórficos es muy característico para la monosomía X y polisomías X tales como la tetra X, pentasomía X y el síndrome tetra XY.

El patrón dismórfico del síndrome de Turner (45,X) se caracteriza por: cara triangular, las hendiduras parpebrales son oblicuas hacia abajo, que pueden ser pequeñas y observarse epicanto. Las comisuras labiales se dirigen hacia abajo, el paladar es muy alto y estrecho (ojival) y los dientes suelen estar mal implantados.

El mentón es pequeño y hacia atrás (retrognatia). Las orejas pueden tener la implantación baja. El cuello es corto y ancho con pterigium colli (pliegue membranoso que se extiende de la región mastoidea a la acromial), el cabello en la nuca es de implantación baja y en tridente. El tórax es ancho con separación exagerada de las mamilas (teletelia).

Las manos son cortas con acortamiento del cuarto metacarpiano, con anomalías de las articulaciones de codos y rodillas. Uñas hiperconvexas, estrechas e hipoplásicas.

Presentan múltiples malformaciones cardiovasculares y renales. Además se caracterizan por pobre desarrollo o ausencia de ovarios, útero infantil y por lo que son infértiles.

Por su parte el síndrome XXY o síndrome Klinefelter, no presenta notables elementos dismórficos al nacimiento y los defectos congénitos suelen relacionarse con anomalías genitales como hipospadia o falta de descenso de los testículos a las bolsas escrotales. Son altos para su edad y en la pubertad no desarrollan los caracteres sexuales secundarios debido a la disgenesia gonadal que presentan único punto en común entre la monosomía X y la trisomía XXY. En ambos síndromes además no es un hecho común el retraso mental y cuando existe algún defecto cognitivo se relaciona con retardo del aprendizaje y anomalías neuropsicológicas probablemente secundarias a las dificultades en su manejo médico.

En cambio cuando el número de cromosomas X aumenta, se incrementa el retraso mental que suele ser profundo en las poliploidias del X como en los síndromes tetra XY y en las pentasomias del X.

La Tabla 8.1 resume características comunes de un grupo de aberraciones cromosómicas autosómicas y sexuales.

Tabla 8.1

Aberraciones cromosómicas	Defectos anatómicos	Crecimiento y desarrollo	Defectos neurológicos
<b>DEFECTOS COMUNES A LAS AC DE CROMOSOMAS AUTOSÓMICOS</b>			
Fenotipos común a las AC no balanceadas de cromosomas autosómicos.	Son frecuentes: defectos congénitos mayores, malformaciones menores o signos dismórficos	Defecto de crecimiento prenatal (crecimiento intrauterino retardado). Baja talla proporcionada de comienzo postnatal.	Epilepsia, retraso del desarrollo del lenguaje, defectos visuales, auditivos, autismo, retraso mental.
47, XX ó XY, +21.46, XY ó XX, -14, t (D;21)46,XX ó XY, -21, t (21;G)	Cardiopatía congénitas en casi el 50%, patrón de signos dismórficos craneofaciales, microcefalia.	Nacen algo pequeños, pero en general, la baja talla se hace más evidente después del nacimiento. Tienen tendencia a la obesidad. Retraso de la maduración ósea.	Retraso mental de severo a moderado, coeficiente de inteligencia (CI) de 25 a 50, hipotonía muscular a veces severa.
47, XX ó XY, +13.46, XX ó XY / 47,XX ó XY, +13 Trisomías parciales con frecuencia por fusión centromérica con acrocéntricos del grupo D, incluyendo al propio 13, y del grupo G.	Desarrollo incompleto del cerebro anterior (holoprosencefalia); defectos del desarrollo de nervios olfatorios y óptico, microcefalia, microftalmía, labio y paladar hendidos, polidactilia de manos y pies, cardiopatía congénita, patrón dismórfico con hemangiomas capilares.	Bajo peso y baja talla de comienzo prenatal.	Convulsiones, puede haber hipertonía o hipotonía debido a la severidad y variaciones de malformaciones del SCN. Mueren alrededor de los tres días de nacidos, el 80% no sobrepasan el mes, con muy mala calidad de vida.
47, XY o XX, +18 46, XX ó XY / 47,XX ó XY, + 18. Cariotipos con trisomías parciales del cromosoma 18.	Cardiopatías congénitas, defectos de vías biliares, hipoplasia del timo, defectos renales, aplasia radial, microcefalia, patrón de signos dismórficos, entre los defectos más frecuentes.	Nacen bajo peso, inferior a 2340 g, al nacimiento tienen severa hipoplasia postnatal y de tejido celular subcutáneo. Los que logran sobrevivir mantienen su crecimiento y desarrollo inferior a lo normal.	Severa deficiencia mental, después del periodo neonatal son hipertónicos, dificultad en su alimentación por defectos de succión, los que sobreviven no logran caminar ni hablar.
46, XX ó XY, del(5p)46, XX ó XY, 5p- Monosomías parciales de 5p.	Cardiopatía congénita, patrón dismórfico al nacer dado por cara redonda, epicanto, hipertelorismo.	Peso al nacer bajo inferior a 2500 g. Crecimiento postnatal lento.	Severa hipotonía, llanto especial como el "maullido de un gato", (síndrome del maullido del gato). Retraso mental severo.

## CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE AC NO BALANCEADAS DE CROMOSOMAS X y Y

45, X, y de sus variantes. 45,X/46, XY; 46,XX/ 45,X; 46, Xi(Xq ó Xp).Deleciones parciales del X en brazos p ó q.	Cardiopatía congénita el defecto más frecuente es la presencia de válvula aórtica bicúspide, coartación de la aorta. Riñones en herradura. Patrón de signos dismórficos. Disgenesia gonadal y por tanto infertilidad.	Baja talla de comienzo prenatal, con diversidad de anomalías óseas. Pueden tener linfedema congénito. Tienen tórax ancho ( en escudo).	No presentan retraso mental, su CI es de 90 o superior. Aproximadamente el 50% tiene defectos de audición.
47,XXY; 46,XY/47,XXY y sus variantes 48,XXYY, 48,XXXYY	Se observan pocos defectos congénitos, ocasionalmente criptorquidia, pene pequeño, hipospadia. Presentan como en la 45,X; disgenesia gonadal por lo que también son infértiles.	Nacen de buen peso a veces son mayores de 50 cm al nacimiento. En el desarrollo postnatal son niños altos de extremidades largas.	Su CI tiene una media de 85 a 90, por lo que no presentan retraso mental, aunque pueden tener historia de problemas de conducta, dificultades para la lectura y trastornos del control muscular fino.
46, XYY	No son frecuentes los defectos anatómicos ni tiene un patrón de signos dismórficos que los caracterice. Ocasionalmente se ha reportado criptorquidia e hipospadia.	Nacen de buen peso y talla y en su desarrollo postnatal suelen ser altos. Su desarrollo puberal es normal y no son infértiles.	Su CI está entre 80 y 140, pueden ser hiperactivos con dificultad en el control de su temperamento. Suelen tener una conducta agresiva que aprender a controlar.

## RESUMEN

Las aberraciones cromosómicas pueden involucrar a todos los cromosomas como ocurre en las poliploidias, o solamente involucrar a cromosomas de pares específicos como ocurre en la aneuploidias y en estas últimas involucrar tanto a cromosomas autosómicos como a cromosomas sexuales y su defecto se debe a la no disyunción de los

cromosmas en cualquiera de las dos divisiones meióticas o también pueden aparecer cuando se produce una anafase retardada.

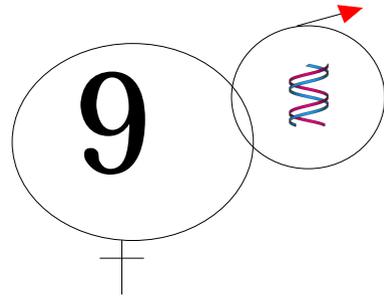
Las aberraciones cromosómicas estructurales pueden ser balanceadas (inversiones y translocaciones) o no balanceadas (deleciones, duplicaciones, isocromosomas)

La expresión fenotípica de las aberraciones cromosómicas, es un fenómeno que siempre está presente. En el caso de las aberraciones cromosómicas balanceadas, a nivel de producción de gametos y que pueden aparecer en la historia familiar de padres de niños con diversas discapacidades o en parejas que no pueden tener el hijo deseado, como antecedentes de infertilidad, subfertilidad, abortos espontáneos, muertes fetales, muertes neonatales o sea historia de fallas reproductivas.

En el caso de aberraciones cromosómicas no balanceadas de cromosomas autosómicos son comunes la presencia de más de tres signos dismórficos, malformaciones congénitas, retraso del crecimiento y desarrollo y retraso mental de gran espectro de gradaciones. La presencia de retraso mental es el defecto más constante. Las aberraciones cromosómicas que involucran a los cromosomas X o Y, no tienen características fenotípicas comunes. Su fenotipo debe ser evaluado individualmente. Los síndromes más frecuentes como la monosomía X (síndrome Turner) y la trisomía XXY (síndrome Klinefelter) tienen como característica común la disgenesia gonadal (gónadas no funcionales o ausentes). El retraso mental severo solo es común cuando se incrementa el número de cromosomas X (poliploidias del X).

# TRASMISIÓN DE SIMPLES MUTACIONES

Araceli Lantigua Cruz



*La transmisión de simples mutaciones aparece en la historia de la Genética Médica desde los primeros años del siglo XIX. En esa etapa no se conocían las leyes de Mendel y sin embargo, ya habían observaciones relacionadas con el sexo de personas afectadas y la herencia del defecto del abuelo al nieto a través de su hija, o también de la transmisión vertical de un padre a un hijo afectado y de este a los nietos, o de la existencia del mismo síndrome en dos hermanos hijos de padres no afectados*

*A la luz de los conocimientos actuales, estas regularidades se han agrupado y se han podido establecer criterios que permiten identificar las leyes de Mendel en la segregación de simples mutaciones.*

*Al estudio de estas regularidades dedicaremos este capítulo.*

## DETERMINACIÓN DEL SEXO

### *Cromosomas autosómicos y sexuales*

De los 23 pares de cromosomas contenidos en el núcleo celular, hay 22 a los que se les denomina autosómicos y un par que se relacionan con el sexo, a los que se les denomina sexuales. Los cromosomas sexuales se conocen a su vez como X y Y. Desde el punto de vista del contenido de ADN y de la forma y tamaño de estos cromosomas, hay notables diferencias entre el sexo masculino y femenino.

En el sexo masculino la pareja de cromosomas sexuales está formada por un cromosoma X y uno Y, siendo el genotipo cromosómico XY, mientras que en el sexo femenino ambos cromosomas son X, siendo el genotipo cromosómico XX.

¿Qué importancia tiene este conocimiento para el análisis de la transmisión de los genes y caracteres en el Humano?

- El cromosoma Y está involucrado con la determinación del sexo, este cromosoma contiene genes específicos para la diferenciación de la gónada primitiva hacia la formación de un testículo y también genes relacionados con la espermatogénesis.

Solamente una pequeña porción de genes del cromosoma Y son homólogos con el cromosoma X. Estas porciones homólogas están localizadas en el extremo terminal de los brazos cortos de ambos cromosomas, esta homología les permiten mantenerse unidos durante la meiosis (Figura 9.1).

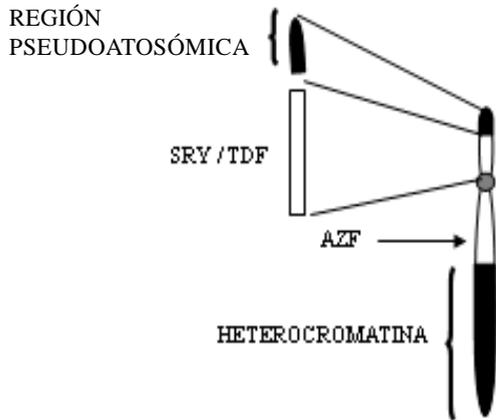


Figura 9.1. Esquema del cromosoma Y. TDF = factor determinante testicular. SRY = región determinante del sexo en el cromosoma. AZF = factor azoospermia.

- Las diferencias de ambos cromosomas explican que el hombre genotípicamente, para la información contenida en este par cromosómico se comporta como *hemicigótico*. Es decir, solamente contiene uno solo de los representantes de un par de alelos cuyo locus se encuentra en el cromosoma X (Figura 9.2).

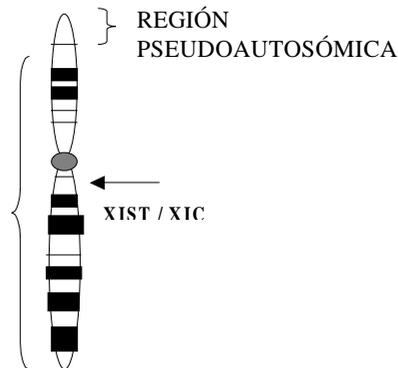


Figura 9.2. Esquema del cromosoma X. XIST = inactivación específica de transcritos del X. XIC = Centro de inactivación del X

- La determinación del sexo depende de la fecundación de un espermatozoide portador de un cromosoma X o de un cromosoma Y. En otras palabras el óvulo siempre contiene un cromosoma X y sus diferencias genéticas dependerán del origen materno o paterno de los alelos contenidos en ellos, sin embargo los espermatozoides tienen la probabilidad de contener en un 50% o el cromosoma X o el cromosoma Y (Figura 9.3 y 9.4).

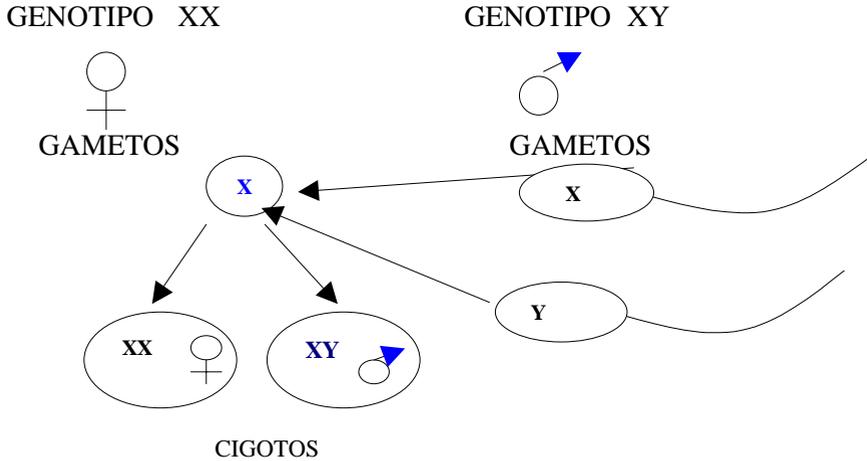


Figura 9.3. Esquema de la fecundación y determinación del sexo.

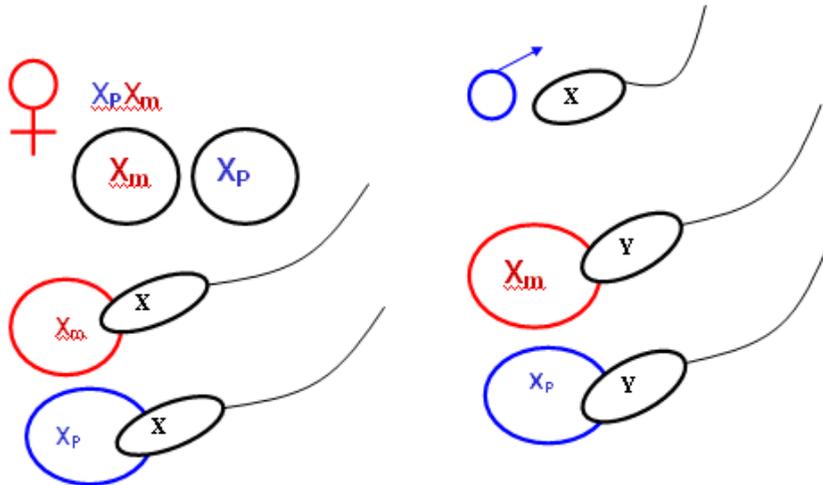


Figura 9.4. Esquema de la fecundación de gametos femeninos teniendo en cuenta el origen materno y paterno de los cromosomas X

## **HERENCIAS MENDELIANAS EN EL HUMANO**

La clasificación de las herencias mendelianas en el Humano, dependerá de dos factores: el cromosoma donde se encuentre localizado el gen en estudio y de las características de la expresión fenotípica de éste.

Teniendo en cuenta estos factores las herencias pueden ser clasificadas en:

- Autosómicas, dominantes o recesivas.
- Ligadas al cromosoma X, dominantes o recesivas.
- Ligadas al cromosoma Y.

### **Simbología para la confección del árbol genealógico**

El árbol genealógico constituye el instrumento fundamental para la identificación de estos cuatro tipos de herencia mendeliana en el Humano.

La confección del árbol genealógico o pedigree, requiere del conocimiento previo de los símbolos internacionales a través de los cuales los genetistas podemos comunicarnos utilizando un mismo lenguaje (Figura 9.5). Otro aspecto de importancia lo constituye el desarrollo de habilidades dirigidas a cómo recoger la información necesaria que nos permita identificar la segregación de los genes involucrados en el carácter objeto de estudio.

Es importante identificar en el árbol genealógico, la relación filial de cada uno de los parientes del propositus (Figura 9.6).

Los familiares de primer grado, tienen una probabilidad mayor de similitud en su genoma.

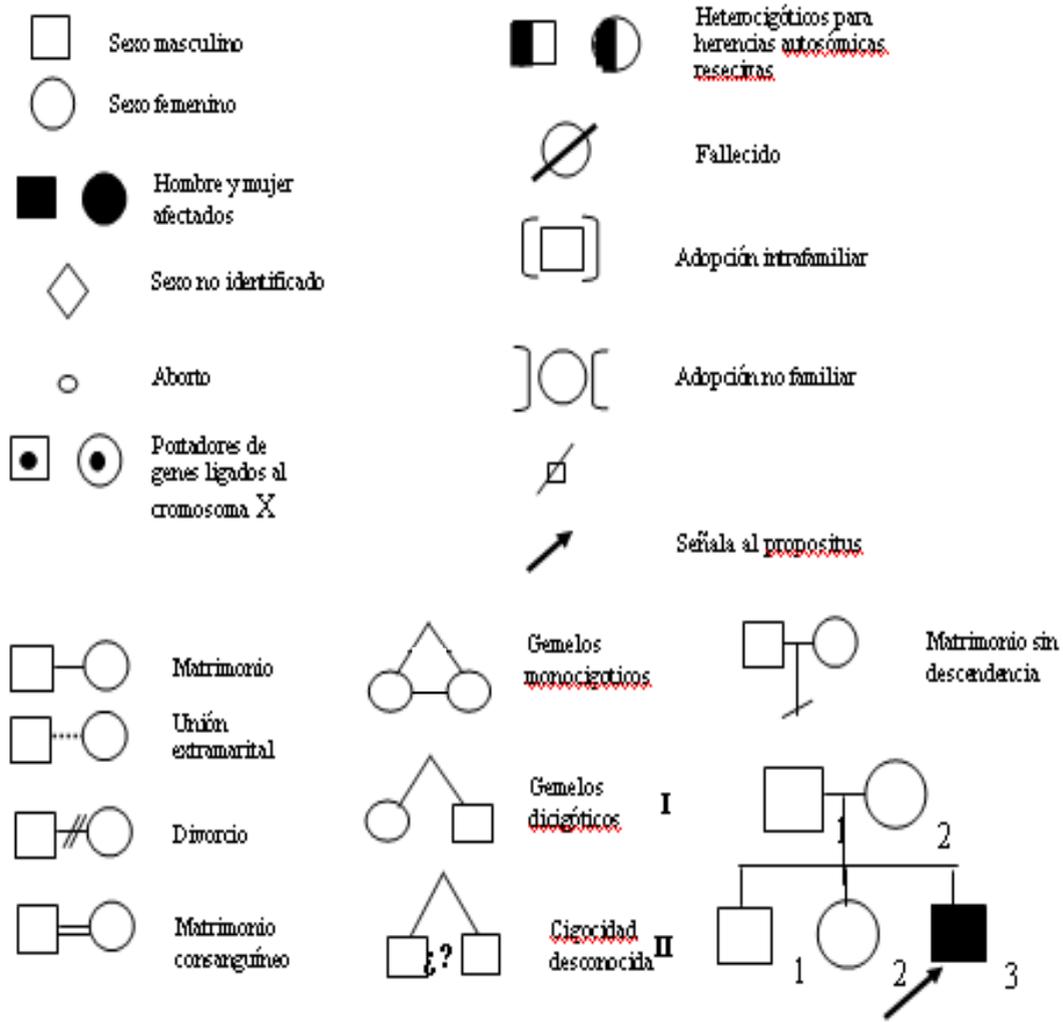


Figura 9.5. Simbología internacional para la confección del árbol genealógico.

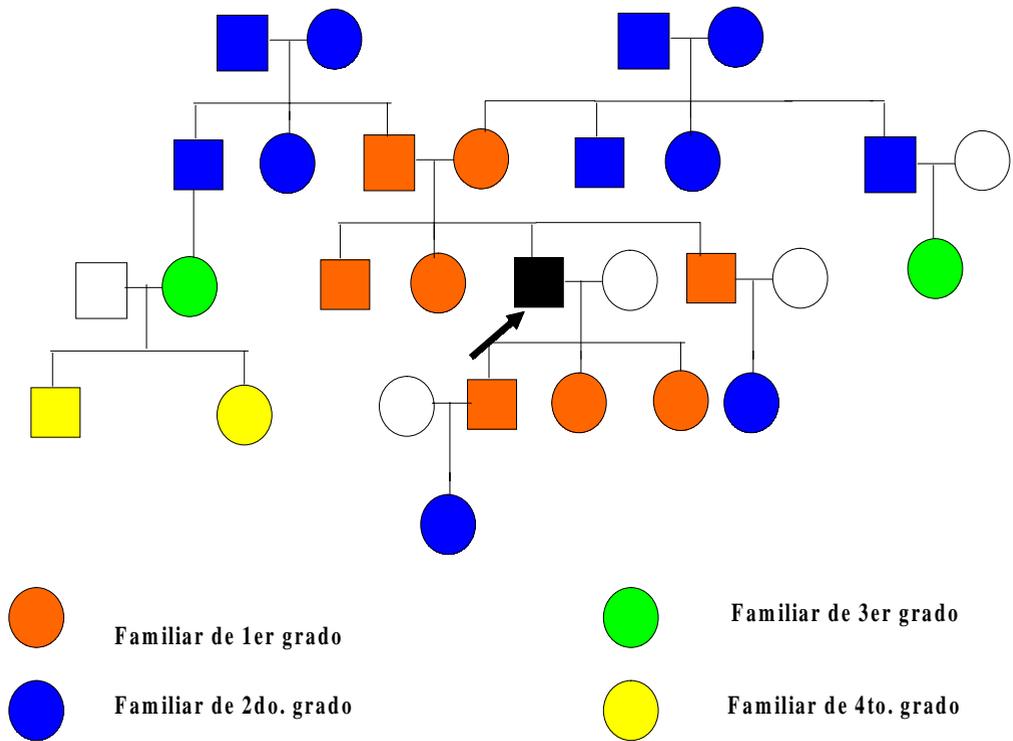


Figura 9.6. Relación filial en las familias.

## HERENCIAS DOMINANTES, AUTOSÓMICA Y LIGADA AL CROMOSOMA X

### Herencia autosómica dominante

El primer ejemplo aparece en la figura 9.7. La transmisión de la mutación se produce de padres a hijos sin distinción de sexo. Podemos simbolizar al gen mutado con la letra "A" mayúscula y el tipo salvaje con la letra "a" minúscula. El genotipo de los individuos afectados será heterocigótico (Aa) y el de los no afectados será homocigótico recesivo (aa).

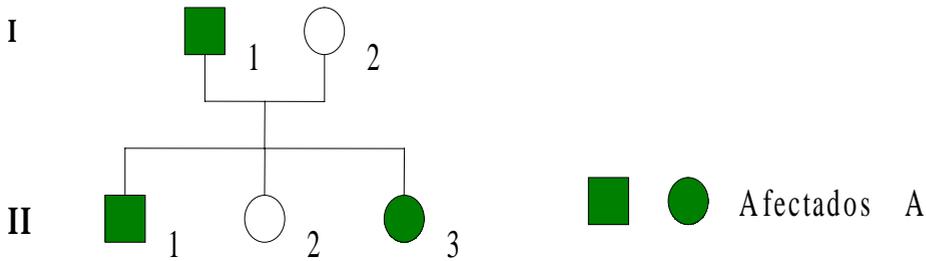


Figura 9.7. Arbol genealógico correspondiente a un defecto genético, cuya mutación se expresa con criterios de herencia autosómica dominante.

Las parejas I-1 y I-2 serán genóticamente Aa y aa respectivamente, y el 50 % de los gametos del individuo I-1 portarán la mutación "A" o el gen tipo salvaje "a", en tanto que el 100 % de los gametos de I-2 siempre portarán el gen "a".

Esto significa que el individuo afectado heterocigótico Aa transmitirá el defecto (mutación A) al 50 % de sus descendientes independientemente del sexo de sus hijos. En este tipo de herencia la ausencia de otros familiares afectados por igual enfermedad y la ausencia de antecedentes maternos o paternos de la enfermedad, en un individuo afectado por la mutación "A", tiene como explicación la aparición de una *mutación de novo* en la familia en cuestión, a partir del primer individuo afectado. Estas mutaciones, son responsables de enfermedades genéticas con *efecto fundador*, o sea enfermedades determinadas por un gen de expresión fenotípica dominante que aparecen con alta frecuencia en una población local, a partir un primer individuo afectado.

Un ejemplo ilustrativo se observa en la región venezolana del Lago Maracaibo, donde se ha detectado una alta frecuencia de la corea Huntington, enfermedad genética autosómica dominante de expresión tardía, y que fue introducida en esta localidad en los primeros años del siglo XIX. En Cuba, la ataxia espinocerebelosa tipo II en la provincia de Holguín.

Se han reportado más de 8 005 mutaciones con expresión dominante, de genes localizados en cromosomas autosómicos.

Generalmente los individuos afectados por enfermedades monogénicas autosómicas dominantes, presentan un genotipo heterocigótico. Esto se debe a las mutaciones de novo, a la disminución de la aptitud reproductiva, también a la baja frecuencia de estos defectos que hacen poco probable la unión de parejas en la que ambas se encuentren afectadas por la misma mutación y probablemente a que la severidad de expresión, de un homocigótico para el gen causante de la enfermedad, determina que ésta no sea viable.

El siguiente análisis de la segregación de los genes en los gametos de una pareja en la que un progenitor sea heterocigótico se ilustra en el siguiente cuadrado de Punnet. (\* )

\* Método empleado por R. C. Punnet para el análisis de la segregación de los genes 1911.

MATRIMONIO DE LA I-1 / I-2 DE LA FIGURA 9.6

GENOTIPOS

Aa x aa

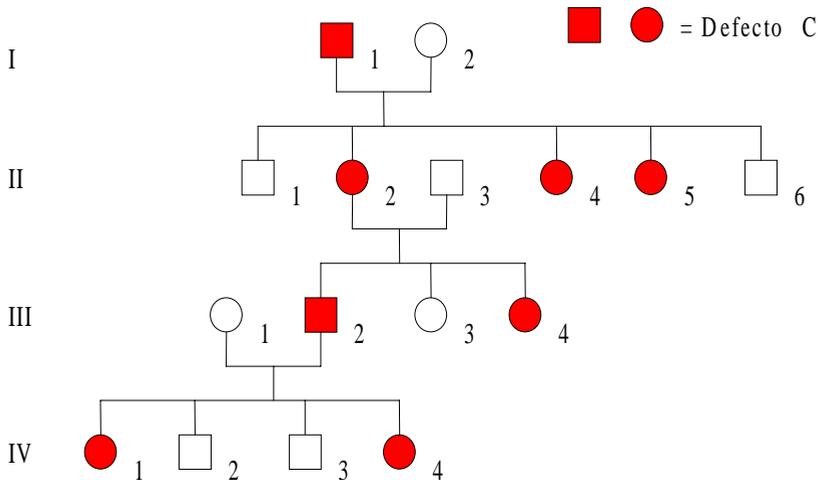
Progenitor no afectado

Progenitor no afectado	Gametos	a	a
Afectado	A	Aa	Aa
	a	aa	aa

Afectados Aa

**Herencia dominante ligada al cromosoma X**

Un nuevo ejemplo de herencia mendeliana, aparece en la figura 9.8. Si observamos detenidamente el árbol genealógico nos debe llamar la atención que el defecto se debe a una mutación con expresión dominante ya que se cumple el requisito de que los individuos afectados tienen a uno de sus padres también afectado. Sin embargo observemos que en este ejemplo, los hombres enfermos nunca transmiten la enfermedad a sus hijos varones, mientras que transmiten el cromosoma X a todas sus hijas y con él, a la mutación "C", por lo que todas expresarán la enfermedad, como su padre.



**Figura 9.8.** Arbol genealógico que ejemplifica el patrón herencia ligada al cromosoma X

En este caso el gen mutado "C" se encuentra localizado en el cromosoma X y como los cromosomas X y Y están involucrados en la determinación del sexo, los individuos con el genotipo afectado deben ser analizados atendiendo a su sexo cromosómico, es decir, XX la mujer y XY el hombre. Como el gen mutado C está localizado en el cromosoma X las mujeres podrán tener tres genotipos: XC/XC, XC/Xc y Xc/Xc siendo este último homocigótico recesivo, el único que expresará el fenotipo normal para el carácter en estudio. En el hombre solamente son posibles dos genotipos: XC/Y y Xc/Y, en su carácter de hemicigótico.

El hombre sano de este ejemplo tendrá un genotipo Xc/Y. Asumimos que el genotipo de I-1 es hemicigótico XC/Y y el de la I-2, es homocigótica recesiva no afectada Xc/Xc. Los gametos de I-1 (espermatozoides) serán de dos tipos atendiendo a la presencia de los cromosomas sexuales: XC y Y. Obsérvese que con el cromosoma X se transmite el gen mutado C.

Los gametos de I-2 serán todos Xc. Esta pareja tendrá una probabilidad de tener descendientes afectados dependiendo del sexo, en tanto que todas sus hijas padecerán fenotípicamente la enfermedad y genotípicamente serán heterocigóticas, los hijos de este hombre afectado (I-1) siempre serán genotípica y fenotípicamente no afectados.

La mujer afectada II-3 al ser heterocigótica transmitirá sus cromosomas X tanto a sus hijos varones como hembras con una probabilidad del 50 % de transmitir junto con éste la mutación "C". Esta es una herencia dominante ligada al cromosoma X.

#### MATRIMONIO DE LA I-1 / I-2 DE LA FIGURA

GENOTIPOS	XC / Y	X	Xc / Xc
			Madre no afectada
Padre afectado	Gametos	Xc	Xc
	XC	XC/Xc	XC/Xc
	Y	Xc/Y	Xc/Y
			Afectados XC/Xc

#### MATRIMONIO DE LA III-1 / III-2 DE LA FIGURA 9.7

GENOTIPOS	Xc / Y	X'	XC//Xc
			Madre afectada
Padre noafectado	Gametos	XC	Xc
	Xc	XC/Xc	Xc/Xc
	Y	XC/Y	Xc/Y
			Afectados XC/Xc y XC/Y

## RESUMEN DE LAS HERENCIAS DOMINANTES

- Los individuos afectados presentan en su genotipo el alelo mutado.
- Cada individuo afectado tiene a uno de sus progenitores también afectado, (con excepción de los casos con mutaciones de novo), ya que el progenitor afectado transmite el alelo mutado al 50% de sus gametos, mientras que el progenitor no afectado sólo transmite el alelo tipo salvaje o con el gen no mutado al 100% de sus gametos.
- Cada individuo afectado tiene una probabilidad del 50% de transmitir el alelo mutado a su descendencia .
- La descendencia del hombre afectado es decisiva para determinar la localización autosómica o ligada al cromosoma X de la mutación en estudio.
- En las herencias en las que el alelo mutado se encuentra en un cromosoma autosómico, el hombre afectado tiene igual probabilidad de tener hijos varones o hembras afectadas.
- En las herencias en las que el alelo mutado se encuentra en el cromosoma X, el hombre afectado nunca tendrá hijos (varones) afectados, ya que el sexo se define por la fecundación del óvulo por un espermatozoide con el cromosoma Y, sin embargo todas sus hijas se encontrarán afectadas, ya que el alelo mutado se encuentra en el cromosoma X, y el sexo femenino es el resultado de la fecundación del óvulo por el espermatozoide portador del cromosoma X, en este caso siempre conteniendo la mutación que expresa el carácter dominante.

## HERENCIAS RECESIVAS, AUTOSÓMICA Y LIGADA AL CROMOSOMA X

### Herencia autosómica recesiva

En el siguiente ejemplo que aparece en la figura 9.9, se observa a dos hermanos afectados. Los padres de los hermanos afectados son sanos o no afectados, al igual que el resto de la familia. Aquí podemos designar al gen mutado con la letra "b" minúscula, los individuos normales serán genotípicamente homocigóticos (BB) o heterocigóticos (Bb).

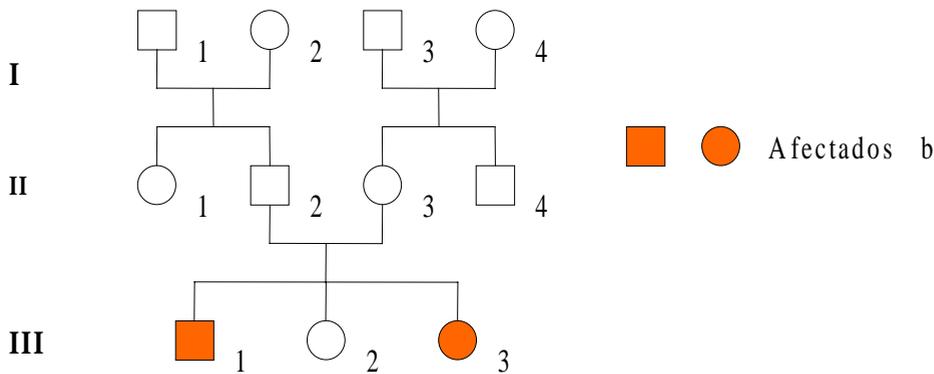


Figura 9. 9. Arbol genealógico que ejemplifica a una herencia autosómica recesiva.

La pareja II-2, II-3 será genotípicamente heterocigótica (Bb) mientras sus hijos serán genotípicamente homocigóticos recesivos (bb), en este caso cuando se requiere la existencia de los dos genes mutados para que se exprese el defecto, la herencia es autosómica recesiva.

La pareja de heterocigóticos tendrá una probabilidad del 25 % de tener otro hijo enfermo independientemente de cual sea su sexo. En el siguiente esquema se ilustra esta situación.

#### MATRIMONIO II-2 - II-3 DE LA FIGURA 9. 9

GENOTIPOS  $Bb$  X  $Bb$

Progenitor no afectado

Progenitor no afectado	Gametos	B	b
	B	BB	Bb
	b	bB	bb

Afectado bb

Los hijos sanos de parejas heterocigóticas o portadoras, para rasgos autosómicos recesivos pueden ser, con un 50 % de probabilidad, también heterocigóticos. Una mutación para un carácter recesivo, se segrega durante varias generaciones sin expresarse y sólo tiene probabilidad de expresarse cuando una pareja siendo ambos portadores tienen descendencia. En estos casos, la pareja tiene un 25 % de probabilidad de tener hijos,

independiente de su sexo, afectados. Las enfermedades genéticas con este tipo de herencia, tienen generalmente alta frecuencia de matrimonios entre consanguíneos ya que es mucho más probable que dos individuos sean portadores para la misma mutación recesiva cuando tienen relación filial.

La ocurrencia de matrimonios entre consanguíneos, es a su vez un índice de la frecuencia del gen recesivo en una población, si es muy alta la frecuencia de consanguinidad la mutación es baja, y a la inversa, si la frecuencia de matrimonios entre consanguíneos para la enfermedad en cuestión es muy baja significa que la mutación es común en la población en estudio.

Se han reportado 1730 mutaciones, con expresión fenotípica recesiva, de genes localizados en cualquiera de los 22 pares de cromosomas autosómicos. Gran cantidad de defectos enzimáticos que producen errores congénitos del metabolismo, tienen este tipo de herencia.

Un ejemplo con este tipo de herencia se observa en la anemia a hemáties falciforme, la enfermedad genética mendeliana más frecuente en Cuba.

### Herencia recesiva ligada al cromosoma X

La figura 9. 10, muestra un ejemplo de herencia recesiva ligada al X. En este caso la mutación es recesiva y se diferencia de la herencia anterior porque las hijas del hombre hemicigótico afectado (genotipo Xd/Y) serán genotípicamente heterocigóticas (XD/Xd) y no expresarán la enfermedad aunque transmitirán la mutación al 50 % de sus hijos varones.

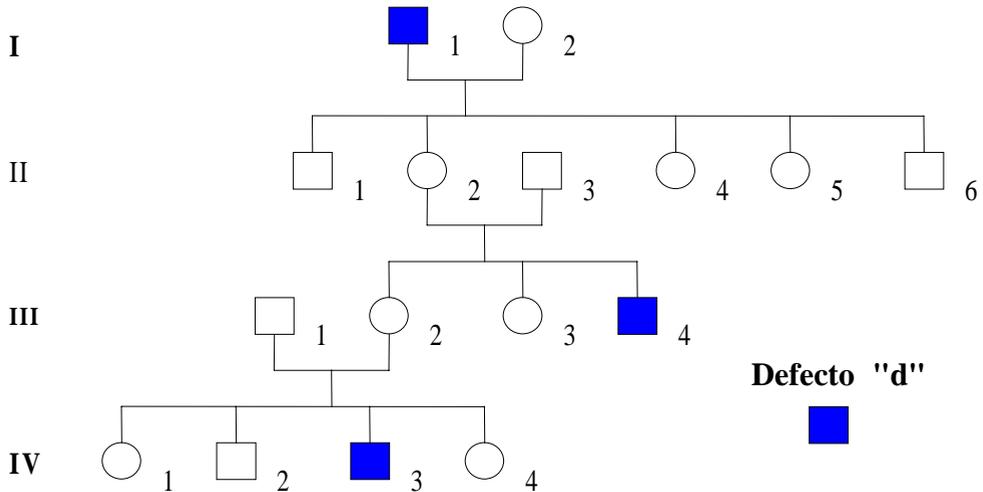


Figura 9.10. Arbol genealógico que ejemplifica una herencia recesiva ligada al cromosoma X.

Aquí se destaca que regularmente, son los hombres los afectados y que éstos se relacionan unos con otros a través de mujeres heterocigóticas.

Se han reportado al menos 495 mutaciones de genes localizados en el cromosoma X. Un ejemplo de defecto genético con este tipo de herencia se observa en las hemofilias A y B.

#### MATRIMONIO DE LA I-1 / I-2 DE LA FIGURA 9.10

GENOTIPOS            Xd / Y        X        XD / XD

Madre no afectada

Padre afectado	Gametos	XD	XD
	Xd	XD/Xd	XD/Xd
	Y	XD/Y	XD/Y

La descendencia no esta afectada pero las hijas serán portadoras sanas.

#### MATRIMONIO DE LA II-2 / II-3 y III-1 / III-2 DE LA FIGURA 7.

GENOTIPOS            XD / Y        X        XD//Xd

Madre portadora sana

Padre no afectado	Gametos	XD	Xd
	XD	XD/XD	XD/Xd
	Y	XD/Y	Xd/Y

Afectados solamente los varones Xd/Y

### RESUMEN DE LAS HERENCIAS RECESIVAS

- Las herencias recesivas se caracterizan porque los padres de los individuos afectados son fenotípicamente sanos.
- Los padres de los individuos afectados por herencias autosómicas recesivas son heterocigóticos obligados, y tiene un 25 % de probabilidad de tener hijos afectados por la misma enfermedad cada vez que tengan nueva descendencia.
- Los individuos afectados por herencias autosómicas recesivas, lo son independientes del sexo, pudiendo existir hombres y mujeres afectados en una misma generación.

- En las herencias autosómicas recesivas se observa con gran frecuencia matrimonios entre consanguíneos.
- En las herencias autosómicas recesivas tiene gran importancia la detección de portadores (heterocigóticos) asintomáticos, con objetivos preventivos.
- En las herencias recesivas ligadas al cromosoma X, la condición de hemicigóticos en los varones, determina la expresión del gen recesivo aun en una simple dosis, por lo que los varones expresan la enfermedad mientras que las mujeres al ser heterocigóticas, son portadoras asintomáticas.
- En los árboles genealógicos de familias afectadas por herencias recesivas ligadas al cromosoma X, los varones que padecen la enfermedad se encuentran emparentados a través de mujeres portadoras.
- En las herencias recesivas ligadas al cromosoma X, las mujeres portadoras tienen un 50 % de probabilidad de tener sus hijos varones afectados, mientras sus hijas tienen un 50 % de ser portadoras sintomáticas.

## **HERENCIA LIGADA AL CROMOSOMA Y**

El cromosoma Y tiene un segmento en el extremo de los brazos cortos que recibe el nombre de región pseudoautosómica ( por medio de esta región los cromosomas X y Y permanecen unidos durante las divisiones celulares). La segregación de los genes localizados en este segmento, no se diferencian de una herencia autosómica, pero los genes localizados en el resto del cromosoma Y segregan solamente a través de los varones que presenten la mutación. Se han reportado al menos 27 genes mutados en el cromosoma Y. Ejemplos de ellos son la Retinosis Pigmentaria Ligada al Y, el Factor Azoospermia 1, el gonadoblastoma, Antígeno de histocompatibilidad Y (HY), el Receptor de la Interleuquina-3, el Factor Determinante Testicular (TDF), la región Y determinante del sexo (SRY).

## **FENÓMENOS QUE DIFICULTAN EL ANÁLISIS DE LA SEGREGACIÓN MENDELIANA**

### **Herencias influidas por el sexo y limitadas al sexo**

Una mutación puede estar influida por el sexo, esto se debe al efecto del metabolismo endocrino que diferencia al hombre y a la mujer. Por ejemplo la calvicie se debe al efecto de un gen que se expresa como autosómico dominante, sin embargo en una familia con la

segregación de este gen solo los hombres padecen de calvicie y las mujeres tendrán su cabello más escaso después de la menopausia. Otro ejemplo puede ser la deficiencia de la enzima 21 hidroxilasa que interviene en el metabolismo de los glucocorticoides. Cuando esta enzima está ausente la síntesis de glucocorticoides se desplaza hacia la formación de testosterona y esta hormona está comprometida en la embriogénesis de los genitales externos del varón, por lo que su presencia anormal en el desarrollo de un feto femenino produce la virilización de los genitales femeninos, mientras que en el caso de un feto varón, solo incrementa el desarrollo de los masculinos. Una anomalía de este tipo, permitirá sospechar un diagnóstico clínico más rápidamente en una niña, basado en el examen de los genitales del recién nacido, que en un niño.

Las herencias limitadas al sexo, como su nombre indica, pueden estar comprometidas mutaciones de genes con loci en cromosomas autosómicos cuya expresión solamente tiene lugar en órganos del aparato reproductor masculino o femenino. Un ejemplo es el defecto congénito septum vaginal transverso, de herencia autosómica recesiva, o la deficiencia de 5 $\alpha$  reductasa que convierte a la testosterona en dihidrotestosterona y que actúa en la diferenciación de los genitales externos masculinos, por lo que su ausencia simula genitales femeninos cuando el niño nace.

## **Penetrancia de un gen o de una mutación específica**

Penetrancia es el término que se emplea para referirse a la expresión de caracteres dominantes en términos de todo o nada. Si la mutación se expresa en menos del 100 % de los individuos o heterocigóticos se dice que la mutación tiene una penetrancia reducida y que ese individuo aparentemente "sano" para el carácter o enfermedad que se estudia en la familia puede transmitir la mutación a su descendencia y éstos expresar el defecto. La penetrancia reducida parece ser el efecto de la relación de la mutación en cuestión y otros genes del genoma, con los cuales se encuentra interactuando.

## **Expresividad de un gen o mutación específica**

Expresividad se usa para referirse al grado de severidad que se manifiesta en el fenotipo. en términos clínicos, es sinónimo de gravedad. La expresión de un gen depende de la relación de éste con el resto del genoma, pero también de la relación genoma-ambiente. Para referirse a estas gradaciones fenotípicas se utiliza el término expresividad variable del gen o de la mutación.

## **Efecto pleiotrópico de un gen o mutación específica**

Con el término pleiotropía o efecto pleiotrópico de un gen se hace referencia a todas las manifestaciones fenotípicas en diferentes órganos o sistemas que son explicables por una simple mutación. Un ejemplo clásico para explicar este término lo constituye el síndrome Marfan, cuyo mutación afecta al gen *FBN1* que codifica a la proteína fibrilina, esta proteína se encuentra en el tejido conectivo y explica las manifestaciones esqueléticas, oculares y cardiovasculares que caracterizan al síndrome.

## **Heterogeneidad genética**

Atención especial merece este término que se aplica tanto a mutaciones en genes localizados en diferentes cromosomas que producen expresión similar en el fenotipo (heterogeneidad no alélica) como a mutaciones que afectan a diferentes sitios del mismo gen (heterogeneidad alélica). Esta categoría complica extraordinariamente el estudio etiológico de variantes del desarrollo de origen genético y constituye una amplia y fundamental fuente de diversidad genética del desarrollo.

## **Inactivación del cromosoma X**

Se ha observado que en las células somáticas del sexo femenino (46,XX), solo uno de los dos cromosomas X es activo. El otro permanece inactivo y aparece en células en interfase como un cuerpo denso fuertemente coloreado en la periferia del núcleo que recibe el nombre de cuerpo de Barr. La inactivación del cromosoma X tiene lugar en el estado de mórula, alrededor del tercer día después de la fertilización y se completa, en la masa de células internas que darán origen al embrión, al final de la primera semana de desarrollo embrionario. La selección del cromosoma X que se inactivará, es un fenómeno generalmente aleatorio teniendo en cuenta que al ocurrir la fecundación cada cromosoma X tiene origen materno y paterno, en unas células se inactivará el X materno ( $X_m$ ) y en otras el X paterno ( $X_p$ ). Una vez que se inactiva uno de los dos cromosomas X las células descendientes mantendrán el mismo cromosoma X inactivo originándose un clon celular ( $X_m$ ) o ( $X_p$ ) activos. Es decir al inicio de la inactivación, ésta es al azar, pero una vez ocurrida se mantiene el mismo cromosoma X que se inactivó en la primera célula del clon. Este fenómeno descrito por primera vez por Mary Lyon, en 1961, por lo que se le conoce como hipótesis de Lyon.

La inactivación (desactivación) del cromosoma X está determinada por el gen *XIST* (Figura 9.2). Este gen está involucrado en la transcripción específica de inactivación que funciona por un mecanismo de metilación preferencial, esto significa que si no hay ningun-

na alteración de estructura en los dos cromosomas X del genoma femenino, la inactivación debe ocurrir de forma aleatoria pero si existiera alguna alteración con gran compromiso en la función de uno de los dos cromosomas X habría una activación no completamente aleatoria. El locus del gen XIST se encuentra localizado en Xq13.3.

La inactivación del X determina consecuencias genéticas y clínicas:

- Compensación de dosis: iguala la dosis de productos de genes del genotipo femenino con el hemicigótico masculino para genes localizados en el cromosoma X., determinando concentraciones proteicas similares en ambos sexos, para genes ligados al X.
- Variaciones en la expresión de mutaciones en mujeres heterocigóticas: por ejemplo, presencia de síntomas más o menos severos en mujeres portadoras para hemofilias A o B, distrofia muscular Duchenne, distrofias retinianas recesivas ligadas al X.
- Los órganos femeninos se comportan como mosaicismos. Este fenómeno se observa en el albinismo ocular recesivo ligado al X o en el test inmunohistoquímico para la detección de la distrofina en mujeres heterocigóticas para la distrofia muscular Duchenne en los que se observan mosaicos en los tejidos involucrados de zonas afectadas y no afectadas.

## **Nuevas mutaciones con expresión dominante**

Cuando tiene lugar una mutación de novo que se expresa como dominante, o sea en un genotipo heterocigótico, ocurre que padres que no presentan el efecto de la mutación pueden tener un hijo o hija afectados. La ausencia de antecedentes familiares, una vez que se excluyen fenómenos como la penetrancia reducida del gen y variaciones mínimas de la expresividad dificulta llegar al planteamiento de una mutación de novo cuando en la literatura el defecto o enfermedad no ha sido reportada con anterioridad, con un tipo específico de herencia.

## **Efecto de letalidad en un genotipo específico**

Algunas mutaciones se expresan de forma tan severa que producen letalidad en un genotipo específico. Un ejemplo pudiera ser el efecto de una doble dosis de una mutación que se expresa como dominante o el efecto en un genotipo hemicigótico, como

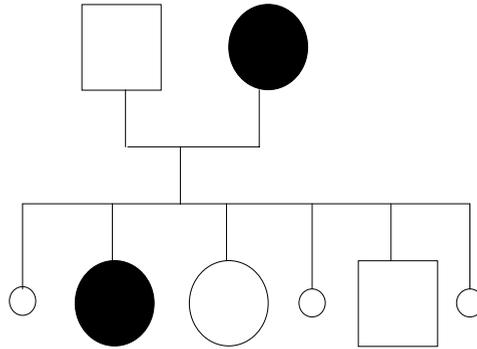


Figura 9.11. Herencia de genes que causan letalidad en el varón. En estos casos no aparecen valores afectados y la frecuencia de abortos espontáneos sugiere pérdida de productos masculinos.

ocurre en la Incontinencia pigmenti, enfermedad dominante ligada al cromosoma X (Figura 9.11).

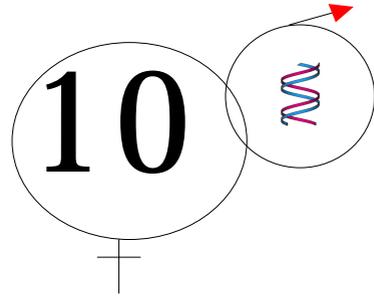
## RESUMEN

Las herencias mendelianas en el humano se estudian a partir de la confección y análisis del árbol genealógico, siguiendo la segregación del gen mutado de acuerdo con las probabilidades genéticas y la observación de un individuo afectado.

Excluyendo la herencia ligada al cromosoma Y son cuatro los tipos de herencia mendeliana que requieren ser analizados de acuerdo con los criterios de segregación: herencia autosómica dominante, herencia autosómica recesiva, herencia dominante ligada al X y herencia recesiva ligada al X. La heterogeneidad genética alélica y no alélica dificulta el análisis de segregación de simples mutaciones.

Fenómenos relacionados con la penetrancia, expresividad y pleiotropía del gen deben tenerse en cuenta al determinar el tipo de herencia. Otras dificultades en el reconocimiento de criterios que permitan la diferenciación de las herencias son los caracteres influidos y limitados por el sexo y las mutaciones de novo.

# INTERFERENCIAS BIOLÓGICAS DE LA TRANSMISIÓN DE SIMPLES MUTACIONES



*Araceli Lantigua Cruz*

*Los avances de la aplicación de la nueva tecnología para el estudio del ADN y las observaciones de las investigaciones relacionadas con el Proyecto Genoma Humano, han logrado esclarecer contradicciones y expresiones anormales que no tenían explicación o cuyas explicaciones confundían más que aclaraban el fenómeno.*

*Interrogantes como las siguientes: ¿Por qué en el síndrome frágil X hay hombres asintomáticos y portadores? ¿Por qué en síndromes neurológicos como el Praderr-Willi y el Angelman teniendo fenotipos diferentes tienen el mismo tipo de aberración cromosómica en 15q11-q13? ¿por qué una mujer fenotípicamente sana tiene hijos acondroplásicos en dos matrimonios diferentes? ¿Por qué en algunas enfermedades genéticas dominantes los síntomas aparecen mucho más temprano en los hijos que en sus padres?*

*A responder estas interrogantes a la luz de los nuevos conocimientos va dirigido este capítulo que aborda fenómenos biológicos que dificultan la identificación de herencias mendelianas y que en algunos textos aparecen con el nombre de patrones no clásicos de herencias mendelianas.*

## MUTACIONES DINÁMICAS

Este término se aplica a genes que presentan en alguna región de su estructura tripletes de bases repetidos en un número de veces tal, que define el alelo o gen denominado normal. La mutación consiste en el incremento del número de veces que se repite el triplete y su expresión está en correspondencia con este incremento. Se trata de un gen que crece y su crecimiento tiene un límite a partir del cual su expresión puede ser nula y causar un defecto del desarrollo.

El síndrome a partir del cual se introduce esta nueva categoría genética recibe el nombre de Síndrome Frágil X, es la segunda causa genética y primera causa hereditaria de retraso mental.

Al gen detectado a partir de este síndrome, se le ha denominado FRM1. La mutación del gen FMR1, que da origen a este síndrome consiste en el incremento de repeticiones del triplete CGG del extremo 5' de su primer exón, cuyo alelo normal tiene un promedio de 30 repeticiones.

Este incremento se produce por etapas. De ahí el término de "gen que crece". El primer crecimiento o premutación oscila entre 43 y hasta 200 repeticiones sin que tenga un efecto fenotípico muy específico. A partir de las 200 repeticiones se produce la mutación completa y se expresa el síndrome.

El riesgo de transformarse en una mutación completa depende del número de repeticiones de la premutación, de modo tal que cuando el portador de la premutación en una familia afectada, tiene un rango de menos de 90 repeticiones, la probabilidad de amplificarse hacia una mutación completa de un rango de repeticiones mayor de 200, es menor que cuando la premutación tiene un rango de más de 90 repeticiones.

El gen FMR1 se encuentra en la región q27.3 del cromosoma X y por lo tanto, se hereda ligado al X con características especiales pues el incremento del número de tripletes se produce durante las gametogénesis y los hombres aparentemente normales pueden ser hemigóticos para la premutación y transmitir el gen a todas sus hijas, quienes a su vez pueden darle nietos varones afectados por retraso mental sin existir antecedentes familiares del defecto.

Este tipo de mutación explica el fenómeno genético de anticipación o de observación de la aparición más temprana de síntomas en las nuevas generaciones, independientes del sexo del individuo que transmitió la mutación.

La anticipación es un fenómeno usual en enfermedades genéticas progresivas del sistema nervioso central y su presencia es un elemento clínico que obliga a la búsqueda molecular de mutaciones debidas a un incremento de secuencia de bases repetidas.

Desde el punto de vista molecular se describen dos grupos de síndromes debidos a mutaciones dinámicas:

### 1. Expansiones inestables por repeticiones muy largas, fuera de secuencias codificantes.

Enfermedad	Locus	Gen	Alelo N	Premutación	Mutación	Triplete	Defecto molecular
Frágil X	Xq 27.3	FMR1	6-54	50-200	>200-1000	5' CGG, exon 1	Hipermetilación CpG.
Distrofia miotónica	19q13	MD	5-35	42-1000	>1000	3'GTG último exon	Afectan el procesamiento del transcripto primario
Epilepsia juvenil mioclónica	21q22.3	JME	2-3	Intermedio	40-80	5'CGC	Afecta función de promotor
Frágil E	Xq28	FRAXE	6-25	50-200	>200-1000	5'CCG	Hipermetilación CpG.
Ataxia Friedreich	9q13-q21.1	FRDA	6-34	Intermedio	67-1700	Intron 1.	Perdida de GAA función del gen.

## 2. Expansiones CAG de repeticiones más cortas dentro de secuencias codificantes.

Enfermedad	Locus	Gen	Herencia	Alelo N	Mutación
Huntington	4p16.3	HD	AD	6-35	30->1000
Kennedy	Xq21	KD	LXR	9-35	38-62
Ataxia espinocerebelar 1	6p23	SCA1	AD	6-38	32-83
Ataxia espinocerebelar 2	12q24	SCA2	AD	14-31	32-77
Ataxia espinocerebelar 3	14q32	SCA3	AD	12-39	62-86
Machado-Joseph.					
Ataxia espinocerebelar 6	19p13	SCA6	AD	4-17	21-30
Ataxia espinocerebelar 7	3p12-21.1	SCA7	AD	7-35	36-200
Atrofia dentatorubral-palidoluisiana.	12p	DRPLA	AD	3-35	49-88

### *Características comunes a este último grupo*

- Todas tienen una herencia autosómica dominante, excepto la enfermedad Kennedy que tiene una herencia recesiva ligada al cromosoma X.
- El alelo expandido es transcrito y traducido.
- El trinucleótido repetido codifica para un segmento de poliglutamina de la proteína específica de cada enfermedad.
- Hay un umbral crítico de repeticiones por debajo de la cual no es patológico y por encima del cual causa la enfermedad.
- El tamaño de la amplificación de la mutación correlaciona con la edad de comienzo de los síntomas de cada enfermedad, aunque no se puede hacer una predicción en un paciente individual.
- La enfermedad Kennedy se debe a una mutación de un gen para el receptor de andrógeno.

La patogénesis de estas enfermedades parece estar relacionada con la longitud de poliglutaminas. Cuando el segmento excede el umbral normal de repeticiones, se producen agregados de proteínas que pueden matar a las células.

Las diferencias clínicas de cada enfermedad reflejan muerte de células diferentes y la muerte neuronal causada por los agregados de proteínas son un rasgo común a estas enfermedades por repeticiones CAG, así como para las enfermedades de Alzheimer y Parkinson y las enfermedades por priones.

## IMPRONTA GENÓMICA

Investigaciones sobre la expresión genética en diferentes especies de reproducción sexual, incluyendo al humano, han acumulado suficientes evidencias que rompen definitivamente con la creencia de que el genoma haploide, contenido en los gametos, no presenta diferencias que impidan la expresión mendeliana de una mutación. Una nueva categoría genética hace su aparición bajo la denominación de impronta genómica (genomic imprinting) y que se define como la huella, que deja en el genoma del nuevo individuo la contribución cromosómica haploide materna y paterna.

Este fenómeno biológico se identifica como epigenético o sea factores adicionales que no modifican la secuencia del ADN de genes específicos pero que si modifican su expresión.

La metilación del ADN es un importante mecanismo epigenético en el control de la represión de la transcripción de ciertos genes. Este patrón de metilación tiene diferencias en dependencia de que el gen en cuestión sea heredado por vía materna o paterna.

El mecanismo epigenético de impronta genómica, asegura que dentro de una célula, sólo uno de los dos alelos heredados a través de la gametogénesis materna y paterna, se exprese, aun cuando la secuencia de bases de ambos genes se encuentre intacta.

El fenómeno epigenético de impronta genómica es un mecanismo que normalmente ocurre, que puede explicar la competencia de regiones de ADN que actúan como potencializadores o silenciadores de genes comprometidos en el proceso de la embriogénesis.

El gen XIST relacionado con la inactivación de uno de los dos cromosomas X de la mujer, es un ejemplo de un gen ligado al cromosoma X que desarrolla impronta genómica, ya que la expresión del alelo XIST heredado por el gameto materno se encuentra preferencialmente reprimido en los tejidos de origen trofoblásticos. En ejemplos de triploidias, en las que se encuentra una doble dosis del genoma haploide paterno, el tejido trofoblástico se encuentra muy desarrollado.

La evidencia de la impronta genómica se ha venido investigando en la expresión de ciertas mutaciones del humano que tienen una gran diversidad en su expresión.

Esto significa que existen enfermedades genéticas que pueden tener variaciones en su expresión en un rango tan variable que puede ir desde la no expresión hasta una severidad extrema de ésta, dependiendo de que la mutación bajo un control de impronta, haya sido heredada por la vía del padre o de la madre.

Ejemplos de evidencias de impronta genómica en el humano son los síndromes producidos por deleción de la región q11-q13 del cromosoma 15. Atendiendo a que esta aberración

ción cromosómica sea heredada por vía paterna o materna se expresarán los síndromes Prader Willi o Angelman respectivamente, cuyos fenotipos son bien diferentes entre sí.

Otros ejemplos se relacionan con el incremento en la severidad de la expresión fenotípica de la mutación, como se ha planteado en la Distrofia Miotónica, para explicar la forma neonatal que se observa en hijos de madres afectadas y que a su vez, han heredado la mutación por vía materna.

No es difícil comprender ahora, que podrían existir mutaciones de simples genes que se transmiten de acuerdo con las leyes de Mendel pero que al modificarse su expresión en dependencia del origen materno o paterno de la mutación y teniendo como única evidencia el examen clínico de la expresión de la mutación, sea extremadamente difícil encontrar los criterios que nos permitan seguir la segregación de la mutación en cuestión para identificar una herencia mendeliana de las estudiadas previamente.

## **DISOMÍAS UNIPARENTALES**

El descubrimiento de las disomías uniparentales emerge como resultado de observaciones en el uso de la biotecnología en función de caracterizaciones moleculares de diversas mutaciones. No siempre una pareja cromosómica está formada por cromosomas transmitidos en los gametos masculino y femenino. En los años 1988 y 1989 se reportaron dos niños afectados por fibrosis quística que además presentaban una baja talla inusual. Los estudios moleculares detectaron que los cromosomas 7 donde se encuentra el gen de la fibrosis quística de ambos niños fueron heredados de un mismo padre. Después de estos hallazgos las disomías uniparentales son un fenómeno relativamente frecuente. No se sabe cuantas veces una pareja cromosómica es el resultado de una no disyunción en cualquiera de las dos meiosis de la ovogénesis o la espermatogénesis, pero existen numerosas evidencias de que un par cromosómico específico ha sido transmitido por el óvulo o el espermatozoide por una sola vía parental, dando lugar a una disomía uniparental materna o paterna.

La repercusión fenotípica de este fenómeno es objeto de estudio actual y se puede predecir que sus variaciones dependerán de los genes de los cromosomas involucrados y del tipo de disomía que puede ser isodisomías (defecto generado en la segunda meiosis) o heterodisomías (defecto generado en la primera meiosis).

El mecanismo más probable para la producción de disomías uniparentales, es la no disyunción con pérdida del cromosoma procedente del gameto monosómico normal que generaría una trisomía en el cigoto. Es probable que muchos cigotos trisómicos para un determinado cromosoma, elimine a uno de los cromosomas en exceso, a lo que se ha denominado rescate trisómico. El origen del cromosoma eliminado da lugar a cigotos

disómicos con los dos cromosomas procedentes uno de cada progenitor o cigotos con los dos cromosomas de un solo padre o disomias uniparentales.

Cada día aparecen nuevas evidencias de disomias uniparentales de los 23 pares de cromosomas humanos, al menos ya se ha demostrado la presencia de disomias uniparentales para 15 de ellos.

Los síndromes Angelman (happy puppet), Beckwith-Wiedemann (EMG) y Prader-Willi son los ejemplos más estudiados.

## **MOSAICISMOS GERMINALES**

Se trata de mutaciones que aparecen en las células germinales de los progenitores, que a su vez originan gametos afectados con un rango de probabilidades que depende del número de generaciones celulares germinales con la mutación.

Sospecha de este tipo de mutación es la recurrencia de un defecto específico que parece como si fuera una nueva mutación, con carácter dominante y que sin historia familiar anterior se repite en dos o más hijos, aparentando cuando ocurre en la misma pareja, una herencia autosómica recesiva.

El ejemplo más ilustrativo es el de la Acondroplasia, baja talla desproporcionada cuya mutación se caracteriza por un cambio de bases en el gen receptor para el factor de crecimiento fibroblástico 3 (FGFR3). Un simple cambio de una base nitrogenada por otra (G380R o G380A) en el dominio transmembrana de la proteína, se expresa por la displasia ósea que caracteriza a esta mutación.

Se han descrito casos de individuos clínicamente no afectados por esta displasia ósea que han tenido recurrencia de la mutación en la descendencia, en los que se ha demostrado molecularmente mosaicismo de la mutación en tejido gonadal.

Mosaicismos somáticos. Se trata de mutaciones que ocurren a nivel de clones celulares somáticos durante el desarrollo prenatal, ocasionando asimetrías corporales con anomalías de los tejidos involucrados (mosaicismo poscigóticos) o pueden ser posnatales generando en células somáticas tumoraciones.

## **HERENCIA MITOCONDRIAL**

Existen otras mutaciones de simples genes que se diferencian de las anteriores porque el gen afectado o mutado está en el ADN mitocondrial.

Las mitocondrias tienen reproducción intracelular independiente (por fisión) y aunque se encuentran afectados tanto hembras como varones, los hombres afectados no trans-

miten la enfermedad pues el espermatozoide no contribuye con mitocondrias en la fecundación.

Las mitocondrias sólo se transmiten a través del óvulo cuyo citoplasma es mucho más grande (Figura 10.1).

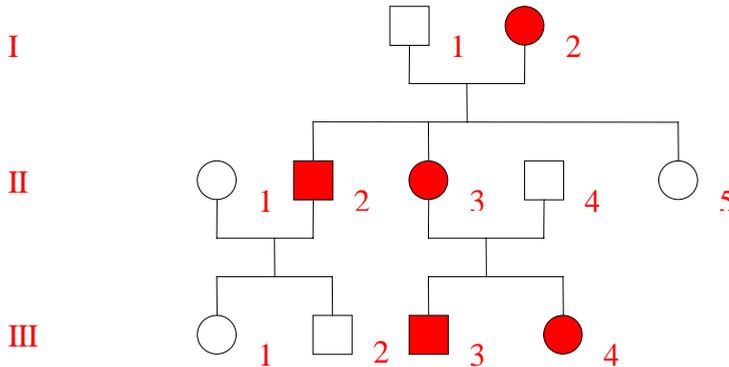


Figura 10.1. Ejemplo de herencia mitocondrial.

Es difícil hacer un análisis predictivo de la probabilidad que una mujer afectada tenga hijos sanos o enfermos pues esto depende del número de mitocondrias normales y anormales de cada óvulo.

El ADN mitocondrial (ADNmt) se encuentra empaquetado en un cromosoma circular que tiene 16 kb de longitud. Cada mitocondria tiene varias copias de este cromosoma y cientos por células. El ADNmt ha sido completamente secuenciado y se conoce que codifica para dos tipos de ARN ribosomal, para 22 ARN de transferencia y para 13 polipeptidos que son subunidades de enzimas que participan en la cadena respiratoria ya que las otras unidades de estas enzimas son codificadas por el ADN nuclear.

Las mitocondrias son distribuidas al azar en las divisiones celulares. Generalmente el ADNmt es idéntico en la mayoría de las personas y a este hecho se le denomina homeoplasma, sin embargo cuando aparece una mutación en este ADN se producen dos tipos de ADNmt, el no mutado y el mutado recibiendo el nombre de heteroplasma. La homeoplasma puede estar presente para el ADNmt no afectado y para el ADNmt mutado, en estos casos todos sus hijos tienen riesgo de padecer la enfermedad. Cuando se trata de heteroplasma existe la probabilidad de que al distribuirse las mitocondrias al óvulo este reciba todas las mitocondrias con el ADN mutado o todas las mitocondrias con el ADN no mutado, por lo cual el individuo puede estar o no afectado. También el óvulo

puede recibir ambos ADN y presentar heteroplasmia. En resumen una mujer afectada por una mutación mitocondrial puede tener hijos no afectados.

Hay heterogenidad en la mutaciones del ADNmt reportadas. Esto unido al porcentaje de mitocondrias con el ADNmt mutado explica la gran expresividad de las enfermedades con este tipo de herencia.

Se han reportado 60 mutaciones mitocondriales. Un ejemplo de este tipo de mutación se observa en "la Anemia Inducida por Cloranfenicol", la Atrofia Optica de Leber, el síndrome Diabetes-Sordera, la sordera inducida por aminoglucósidos, la encefalopatía MELAS, la epilepsia mioclónica MERRF, la cardiomiopatía hipertrófica con miopatía.

## **OTRAS CARACTERÍSTICAS DE LA TRANSMISIÓN DE SIMPLES MUTACIONES Y DE SU EXPRESIÓN**

### **Herencia digénica**

La expresión de un defecto se debe a la coincidencia de genotipo doble heterocigótico para mutaciones que en simple dosis y aisladas no expresan el defecto en cuestión. Un ejemplo se ilustra en casos dobles heterocigóticos para una forma de Retinosis Pigmentaria (RP), donde la persona solamente está afectada por esta tipo de RP, si es heterocigótica además para una mutación del gen "proteína 1 del segmento externo" (RON1) que se encuentra en el cromosoma 11 y ésta coexiste con la mutación del gen que codifica la proteína periferina y que se encuentra en el cromosoma 6.

### **Pérdida de heterocigocidad**

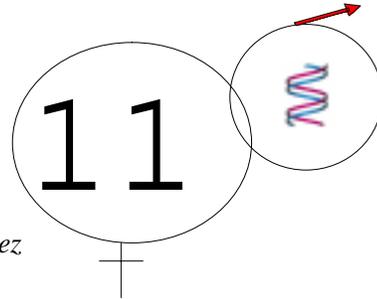
Es un fenómeno característico de la expresión de genes supresores tumorales. Ocurre en diversos tipos de cáncer, donde existe una primera mutación que determina la presencia de un genotipo heterocigótico y una segunda mutación sobre el gen tipo salvaje o no mutado, determinando un genotipo homocigótico recesivo o hemicigótico, si esta segunda mutación determina la pérdida del cromosoma no afectado por la mutación perdiéndose el genotipo heterocigótico y desarrollándose el tumor. Se conoce como "hipótesis de los dos golpes de Knudson". En el retinoblastoma hereditario la primera mutación es germinal, es decir el individuo es heterocigótico para la primera mutación. La segunda mutación tiene un efecto más temprano y en múltiples células, lo que explica que este tipo de tumor maligno se desarrolle, en estos casos, en el primer año de la vida, en ambos ojos y de forma múltiple. Otro ejemplo en el que se observa este fenómeno es en

la neurofibromatosis 1 (NF1). Los neurofibromas que caracterizan a esta enfermedad genética, son el efecto de pérdida de heterocigocidad del gen que expresa la proteína neurofibromina que tiene también función de regulación del ciclo celular resultando ser un gen supresor tumoral.

## **RESUMEN**

Las mutaciones dinámicas, anormalidades del fenómeno epigenético de impronta genómica, las disomías uniparentales, los mosaicismos gonadales y somáticos, y la herencia mitocondrial son fenómenos que dificultan seguir la segregación de una mutación de acuerdo con los criterios clásicos para la identificación de una herencia mendeliana. Pensar en ellos facilita la interpretación de la anticipación, la severidad de la enfermedad selectiva al origen materno o paterno del gen mutado, incomprensiones de la segregación de mutaciones en herencias autosómicas recesivas en las que el individuo homocigótico ha recibido la doble dosis génica de solo uno de los padres heterocigótico para esa mutación. Trasmisión de una aparente mutación de novo en un hijo afectado a un hermano de éste y la trasmisión de las enfermedades a partir de una mujer a hijos de ambos sexos.

## MUTACIONES MONOGÉNICAS QUE AFECTAN A DIFERENTES CLASES DE PROTEÍNAS



Araceli Lantigua Cruz y Rolando Hernández Fernández

*Existe un número enorme de proteínas conocidas y faltan aun muchas por conocer, sin embargo, a los bioquímicos el número actual de proteínas conocidas les ha permitido identificarlas por su estructura y función en al menos siete clases diferentes, cada una de ellas a su vez participan en diferentes funciones celulares y vías metabólicas. En la mayoría, si no en todos los casos, sus funciones se han conocido debido a anomalías de éstas relacionadas con la expresión de enfermedades monogénicas específicas.*

*En este capítulo trataremos aspectos que proporcionen instrumentos generales que permitan al lector comprender y elaborar hipótesis sobre lo que podría esperarse en la patogénesis de enfermedades genéticas, una vez que se identifique la relación entre el efecto pleiotrópico de la mutación y el rol de la proteína afectada en el organismo. De igual forma, este conocimiento permitirá comprender las fronteras entre la clínica y las bases moleculares actuales de estos defectos y las posibilidades de utilizar esta información metabólica en la proyección de nuevos tratamientos que minimicen los efectos indeseables de estas condiciones genéticas.*

### CLASIFICACIÓN DE LAS PROTEÍNAS SEGÚN SU PATRÓN DE EXPRESIÓN

Las proteínas se clasifican en 3 clases según su patrón de expresión:

- Generales y permanentes
- Locales y permanentes
- Locales y temporales

*Generales y permanentes.* A esta clase pertenecen las proteínas denominadas "housekeeping" expresadas en la mayoría de los tejidos. Los genes que codifican para estas proteínas reciben el nombre de genes "housekeeping". Estos genes constantemente se están expresando, pues sus proteínas se requieren en las funciones metabólicas

generales y comunes de la mayoría de las células del organismo; operan en funciones básicas como generar energía o transportar nutrientes.

Las proteínas incluidas en las clases *locales y permanentes* y *locales y temporales* son reconocidas como proteínas especiales, que se expresan en tejidos específicos. Serán *locales y permanentes* cuando su patrón de expresión esté limitado a algunos tejidos de forma permanente y diferencian las funciones del tejido, y *locales y temporales* cuando se expresan en algunos tejidos, pero solamente en respuestas a estímulos específicos y temporales. Los genes especializados que codifican para estas proteínas están en todo el genoma de todas las células, pero solamente se expresan en momentos y lugares específicos durante la vida.

Dentro de estas clases de proteínas y sus genes atendiendo a su expresión, hay otras clases atendiendo a sus funciones específicas:

- Proteínas enzimáticas.
- Proteínas de transporte y almacenamiento.
- Proteínas estructurales de células y de órganos.
- Proteínas involucradas en la homeostasis.
- Proteínas que se expresan durante el desarrollo.
- Proteínas involucradas en la proliferación y diferenciación celular.
- Proteínas que actúan en el metabolismo intercelular y la comunicación entre las células.

## **DEFECTOS DE PROTEÍNAS ENZIMÁTICAS**

Las enzimas son proteínas que catalizan en conversión de un sustrato a un producto específico. En términos generales, un defecto funcional por incompetencia de la proteína enzimática o por su ausencia total afecta la vía metabólica en cuestión y los efectos fenotípicos, van a estar en correspondencia con la función que deja de realizar un producto específico que no llega a producirse en absoluto o que es insuficiente para las cantidades que requiere el organismo, o con el efecto que produce el exceso de un sustrato específico que puede incluso, acumularse en el interior de las células o en espacios intercelulares, o también con la salida alternativa que este trastorno metabólico pueda ocasionar en el organismo, al requerir en ocasiones la apertura de vías metabólicas que habitualmente no son comunes en el organismo. Muchas de las vías metabólicas del organismo funcionan como mecanismos de retroalimentación (feedback) positiva o negativa como ocurre en los funcionamientos hormonales. Un defecto de una proteína

enzimática específica puede ser un mecanismo patogénico que explique la expresión y efecto pleiotrópico de la mutación en estudio.

A los defectos enzimáticos se les denomina errores innatos o congénitos del metabolismo y estos incluyen a:

- Amino ácidos ( Son muchos los defectos metabólicos de los aminoácidos entre los más frecuentes la fenilcetonuria, la homocistinuria)
- Carbohidratos. (Defectos de la enzima galactosa 1 fosfato uridiltransferasa que produce la galactosemia)
- Ácidos orgánicos. (Defectos de la enzima metilmalonil CoA mutasa que produce la aciduria metilmalónica)
- Ácidos grasos. (Deficiencia de acil CoA deshidrogenasa de cadena media)
- Lípidos complejos (Deficiencia de la hexosaminidasa A que produce la enfermedad Tay Sachs)
- Purinas. (Deficiencia de la adenosina desaminidasa causa de la inmunodeficiencia severa combinada)
- Porfirias. (Deficiencia de la porfobilinógeno deaminidasa que produce la porfiria intermitente aguda)

Cada uno de estos grupos de sustratos presenta varios defectos enzimáticos conocidos, pero no es el objetivo de este Capítulo su estudio individual, sin embargo, desarrollaremos a modo de ejemplo el defecto de la enzima fenilalanina hidroxilasa que origina un defecto metabólico, consistente en el exceso del amino ácido fenilalanina o hiperfenilalaninemia cuya forma más frecuente o clásica se conoce como fenilcetonuria o PKU.

La fenilalanina incorporada al organismo por la dieta, se transforma en tirosina por la acción de enzima fenilalanina hidroxilasa y este bloqueo enzimático hace que la concentración de fenilalanina en sangre sea mucho mayor que lo normal. Este exceso del amino ácido se elimina en la orina como ácido fenilpirúvico (fenilcetonuria) dando a la orina un olor peculiar y desagradable, pero también su exceso en sangre afecta el funcionamiento del sistema nervioso central (SNC), manifestándose por convulsiones, conductas anormales y retraso mental severo. Por su parte la tirosina se encuentra en deficiencia en el organismo y a partir de ella se forman pigmentos intermediarios y necesarios para la formación de melanina por lo que estos individuos afectados también se caracterizan por su piel despigmentada y lesiones en la piel.

Podemos generalizar el efecto pleiotrópico de este defecto genético por las siguientes manifestaciones fenotípicas: Anormalidades funcionales del sistema nervioso central, (con-

vulsiones, trastornos de conducta, retraso mental), piel muy blanca con lesiones y orinas con olor peculiar debido a la excreción de ácido fenilpirúvico en ella.

La fenilcetonuria (PKU) fue descubierta por Fölling en el año 1934. Este descubrimiento fue la base del tratamiento actual de la enfermedad, una dieta libre de fenilalanina y su control neuropsicopediátrico estricto es suficiente para variar el efecto pleiotrópico del gen, al menos en su espectro más grave que es el funcionamiento del SNC. Este defecto metabólico tiene una frecuencia en algunas poblaciones de 1/2900 y al obtenerse la experiencia de que los resultados en la mejoría de las manifestaciones clínicas a nivel del SNC, eran más eficaces en la medida en que el tratamiento se instalaba más temprano, se proyectarán los pesquisajes o screening neonatales con el propósito de ofrecer un tratamiento lo más temprano posible.

Sin embargo, por razones incomprensibles había un grupo de niños que a pesar de tener los criterios diagnósticos clínicos y bioquímicos de niveles altos de fenilalanina en sangre no respondían al tratamiento dietético y otros con diagnóstico neonatal de fenilalaninemia no desarrollaban estas manifestaciones aun sin tratamiento.

#### *¿Cómo explicar esta contradicción biológica?*

En estos casos la manifestación clínica inicial es común tanto para la fenilcetonuria clásica o PKU, como la fenilcetonuria denominada maligna como para la fenilcetonuria transitoria, en las tres existe un incremento por encima de los valores normales de fenilalanina en sangre. Esta es una manifestación fenotípica común sin embargo su explicación se corresponde con el fenómeno de heterogeneidad genética:

Ahora se conoce que el gen que codifica la enzima fenilalanina hidroxilasa, se encuentra el locus 12q24.1, que este gen nombrado PAH fue aislado en 1986. Ya se han detectado un gran número de variantes alélicas, algunas de estas mutaciones explican las fenilalaninemias transitorias o benignas, o sea, la explicación a estos eventos se debe a la heterogeneidad alélica del locus de la PHA. Existen más de 400 mutaciones para este locus, esto explica que algunas personas afectadas en lugar de ser homocigóticas para el mismo tipo de mutación, sean lo que se ha dado en denominar genotipos compuestos y que son aquellos que presentan dos mutaciones que expresan la enfermedad, pero que en lugar de ser del mismo tipo son diferentes, pero para el mismo locus. Cuanto mayor número de mutaciones se detecten para el mismo locus mayor probabilidad de existencia de genotipos compuestos.

Por otra parte la fenilalanina hidroxilasa es una enzima que requiere como cofactor a la tetrahidrobiopterina que es utilizada constantemente. Para la síntesis de la tetrahidrobiopterina se requiere de varias enzimas, cuyos defectos génicos son en realidad, la causa de la hiperfenilalaninemia con mala respuesta al tratamiento nutricional utilizado para los individuos afectados por PKU. Los genes conocidos hasta el momento cuyas protei-

nas se requieren para la síntesis de la tetrahidrobiopterina, se encuentran en 10q22, 4p15.31 y 11q22.3. Este es un ejemplo de heterogeneidad genética no alélica, o que también se conoce como heterogeneidad de locus y que se resume como diferentes loci involucrados en un fenotipo similar.

Un grupo de estos defectos enzimáticos corresponde a enzimas que se encuentran localizadas en organelos celulares, como los lisosomas, peroxisomas y mitocondrias y que responden a los términos de enfermedad lisosomal, peroxisomal o mitocondrial.

Los errores congénitos de enzimas lisosomales impiden la degradación de grandes moléculas de gangliósidos, mucopolisacáridos o mucolípidos. En sentido general, estos defectos no se identifican en el recién nacido, sino que debido a la imposibilidad de degradar a estas macromoléculas, se produce un almacenamiento de las mismas afectando primero a las células y después a los tejidos y órganos, por lo que las personas que padecen de ellas van sufriendo de un deterioro progresivo que inexorablemente las lleva a la muerte en edades tempranas de la vida.

Los defectos enzimáticos casi siempre son de expresión recesiva, o sea, se requiere de una doble dosis del gen afectado, pues la presencia del gen no mutado en una simple dosis es suficiente para la producción de las cantidades necesarias de estas proteínas, para lograr un metabolismo adecuado, por lo que las personas con genotipos heterocigóticos para estos tipos de mutaciones, son clínicamente asintomáticos.

Los defectos enzimáticos que producen altas concentraciones de pequeñas moléculas afectan, de manera general, a tejidos incluso no involucrados en estos defectos metabólicos, debido a la difusión de estas sustancias en el organismo, sin embargo, los defectos metabólicos que involucran a grandes moléculas dañan generalmente a los tejidos específicos involucrados, ejemplos de estas consecuencias son la fenilcetonuria y las mucopolisacaridosis respectivamente.

Una persona afectada puede tener una pérdida de funciones en más de una enzima si la enzima:

- Usa el mismo cofactor y el defecto o deficiencia es de este. (deficiencia de tetrahidrobiopterina).
- Si comparte una subunidad común o proteína activadora, procesadora o estabilizadora.
- Si las enzimas son procesadas por una enzima modificadora común y en su ausencia ser todas inactivadas.
- Si son enzimas que funcionan en el interior de un organelo y la biogénesis del mismo está dañada.

## **PROTEÍNAS DE TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO**

El ejemplo más ilustrativo de anomalías en proteínas de este tipo son las hemoglobinopatías, ya que la hemoglobina es una proteína de transporte de oxígeno que funciona a nivel de todos los tejidos. La sickleemia, las talasemias y sus variantes son ejemplos clásicos.

Otras proteínas transportan oligoelementos intracelulares como el cobre y cuando sus genes sufren mutaciones dan lugar a enfermedades como el síndrome Menkes, otras son proteínas de transporte en organelos membranosos, como es el caso del transportador lisosomal de la cisteína cuya anomalía ocasiona la cistinosis, o puede tratarse de anomalías en proteínas de membrana epiteliales, como las proteínas de canales de cloruro cuya afectación produce la fibrosis quística.

## **PROTEÍNAS ESTRUCTURALES DE CÉLULAS Y DE ÓRGANOS**

Estas son proteínas comprometidas como su nombre indica en la estructura de tejidos y células.

Proteínas estructurales de órganos se encuentran a nivel extracelular; como el colágeno, la fibrilina, la elastina son ejemplos de estos tipos de proteínas, generalmente son ensambladas fuera de las células para formar fibras que tienen funciones por sí mismas o que forman parte de estructuras más complejas. Esto significa que los defectos genéticos que se presentan suelen ser heterocigotos y presentarse en diferentes pasos, desde la síntesis de su ARNm, su traducción, salida al exterior de la célula y terminación extracelular de su estructura tridimensional final.

Las mutaciones que afectan a estos tipos de proteínas se expresan como caracteres dominantes.

Un ejemplo de este tipo de defecto lo constituye el síndrome Marfan. El defecto genético se encuentra a nivel del locus *FBN1*, cuyas mutaciones se expresan en moléculas de fibrilina anormales, que a nivel extracelular se ensamblan de manera inadecuada afectando la estructura de la fibrilina molecularmente normal expresada por el cromosoma que no tiene la mutación y dando lugar al efecto pleiotrópico que caracteriza a esta enfermedad.

Las moléculas de fibrilina forman microfibrillas que sirven de encofrado al depósito de elastina y otras moléculas proteicas del tejido conectivo, y que forman la capa media

de las grandes arterias como la aorta, también están involucradas en el tejido óseo y son las fibras que forman la zónula o ligamento que sostiene al cristalino en su lugar.

Un defecto estructural del gen de la fibrilina tiene un efecto pleiotrópico que explica las características fenotípicas de este síndrome, dadas por alta talla y múltiples defectos óseos, producto de crecimiento exagerado prepuberal y debilidad de capsulas articulares, dilatación importante de la raíz de la aorta y aneurismas aórticos fusiformes o disecantes y defectos visuales debidos a la subluxación de los cristalinos.

Dentro del grupo de mutaciones de genes de proteínas estructurales celulares se encuentran los defectos de la distrofina. El gen que codifica para esta proteína es extremadamente grande su locus se encuentra en Xp21.2 y 2300 kb el 1.5 % del ADN de este cromosoma.

El 60 % de sus mutaciones se corresponden con deleciones de diferentes tamaños que incluyen desde la pérdida de un exón hasta de todo el gen.

La heterogeneidad alélica más importante se relaciona con el tipo y localización de las mutaciones y las alteraciones estructurales de la distrofina. Se describe, además de la distrofia muscular Duchenne, la distrofia muscular Becker y su fenotipo difiere fundamentalmente por su severidad clínica y tejido muscular afectado.

Las mujeres heterocigóticas para estos tipos de distrofias musculares, generalmente no padecen de la enfermedad, sin embargo en ocasiones, por defectos en la inactivación aleatoria de los cromosomas X hay mujeres heterocigóticas que expresan importantes síntomas de la enfermedad.

## **PROTEÍNAS INVOLUCRADAS EN LA HOMEOSTASIS**

Se describen en esta clase las proteínas con función de protección inmune, como las involucradas con el sistema de complemento, entre las que se encuentran la deficiencia del complemento C3 y que se expresa por infecciones bacterianas recurrentes; las proteínas que intervienen en la coagulación como el factor VIII, cuya deficiencia se expresa como la hemofilia A; las proteínas inhibidoras de proteasas como la alfa 1 antitripsina que cuando presenta mutaciones deficientes se expresa por enfermedad pulmonar obstructiva y defectos de función hepática.

## **PROTEÍNAS QUE SE EXPRESAN DURANTE EL DESARROLLO**

En esta clase de proteínas se encuentran factores de transcripción, cuyas mutaciones génicas dan lugar a defectos congénitos como mutaciones del gen PAX6 que expresan un defecto de desarrollo del iris denominado aniridia; moléculas señalizadoras o recepto-

res de moléculas señalizadoras, como los defectos del gen de la polaridad de segmentos denominado *sonic hedgehog* que se expresa como holoprosencefalia dentro de las primeras y mutaciones del gen del receptor del factor de crecimiento fibroblástico 3 (FGFR3) que se expresa como acondroplasia en la segunda y proteínas ribosomales como el defecto de S19 que expresa la anemia congénita Diamond-Blacfan.

## **PROTEÍNAS INVOLUCRADAS EN LA PROLIFERACIÓN Y DIFERENCIACIÓN CELULAR**

Los genes que codifican para estos tipos de proteínas ejercen control positivo y negativo en la regulación de las divisiones celulares. Han sido detectadas en investigaciones sobre el cáncer, son de dos tipos fundamentales los oncogenes y las proteínas supresoras tumorales. Las primeras son el resultado de mutaciones en genes denominados protooncogenes y las segundas son codificadas por genes denominados supresores tumorales. La neoplasia endocrina múltiple o MEN 2 es un ejemplo conocido que ilustra defecto del tipo proteínas receptoras tirosina quinasa (oncogen Ret) y el retinoblastoma tumor ocular maligno de la infancia expresado por mutaciones que afectan la función de una proteína del tipo supresora tumoral.

## **PROTEÍNAS QUE ACTÚAN EN EL METABOLISMO INTERCELULAR Y LA COMUNICACIÓN ENTRE LAS CÉLULAS**

Estas son proteínas con funciones muy especiales, en esta clase están incluidas proteínas del tipo de canales que comunican células -células como las conexinas, mutaciones de la conexina 26 son responsables de un tipo de sordera no sindrómica.

*Proteínas receptoras de metabolitos con funciones intercelular* como los receptores de lipoproteínas de baja densidad las mutaciones de los genes que codifican para estos tipos de proteínas producen la hipercolesterolemia familiar .

*Proteínas receptoras de luz* como la rodopsina, mutaciones de los genes de la rodopsina producen un tipo de retinosis pigmentaria del tipo autosómico dominante. Mutaciones de los genes de la hormona de crecimiento expresan una forma de baja talla extrema o enanismo. Se encuentran también en esta clase, las proteínas de receptoras de hormonas que cuando presentan mutaciones en sus genes pueden dar lugar a defectos de insensibilidad a andrógenos, como el síndrome de feminización testicular y por último los

defectos de proteínas transductoras de señales que dan lugar a síndromes como el pseudohipoparatiroidismo.

La interacción del genoma con el ambiente es fácilmente comprensible cuando un individuo se pone en contacto con drogas específicas. Es en estos casos que las clases de proteínas específicas atendiendo a su expresión se declaran como locales y temporales. A este aspecto de la genética bioquímica se le denomina farmacogenética. Dos ejemplos pueden ilustrar los defectos de esta clase de proteínas:

*La hipertermia maligna y de deficiencia de G6PD (glucosa 6 fosfato deshidrogenasa):* La hipertermia maligna tiene una herencia autosómica dominante, pero solamente se expresa de manera dramática como respuesta a la inhalación de anestésicos como el halotano y de relajantes musculares, como la succinilcolina provocando una hipertermia muy severa, contracción muscular e hipermetabolismo. Es una importante causa de muerte en la anestesia. La anomalía fisiológica consiste en una elevación de calcio en el sarcoplasma de la célula muscular. La mayoría de los casos están asociados con una mutación en el gen denominado RYR1 que codifica para una proteína del canal de liberación de calcio.

La glucosa 6 fosfato deshidrogenasa es una enzima cuyo gen se encuentra ligado al cromosoma X. Los hombres hemigóticos para variantes deficientes del alelo normal, se ponen a riesgo de padecer de una anemia severa tras la ingestión de drogas, como la primaquina utilizada contra la malaria o cuando comen judías blancas, de ahí que a este defecto se le denomine también como favismo. Las diferencias entre la anemia que se produce frente a la droga antimalárica y el favismo se deben a que en el favismo la mutación es más severa. Las manifestaciones clínicas son la anemia hemolítica e íctero.

*Respuesta al metabolismo del alcohol:* El alcohol se degrada en el hígado por la enzima alcohol deshidrogenasa (ADH) a acetaldehído y posteriormente este metabolito secundario es degradado por la acetaldehído deshidrogenasa (ALDH). Existen dos variantes de ALDH: 1. que se encuentra en el citoplasma celular, y 2. que actúa en las mitocondrias. En los asiáticos se tolera muy mal el alcohol debido a que en esta población la ALDH 2 está ausente con alta frecuencia, por lo que se piensa que esta es la causa de que en estas poblaciones se encuentre la menor incidencia de alcoholismo y de enfermedad hepática secundaria al consumo excesivo de alcohol.

## **RESUMEN**

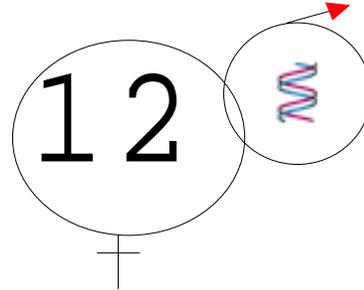
La heterogeneidad genética alélica y no alélica, y más recientemente la acción de genes modificadores, son fenómenos biológicos que explican la variación fenotípica de la mayoría de los defectos proteicos a los que se ha hecho mención en este capítulo.

Para los defectos enzimáticos son más frecuentes las herencias recesivas, mientras que para los defectos de proteínas estructurales extracelulares y los defectos de receptores de membrana son más frecuentes las herencias dominantes.

La comprensión a nivel molecular, de los defectos genéticos propios de los errores congénitos del metabolismo y de otras clases de proteínas agrupadas así por sus funciones celulares, no solo contribuyen al conocimiento de la biología humana, sino también a fundamentar tratamientos más efectivos para estas enfermedades.

# MÉTODOS Y APLICACIONES DEL ADN RECOMBINANTE

*Estela Morales Peralta*



*Como ya fue estudiado, la aplicación de las técnicas citogenéticas permiten identificar las alteraciones cromosómicas, numéricas y estructurales, así como interesantes mecanismos biológicos que explican la patogenia de muchas enfermedades. Para conocer la localización y caracterización de los genes que se expresan como caracteres diversos del organismo humano, normales y patológicos, se requiere de la aplicación de las técnicas del ADN recombinante, que incluyen dos tipos principales: las de clonación y las de análisis del ADN. Estos procederes han revolucionado la Genética Médica, ampliando las posibilidades diagnósticas y la esperanza en una nueva terapéutica.*

*En este capítulo se analizan las herramientas en las cuales se basa esta nueva tecnología, las principales técnicas que se aplican, su interpretación y la utilidad de estos procederes en el análisis de ligamiento en humanos.*

## CLONACIÓN DEL ADN

Se nombra clonación a todos aquellos procedimientos que tienen como objetivo obtener múltiples copias idénticas (o casi idénticas) de moléculas, células, etc. Estos procedimientos son indispensables cuando se necesita tener un número grande de moléculas o células para estudios posteriores. Así, la clonación del ADN se refiere a los procedimientos encaminados a obtener numerosas copias idénticas (o casi idénticas) de un fragmento específico de ADN. En general, estos procedimientos son de dos tipos: Los realizados *in vivo* y los que se hacen *in vitro*. La clonación *in vivo* es aquella que se realiza en organismos vivos (casi siempre microorganismos) para la reproducción del ADN. Por su parte la clonación *in vitro* emplea componentes celulares aislados para realizar este propósito. El procedimiento por excelencia que para la clonación *in vitro* es la reacción en cadena de la polimerasa o PCR (del inglés Polymerase Chain Reaction). A continuación se describen los fundamentos de estos dos procedimientos.

## Clonación in vivo

Para la clonación in vivo, el ADN que se desea clonar se transfiere a una célula con la ayuda de un vector. El vector es otra molécula de ADN que tiene la propiedad de poder replicarse de forma autónoma. Cuando se usa solamente con este propósito recibe el nombre de vector de clonación. Para la formación del vector de clonación además de las moléculas de ADN se requiere del uso de enzimas de restricción y de ADN ligasas.

## Enzimas de restricción y ligasas. Su papel en la clonación

Las enzimas de restricción son endonucleasas de origen bacteriano, que constituyen en estos organismos un mecanismo de defensa contra los ADN extraños. Existen al menos tres tipos de estas enzimas, pero las más empleadas en la construcción de vectores son las de tipo II, porque cortan el ADN de doble hebra en determinados sitios de una secuencia específica de nucleótidos. Estas secuencias suelen ser palindrómicas, es decir, secuencias idénticas en ambos sentidos de las dos hebras del ADN. Son isoesquizómeros aquellas enzimas de restricción que reconocen la misma secuencia. La mayoría de las enzimas de restricción de tipo II reconocen sitios de 4 a 6 pares de bases.

En la actualidad se conocen más de 1000 enzimas de restricción. La tabla número 12.1 ilustra los sitios de corte de alguna de ellas. Las enzimas de restricción se nombran de acuerdo con el microorganismo de donde provienen. La primera letra, en mayúsculas, es la inicial de la especie; las dos letras siguientes, en minúsculas, el género, seguidas por un número romano de acuerdo con el orden de su descubrimiento. De acuerdo con la forma en que las enzimas cortan al ADN dentro del sitio de reconocimiento se originan dos tipos de extremos. Si el corte se produce en el mismo lugar en las dos hebras se forman extremos romos, pero si se produce en lugares diferentes genera un pequeño sector monofibrilar conocidos como extremos cohesivos. (Figura 12.1). Estos segmentos monofibrilares pueden contener bien el extremo 3' bien el 5'.

Cuando se exponen moléculas de ADN de distintos orígenes a una misma enzima de restricción, que genere extremos cohesivos, se producen fragmentos que son complementarios. Si estos ADN se ponen en contacto esos sectores complementarios tienden a aparearse y las dos moléculas pueden ser unidas. Para esto último se requiere de enzimas ADN ligasas que catalizan la unión de fragmentos de ADN donde solamente falte un enlace fosfodiéster, si estas hebras forman parte de una molécula bifibrilar. La unión de estos fragmentos de ADN de distinto origen produce lo que se conoce como *ADN recombinante*.

## Vector

Un vector es una molécula de ADN que puede replicarse autónomamente dentro de una célula hospedera, de la cual puede aislarse de forma pura para su análisis. La clonación de fragmentos de ADN humano en un vector, permite la multiplicación del mismo en millones de copias, ya que el vector que se replica puede producir un alto número de copias por cada célula y porque la bacteria o levadura puede crecer indefinidamente en el laboratorio. Entre los principales vectores se encuentran: los plásmidos, los bacteriófagos y los cromosomas artificiales de levadura o YAC (del inglés yeast artificial chromosome). Estos vectores difieren, entre otras características, en el tamaño del ADN de interés que permiten insertar para obtener las copias deseadas (Figura 12.2).

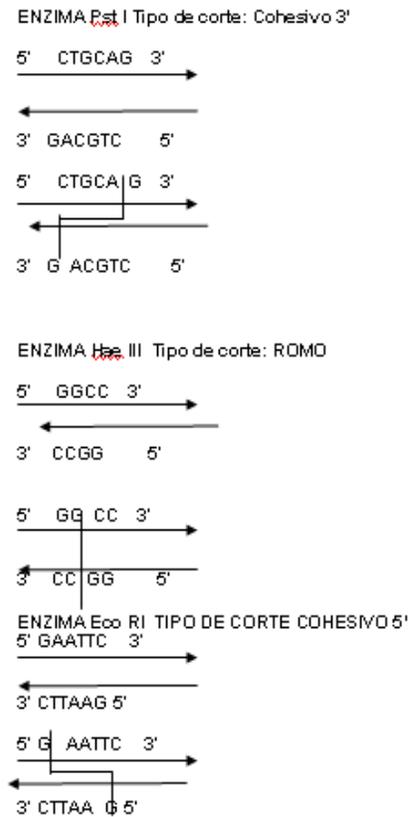


Figura. 12.1. Tipos de corte de las enzimas de restricción. Observe que la secuencia de bases de ambas hebras del ADN son idénticas en relación al eje de corte, por ello se dice que las secuencias son palindrómicas.

**Tabla 12.1 Enzimas de restricción**

NOMBRE DE LA ENZIMA	BACTERIA DE ORIGEN	SECUENCIA RECONOCIDA Y PUNTOS DE CORTE (1)	TIPO DE EXTREMOS
Bal I	<i>Brevibacterium albidum</i>	-T-G-G/C-C-A- -A-C-C\G-G-T-	Romos
Bam HI	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> H	-G/G-A-T-C-C- -C-C-T-A-G\G-	Cohesivos, cola 5'
Eco RI	<i>Escherichia coli</i> EY13	-G/A-A-T-T-C- -C-T-T-A-A\G-	Cohesivos, cola 5'
Hae III	<i>Haemophilus aegyptus</i>	-G-G/C-C- -C-C\G-G-	Romos
Hin dIII	<i>Haemophilus influenzae</i> Rd	-A/A-G-C-T-T- -T-T-C-G-A\A-	Cohesivos, cola 5'
Not I	<i>Norcadia otiditis caviarum</i>	-G-C/G-G-C-C-G-C- -C-G-C-C-G-G\G-G-	Cohesivos, cola 5'
Pst I	<i>Providencia stuartii</i>	-C-T-G-C-A/G- -G\A-C-G-T-C-	Cohesivos, cola 3'
Pvu II	<i>Proteus vulgaris</i>	-C-A-G/C-T-G- -G-T-C\G-A-C-	Romos
Sma I	<i>Serratia marcescens</i> Sb	-C-C-C/G-G-G- -G-G-G\G-C-C-	Romos
Xho I	<i>Xantomonas holcicola</i>	-C/T-C-G-A-G- -G-A-G-C-T\C-	Cohesivos, cola 5'

Los plásmidos son moléculas de ADN circulares que se replican de forma independiente al ADN cromosómico en bacterias y levaduras. Son portadores de genes no cromosómicos entre ellos aquellos que confieren resistencia a antibióticos, característica muy aprovechada para identificarlos. Los plásmidos pueden incorporar fragmentos de ADN hasta de 10 kb de longitud.

Los bacteriófagos son virus compuestos por un ADN de doble hebra relativamente largo, cubierto por proteínas. Infeccionan las bacterias al inyectar su ADN y dejando fuera de la bacteria sus proteínas. Aprovecha el aparato metabólico de la bacteria para la replicación de su ADN. Los bacteriófagos admiten ADN extraño hasta de 50 kb de longitud.

Los cromosomas artificiales de levadura o YAC constan de todos los elementos necesarios para su replicación, como son, las secuencias de replicación autónoma, los centrómeros y los telómeros. En ellos se han logrado insertar moléculas de ADN de varios centenares de kb.

## Transformación del organismo huésped y obtención del ADN específico

Cuando un vector ha sido bien construido su introducción en una célula determinada provoca cambios en el fenotipo de ésta, fenómeno conocido como transformación. El fenotipo transformado es el que permite identificar cuales células han captado el vector y cuales no. Por ejemplo, si una célula es sensible a la tetraciclina y el vector contiene un gen de resistencia a ese antibiótico se produce la transformación de una célula sensible en una resistente. Serían las células resistentes a la tetraciclina las que incorporaron el vector de clonación que fue diseñado. Una vez dentro de la célula el vector se replica y su resultado es la obtención de múltiples copias del ADN de interés.

Como la membrana de estos organismos generalmente no es permeable a grandes moléculas, se requiere su modificación mediante la exposición a ciertas sales de calcio o voltajes elevados para lograr la penetración del vector. Este ADN recombinante se replica en las células huéspedes, colocadas en medio de cultivo adecuado, hasta lograr tener el número deseado de copias idénticas (Figura 12.2).

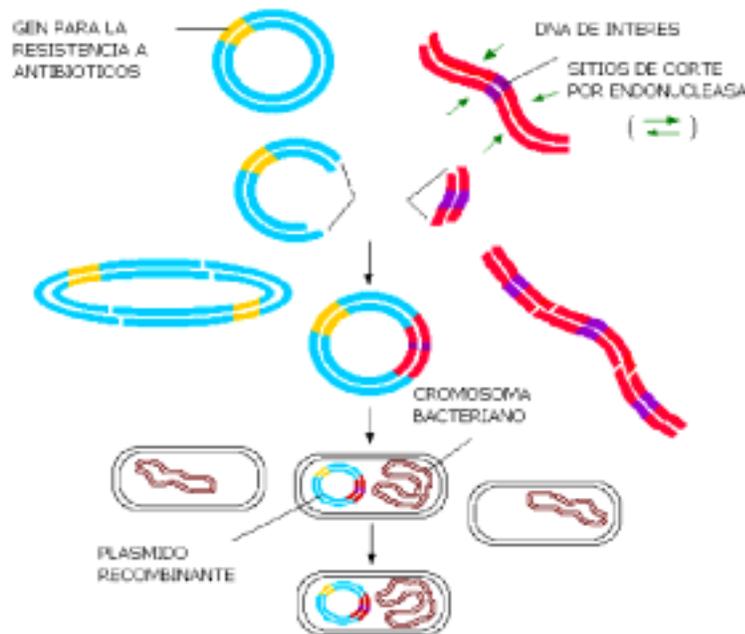


Figura. 12.2. Si se expone el ADN de interés y el vector a la misma enzimas de restricción que generen extremos monofibrilares pueden unirse una a otra a sus secuencias complementarias mediante la acción de enzimas ligasas lo que crea una molécula de ADN recombinante, es decir, de dos orígenes distintos: el vector y la secuencia de interés, que puede ser humana.

Para poder seleccionar las células que han incorporado el vector, éste habitualmente se construye en ADN que contienen genes de resistencia a determinados antibióticos. Por ejemplo, puede construirse el vector con un plásmido que porta los genes que confieren resistencia a la tetraciclina y a la ampicilina. Se selecciona la enzima de restricción que corte el ADN precisamente en el interior de uno de estos genes (digamos el de la tetraciclina). Si se toma como hospedera una bacteria sensible a ambos antibióticos se logrará la transformación deseada pues aquellas que incorporen el plásmido se transforman en resistentes a la ampicilina. Si las bacterias se hacen crecer en un medio al cual se ha añadido la ampicilina, solamente podrán crecer adecuadamente las células que incorporaron el plásmido. Las bacterias que incorporaron el plásmido donde no se produjo la recombinación, serán resistentes a ambos antibióticos. Para identificarlos se hace una réplica de la placa de cultivo. Colocando un material absorbente (puede ser papel de filtro) sobre la placa para que algunas bacterias se adhieran a él y después cuidadosamente, se colocan sobre otra placa de cultivo que contiene la tetraciclina. Las colonias que aparecen en la placa original y que no aparecen en la replica son las sensibles a la tetraciclina y por lo tanto las que incorporaron el vector. Estas colonias se siembran de nuevo en un medio enriquecido para lograr su rápido crecimiento.

Las colonias de bacterias que poseen una secuencia específica pueden ser seleccionadas también al transferir su ADN a filtros de nitrocelulosa, y desnaturalizarlos para obtener ADN de una sola hebra, que se pueden hibridar con *oligonucleótidos* marcados radioactivamente (*sondas moleculares*) y así detectar las colonias que contienen la secuencia específica y cultivarlas aparte. Las *sondas moleculares* son moléculas de ADN de una sola hebra que se obtienen por síntesis artificial a partir de sus nucleótidos componentes. Las sondas se utilizan para localizar una secuencia específica de ADN. Al desnaturalizarse el ADN sus dos hebras se separan, si se añade una sonda cuya secuencia sea complementaria a un sector de ese ADN, la sonda se unirá al mismo por complementariedad de bases. Como la sonda está marcada con isótopos radiactivos o reactivos fluorescentes, se puede localizar con relativa facilidad.

## **MÉTODOS DE ANÁLISIS MOLECULAR**

Los métodos de análisis molecular difieren de acuerdo con el tipo de molécula al cual se aplican, ADN, ARN o proteínas. Entre ellos se encuentran:

- Para el análisis del ADN se aplican fundamentalmente:
  - . Método de Southern (Southern blotting).
  - . Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).
  - . Los estudios de ligamiento.
  - . La secuenciación.
- Para el estudio de ARNm:
  - . Northern blotting.
- Para el estudio de las proteínas:
  - . Western blotting.

Los estudios moleculares pueden ser directos o indirectos. Se practican estudios moleculares directos cuando el objetivo es la búsqueda o identificación de las mutaciones específicas, tal como se realiza en los siguientes procedimientos:

- Southern Blotting para detectar deleciones en genes.
- Southern Blotting y análisis con enzimas de restricción para detectar mutaciones puntuales que alteran sitios de restricción.
- Reacción en cadena de la polimerasa, ya sea seguida de digestión por enzimas de restricción, o amplificación alelo específica, para detectar mutaciones previamente caracterizadas.

Son ejemplo de pruebas moleculares indirectas las realizadas por ligamiento usando los polimorfismos de ADN como marcadores moleculares. Ampliemos más en los fundamentos de estas técnicas.

### **Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**

En 1985 Saiki Mullis y sus colaboradores describieron una técnica conocida como PCR, que consiste en la amplificación in vitro de secuencias específicas de ADN. Mediante este procedimiento se pueden generar grandes cantidades de un fragmento de ADN, a partir de una cantidad mínima del mismo. Por lo tanto el PCR es una forma de clonación in vitro de un segmento de ADN.

Se basa en la propiedad que tiene las dos cadenas de ADN de disociarse y reasociarse por calentamiento y enfriamiento. Consiste en la práctica en ciclos que constan de las siguientes etapas (Figura 12.3):

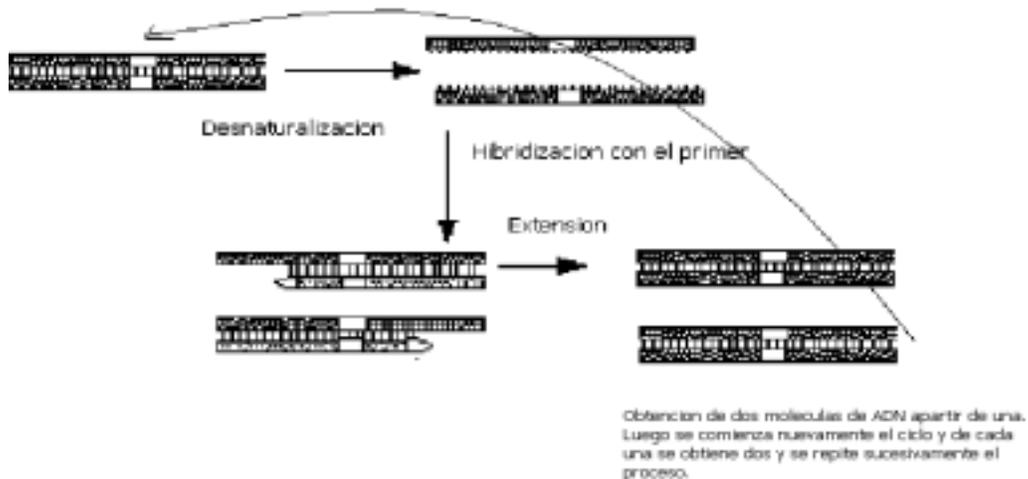


Figura 12.3. Reacción de la cadena de la polimerasa. Observe que de acuerdo con el número de ciclos efectuados el número de copias de ADN aumenta en progresión geométrica.

1. La desnaturalización: Es la primera fase del ciclo, se separa la doble cadena de ADN por calor (aproximadamente 94 °C).
2. Alineamiento o hibridación: Es la unión con los dos cebadores a sus secuencias complementarias. Los cebadores o primers hibridan de forma específica, o sea, se unen a las dos hebras complementarias del segmento de ADN que se desea amplificar, de forma que flanquean sus extremos; es decir, sirven para definir los extremos del segmento de ADN. La mayoría de los cebadores contienen entre 18 y 30 bases. Si bien pueden ser diseñados manualmente en la mayoría de los casos se utilizan programas informáticos.
3. Síntesis o extensión de ADN: Una ADN polimerasa en presencia de exceso de trifosfatos de desoxirribonucleótidos alarga los cebadores incorporando los desoxinucleótidos cuyas bases sean complementarias a la hebra que le sirve de molde. La ADN-polimerasa más utilizada en el PCR es la que se obtiene del microorganismo *Thermus aquaticus* (llamada Taq polimerasa). Esta enzima es termoestable lo que le permite la síntesis del ADN a temperaturas por encima de los 70 °C y resiste los 94-95 °C, necesarios para la fase de separación de las dos hebras de ADN. Las etapas de hibridación y síntesis requieren una temperatura más baja que puede estar entre 50-60 °C y 72 °C, para una y otra, respectivamente.

El número de ciclos de un PCR depende de la cantidad de ADN del que se parte y las cantidades finales, pero no debe ser mayor de 50. Con sólo 20 a 30 ciclos del proceso descrito, se pueden obtener varios millones de copias de la secuencia de interés, flanqueada por los cebadores utilizados en la amplificación.

Si bien la reacción de PCR se puede realizar manualmente, en los últimos años se ha generalizado el uso de termocicladores programados, mediante los cuales se logra la automatización de este proceso en menos de 3 horas.

Los productos que se obtienen del PCR pueden separarse mediante electroforesis en gel de agarosa o poliacrilamida. La selección de uno u otro depende del tamaño de los segmentos a separar, los que se visualizan generalmente con bromuro de etidio o tinción con plata.

Una vez obtenida la secuencia de ADN amplificada por PCR, se debe proceder a la identificación de mutaciones o variantes polimórficas puntuales por medio de análisis con enzimas de restricción. En este caso, la presencia de la mutación en el ADN problema se visualizará por la pérdida o ganancia de un fragmento de restricción, según si la mutación destruya o cree una diana para la enzima utilizada. También pueden utilizarse cebadores específicos para cada alelo, no requiriendo estas técnicas el uso de enzimas de restricción.

Una de las principales desventajas del PCR es la posibilidad de contaminación, lo cual debe tener presente quien desarrolle esta técnica.

#### *Aplicaciones del PCR*

Tiene una utilidad extraordinaria para el diagnóstico preciso de los trastornos hereditarios cuyos defectos moleculares hayan sido definidos. También se ha aplicado en la detección de patógenos infecciosos y la identificación de heterogeneidad genética asociada a enfermedades.

Con la reacción en cadena de la polimerasa, se pueden realizar estudios con escaso material genético, como pueden ser gotas de sangre seca, pelos, semen, etc., así como muestras de archivo, como bloques de tejidos en parafina y fijados en formol, lo que permite importantes trabajos retrospectivos y una amplia aplicación en técnicas forenses.

#### **Método de Southern (Southern Blotting)**

Este método fue descrito por Edward Southern en 1975, de ahí su nombre. Se basa en la transferencia por capilaridad de fragmentos de ADN digeridos con enzimas de restric-

ción, separados por electroforesis en gel de agarosa. La corrida electroforética permite separar los múltiples fragmentos obtenidos de acuerdo con su peso molecular. Los más ligeros migran o se separan más del origen donde se aplicó la muestra, mientras que los más pesados quedan más cercanos al origen. Luego se procede a la separación de la doble hélice mediante la desnaturalización alcalina. Estas cadenas simples de ADN se transfieren por capilaridad, tal como ocurre con la tinta en un papel secante (de ahí la palabra blotting o mancha), a un soporte sólido que puede ser un filtro de nylon o de nitrocelulosa. Posteriormente, el filtro se hibrida con una sonda marcada radioactivamente, específica del fragmento de ADN que queremos analizar y, después de lavar para eliminar el exceso de sonda que no ha hibridado con los fragmentos de interés, se exponen a una placa fotográfica en un cassette con pantalla amplificadora y se someten a 70°C centígrados durante 48 a 72 horas, lo que permite visualizar los fragmentos de interés al revelar la placa (Figura 12.4).

### Northern Blotting y Western Blotting

Luego del Southern Blotting se describieron las técnicas para el estudio molecular del ARN y de las proteínas. Como analogía en su denominación con la primera (Southern en

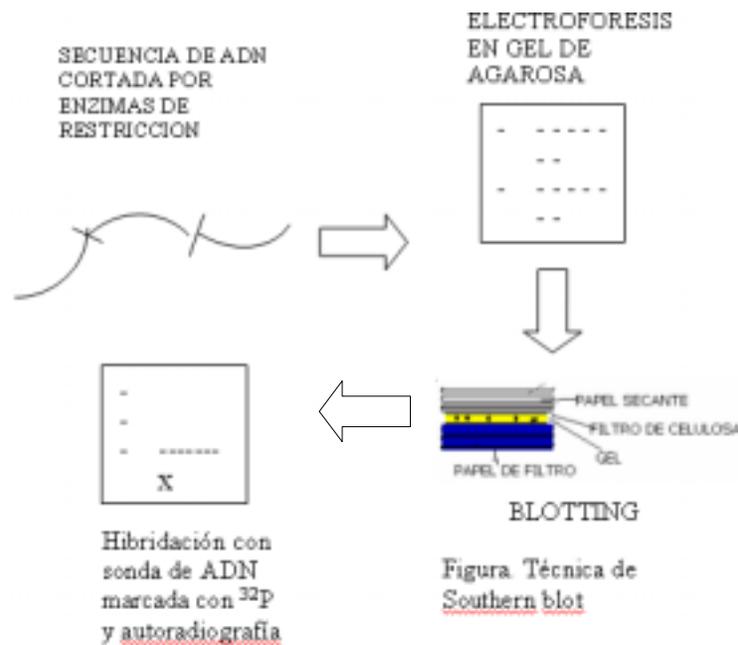


Figura. 12.4. Esquema que representa el procedimiento de transferencia de ADN (Southern blotting). Los detalles se explican en el texto.

Inglés significa en el sur) se prefirió denominarlas Northern blotting y Western blotting (que en inglés significan en el norte y en el oeste, respectivamente).

El Northern blotting es el estudio de ARNm mediante electroforesis en geles de agarosa desnaturalizantes. La transferencia del ARN a un filtro de nylon se realiza del mismo modo que en el método de Southern, aunque en este caso no es necesario realizar el tratamiento de desnaturalización con hidróxido sódico, pues el ARN es un ácido nucleico de hebra simple. El ARN transferido al filtro de nylon se hibrida del mismo modo que el ADN. Este método, denominado Northern blotting, permite confirmar la presencia de un ARN determinado en un tejido, conocer el tamaño del transcripto y apreciar el nivel de expresión de un gen, a la vez que observar fragmentos de ARN inmaduros. En ciertas ocasiones es posible observar la presencia de varios ARNm para un mismo gen, los cuales pueden aparecer debido al uso de lugares de empalme alternativo, a la existencia de lugares de poliadenilación distintos, al empleo de varios promotores o a otros mecanismos.

Por medio del Western blotting se puede obtener información sobre el tamaño de la molécula proteínica, así como de la cantidad de la proteína sintetizada. Ello se logra mediante el aislamiento de la proteína extraída de las células, separada, según la masa molecular, mediante electroforesis en gel de poliacrilamida y luego transferida a una membrana que se incuba con anticuerpos que reconocen específicamente la proteína de interés la cual puede ser el producto de un gen mutado. La reacción antígeno anticuerpo puede ser detectada por un segundo anticuerpo dirigido contra el primero y que presenta una marca que permite localizarlo, con el empleo de métodos histoquímicos, fluorescentes o por radiaciones. Un ejemplo de uso de esta técnica es su aplicación para detectar la distrofina en los pacientes con distrofias musculares ligadas al X.

## **ESTUDIOS DE MARCADORES MOLECULARES POR LIGAMIENTO**

Existen varios procedimientos para el estudio indirecto del gen mutado. Todos ellos se basan en la asociación (ligamiento) entre secuencias del ADN que no siempre pertenecen al gen buscado y éste. La lógica del pensamiento es la siguiente, si el gen mutado está generalmente acompañado de una secuencia determinada fuera de él, la presencia de esta secuencia es un indicador indirecto de la presencia del gen mutado. El uso de estos procedimientos serán estudiados en el capítulo 13. Aquí solamente haremos una breve referencia a uno de ellos.

### **Polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción**

Este procedimiento consiste en extraer el ADN y fragmentarlo mediante el uso de enzimas de restricción. Como resultado se obtiene un grupo numeroso de fragmentos de

ADN de diferente longitud que pueden ser separados por electroforesis en un soporte adecuado (agarosa, poliacrilamida, etc.).

Una mutación puede tener como resultado que se borre uno de los sitios de restricción para esa enzima, o por el contrario que aparezca un nuevo sitio de restricción. En ambos casos aparecen nuevos fragmentos de longitud diferente que pueden ser detectados por comparación con los resultados habituales.

Si un alelo específico está asociado (ligado) con uno de esos fragmentos, entonces se puede inferir la presencia del alelo al identificar ese fragmento. Por lo tanto se trata de un método indirecto pues lo que se identifica directamente no es el alelo buscado sino el fragmento que habitualmente está asociado con él (Figura 12.5).

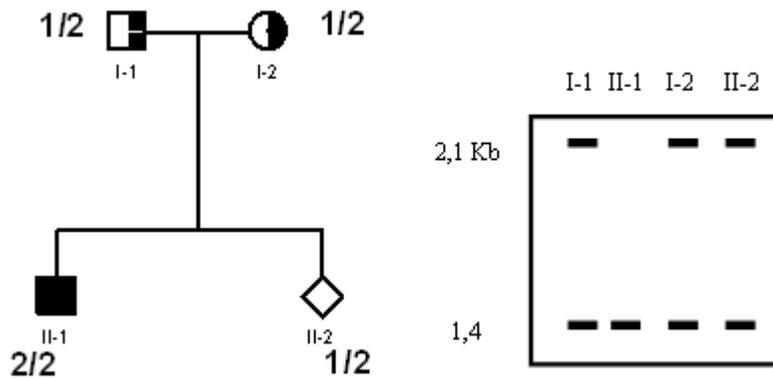


Figura 12.5. Familia donde II-1 está afectado con fibrosis quística. El gen para la fibrosis quística segrega junto con el alelo 2 del RFLP. Como II-1 es homocigótico para el alelo 2 también lo será para el gen de la fibrosis quística y por lo tanto será enfermo.

## SECUENCIACIÓN DE ADN

El proceso de secuenciación consiste en determinar el orden de los desoxinucleótidos en la molécula del ADN. El ADN que se va a secuenciar (ADN molde) puede estar introducido en un vector, o bien puede proceder de una amplificación por el método de la PCR, y debe estar desnaturalizado. El método consiste en lo siguiente: El ADN desnaturalizado se incuba con una ADN polimerasa, los cuatro desoxinucleótidos y un didesoxinucleótido, es decir, que carece de OH en la posición 3'. A esta mezcla se añade un oligonucleótido que es complementario al extremo 5' del ADN molde, que es el cebador. El cebador se une al extremo 5' por complementariedad de bases y proporciona el iniciador necesario para la acción de la ADN polimerasa. Cuando la enzima incorpora un

didoxinucleótido la polimerización se interrumpe, pues como este nucleótido carece del OH de la posición 3' no puede unirse con el siguiente.

En los métodos clásicos, no automatizados, para la detección se utilizan cuatro mezclas de reacción y en cada una de ellas se coloca un desoxirribonucleótido marcado radiactivamente. Con este procedimiento se obtiene un grupo de cadenas de distintos tamaños, cada una de las cuales finaliza en el didoxinucleótido marcado añadido a la mezcla. Los fragmentos obtenidos se separan según su tamaño por electroforesis en gel de poliacrilamida capaz de separar segmentos que difieran en un solo nucleótido y se visualizan mediante autorradiografía. La lectura de los tamaños de los fragmentos obtenidos con cada didoxirribonucleótido se corresponde con la secuencia complementaria del ADN molde.

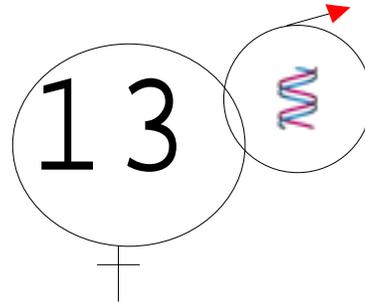
En la actualidad existen equipos (secuenciadores o autoanalizadores de ADN) que realizan la lectura de los geles de forma automática. En un refinamiento de la técnica se emplean marcadores fluorescentes de cuatro fluorescencias distintas, obteniendo la secuencia de forma mucho más rápida, a la vez que analiza simultáneamente varias secuencias. El perfeccionamiento de la técnica de secuenciación automática del ADN está permitiendo un avance considerable en el estudio del genoma humano.

## **RESUMEN**

1. Las herramientas que se utilizan en Genética molecular incluyen, entre otras, las enzimas de restricción y ligasas, las sondas, los vectores y los hospederos.
2. Para obtener copias suficientes de ADN puede utilizarse las técnicas de clonación in vitro o in vivo (Reacción en cadena de la Polimerasa).
3. La clonación in vivo incluye la producción de fragmentos de ADN con el uso de endonucleasas de restricción, la incorporación de éste a un vector adecuado (plásmido, fago o YAC), la introducción de dicho vector en un hospedero y la posterior selección de clones que contengan una secuencia específica.
4. Mediante métodos de estudio molecular se pueden estudiar ADN, proteínas y ARN. Los estudios de ADN pueden ser directos (PCR, Southern blotting y la secuenciación) o indirectos (RFLP). Los métodos para estudiar ARN y proteínas se denominan: Northern blotting y Western blotting, respectivamente.

# LIGAMIENTO Y RECOMBINACIÓN

Bárbara Barrios García



*La Ley de Segregación Independiente, estudiada anteriormente, nos explica el comportamiento que siguen dos o más genes diferentes al segregarse en los gametos.*

*Partiendo de esta Ley podemos conocer de antemano las proporciones fenotípicas esperadas en un cruce dado, pero toda Ley tiene su excepción que se expresa en este caso por desviaciones en las proporciones fenotípicas esperadas en diversos cruces.*

*En este Capítulo analizaremos la causa de estas desviaciones, sus características e importancia.*

## LIGAMIENTO. CONCEPTO Y CLASIFICACIÓN

Ya es conocido que nuestra especie tiene una constitución cromosómica de 46 cromosomas, de los cuales 23 provienen de la madre y 23 del padre.

Cuando estudiamos la meiosis explicamos que en la profase de la meiosis I ocurría un mecanismo llamado entrecruzamiento que era el intercambio de material genético entre cromosomas homólogos (cuando estos están en estado de 4 cromátidas), y definimos a este mecanismo como uno de los más importantes en la variabilidad de las especies vivas con reproducción sexual.

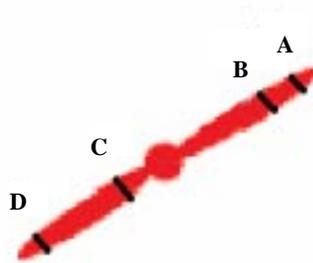
En la actualidad los estudios del genoma humano han descubierto que el hombre tiene alrededor de 45 000 genes que están ubicados en 23 cromosomas, esto nos lleva a pensar que en un cromosoma se sitúan físicamente cientos o miles de genes, lo que implica que entre los genes que se localizan en un mismo cromosoma deben existir diferentes distancias, unos genes estarán muy cercanos entre sí, otros estarán más alejados y otros muy distantes.

(Imagínese la fila de butacas de un cine cuando está lleno, en la misma fila se pueden sentar 20 personas, las personas que se sienten en la 1ra. y 2da. butacas de esa fila van a estar tan juntos, que entre ellos no cabe otra butaca, entre las personas sentadas en la 1ra. butaca y la sentada en la 6ta, caben 4 butacas, están más alejadas pero más juntas

que la persona sentada en la 1ra. butaca y la sentada en la butaca 20ma., que están tan alejadas que no pueden comunicarse entre sí).

Por tanto en un mismo cromosoma se ubican muchos de genes y entre ellos existirán diferentes formas de segregación a los gametos que dependerá de la distancia física entre ellos.

Cuando entre dos genes ubicados en un mismo cromosoma existe una distancia que no permite que ocurra el entrecruzamiento de forma libre o al azar se dice que estos genes están ligados. (Figura 13.1 )



**RELACION DE DIFERENTES GENES UBICADOS EN EL MISMO CROMOSOMA:**

**A - B ESTAN TAN JUNTOS QUE SE ANULA EL ENTRECruzAMIENTO SEGREGANDO JUNTOS AL MISMO GAMETO EXISTE ENTRE ESTOS LIGAMIENTO COMPLETO**

**A - C ESTAN JUNTOS EN EL MISMO CROMOSOMA PERO LA DISTANCIA NO ES TAN PEQUEÑA PARA ANULAR EL ENTRECruzAMIENTO, APARECEN GAMETOS RECOMBINANTES PERO EN NUMERO RESTRINGIDO**

**A - D ESTAN TAN SEPARADOS EN EL MISMO CROMOSOMA QUE CUMPLEN LA LEY DE SEGREGACION INDEPENDIENTE COMO SI ESTUVIERAN UBICADOS EN CROMOSOMAS DIFERENTES**

Figura. 13.1. Se muestra un cromosoma con 4 genes que por sus distancias entre ellos segregan de forma diferente durante la meiosis

Ilustremos las relaciones entre estos genes diferentes ubicados en un mismo cromosoma mediante cruces de híbridos. Los genes representados anteriormente A, B, C y D regulan los siguientes caracteres:

GEN	CARACTERISTICA	GEN	CARACTERISTICA
A	Semillas lisas	a	Semillas rugosas
B	Color púrpura de la flor	b	Color rojo de la flor
C	Hoja redonda	c	Hoja alargada
D	Tallo alto	d	Tallo enano

Si hacemos un cruce prueba o retrocruce (ver Capítulo 5) entre plantas con semillas lisas y tallo alto (AADD) con plantas de semillas rugosas y tallo enano (aadd), los resultados que debemos esperar de acuerdo con las Leyes de Mendel, sería una descendencia con el 25% de cada uno de los cuatro fenotipos posibles, esto es, semillas lisas y tallo alto, semillas rugosas y tallo enano, semillas lisas y tallo enano, y semillas rugosas y tallo alto. Sin embargo, si los genes que determinan estos caracteres se encuentran en el mismo cromosoma debían segregarse juntos hacia el mismo gameto y los descendientes solo mostrarían los fenotipos parentales. Estos resultados se pueden explicar si suponemos que estos dos genes se encuentran muy separados en el cromosoma y por el entrecruzamiento que se produce durante la meiosis I; hayan pasado de un cromosoma a su homólogo en el intercambio entre sus cromátidas.

A los fenotipos que aparecen en los descendientes y que no se corresponden con los paternos se les denomina fenotipos recombinantes, pues son el resultado de la recombinación genética entre las cromátidas de los cromosomas homólogos.

En este cruce la distancia entre los genes A-D es tan grande que el entrecruzamiento ocurre al azar y aparecen 4 tipos de descendientes (Figura 13.2), 2 no recombinantes, pues la combinación de genes en los gametos se produjo sin que ocurriera entrecruzamiento y 2 recombinantes, pues los gametos recibieron una combinación de genes nueva debido al entrecruzamiento entre las cromátidas homólogas (Figura 13.2).

En este cruce se cumple la Ley de Segregación independiente pues aparecen 4 tipos de hijos, 2 no recombinantes (fenotípicamente iguales a los padres) y 2 recombinantes (con combinaciones fenotípicas nuevas diferentes a los padres)

Una situación diferente se presenta cuando los genes están ubicados muy cerca uno de otro en el mismo cromosoma. Como la distancia entre ellos es muy corta la posibilidad de un fenómeno de entrecruzamiento entre ellos es muy baja y esos genes segregarán juntos en los gametos. En este caso, los descendientes exhibirán en proporción igual (50%) los fenotipos parentales (Figura 13.3). En estos casos se dice que entre esos genes existe un ligamiento completo.

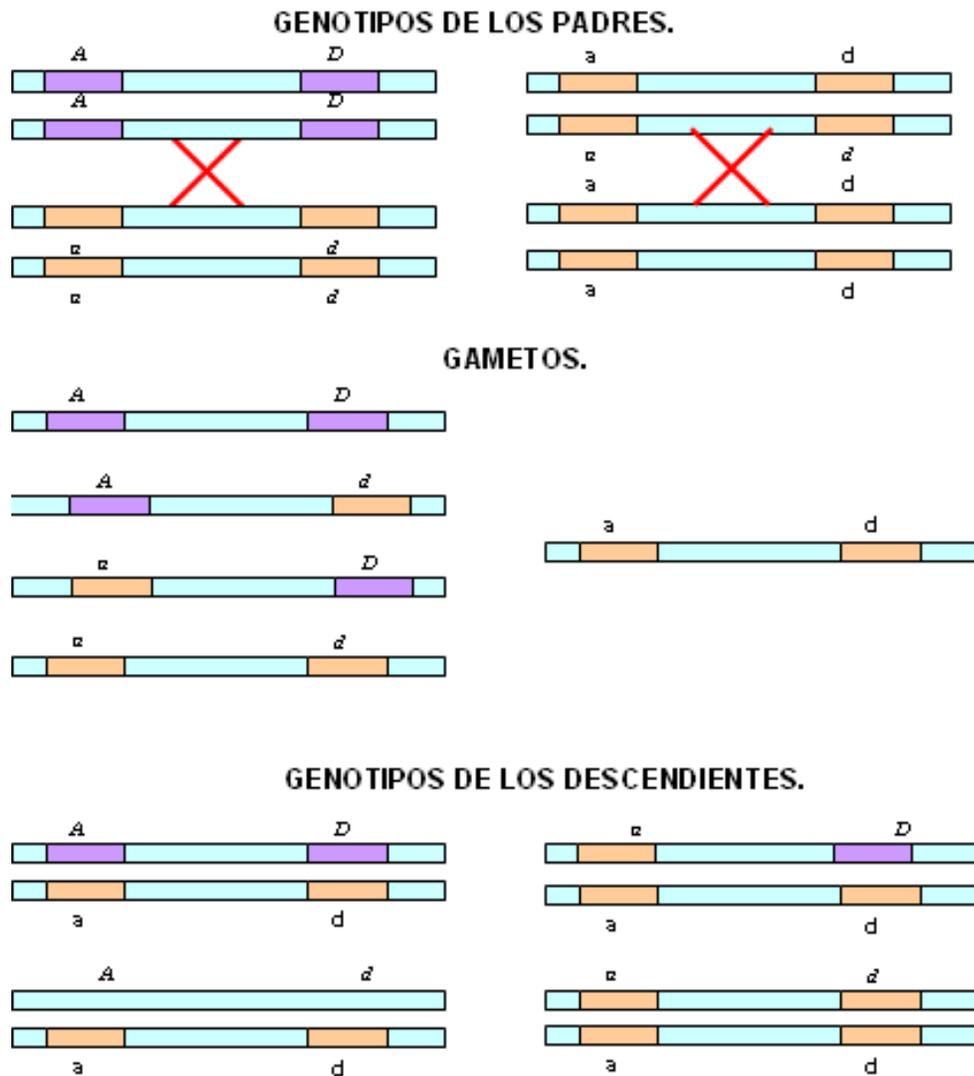


Figura 13.2. Cruce entre dos organismos cuyos caracteres están determinados por genes muy separados en el mismo cromosoma. La distancia entre los genes permite un entrecruzamiento muy frecuente, de manera que origina gametos recombinantes en la misma proporción que los no recombinantes. Los descendientes mostrarán fenotipos parentales y recombinantes en la misma proporción, 25% de cada uno.

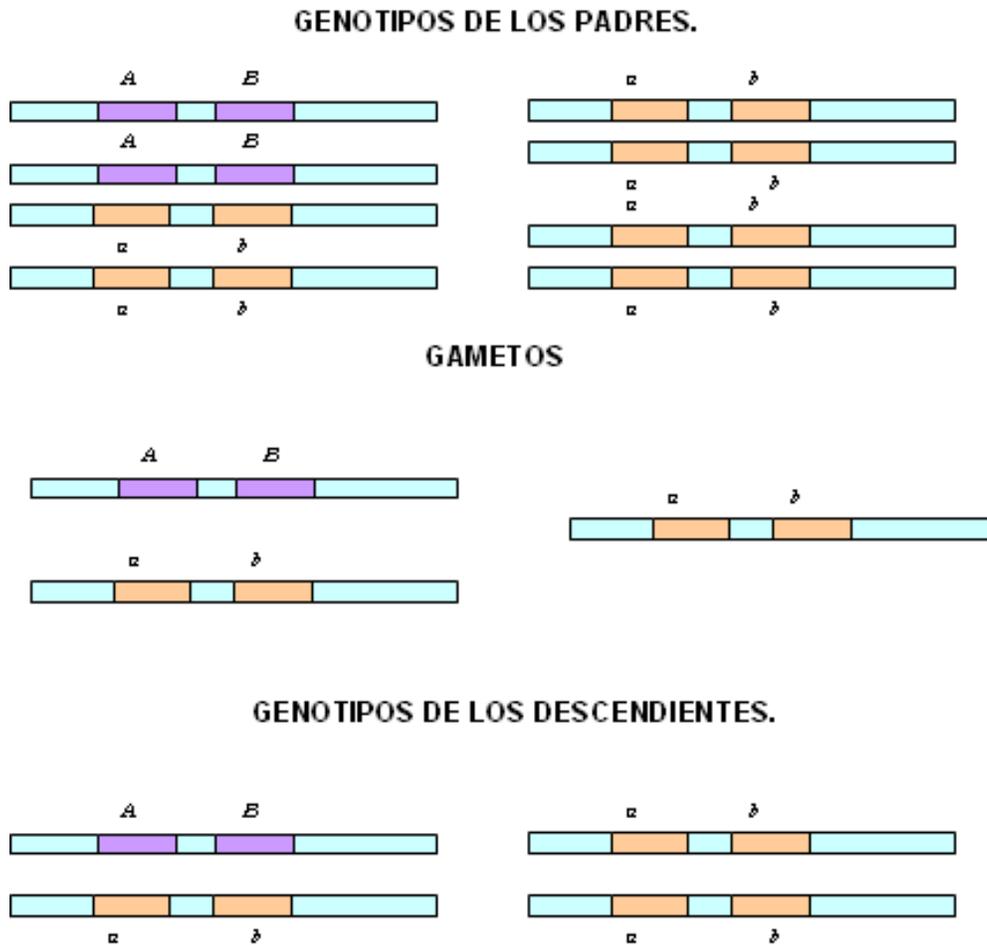


Figura 13.3. Cruce entre dos organismos cuyos caracteres están determinados por genes ubicados muy cercanos en el mismo cromosoma. La distancia entre los genes es tan corta que no es posible el fenómeno de entrecruzamiento y los genes segregan juntos hacia los gametos. Los descendientes reproducen los fenotipos paternos en un 50% de cada uno. No hay fenotipos recombinantes.

Una tercera posibilidad es que los genes estén a una distancia intermedia, ni tan alejados como en el primer caso, ni tan cercanos como en el segundo. Esta distancia media hace que el evento de entrecruzamiento entre los dos genes sea menos frecuente y por

tanto los fenotipos recombinantes que se obtienen en la descendencia sea menor al 25% observado en el primer caso (Fig. 13.4). En ese caso se dice que entre los genes existe un ligamiento incompleto.

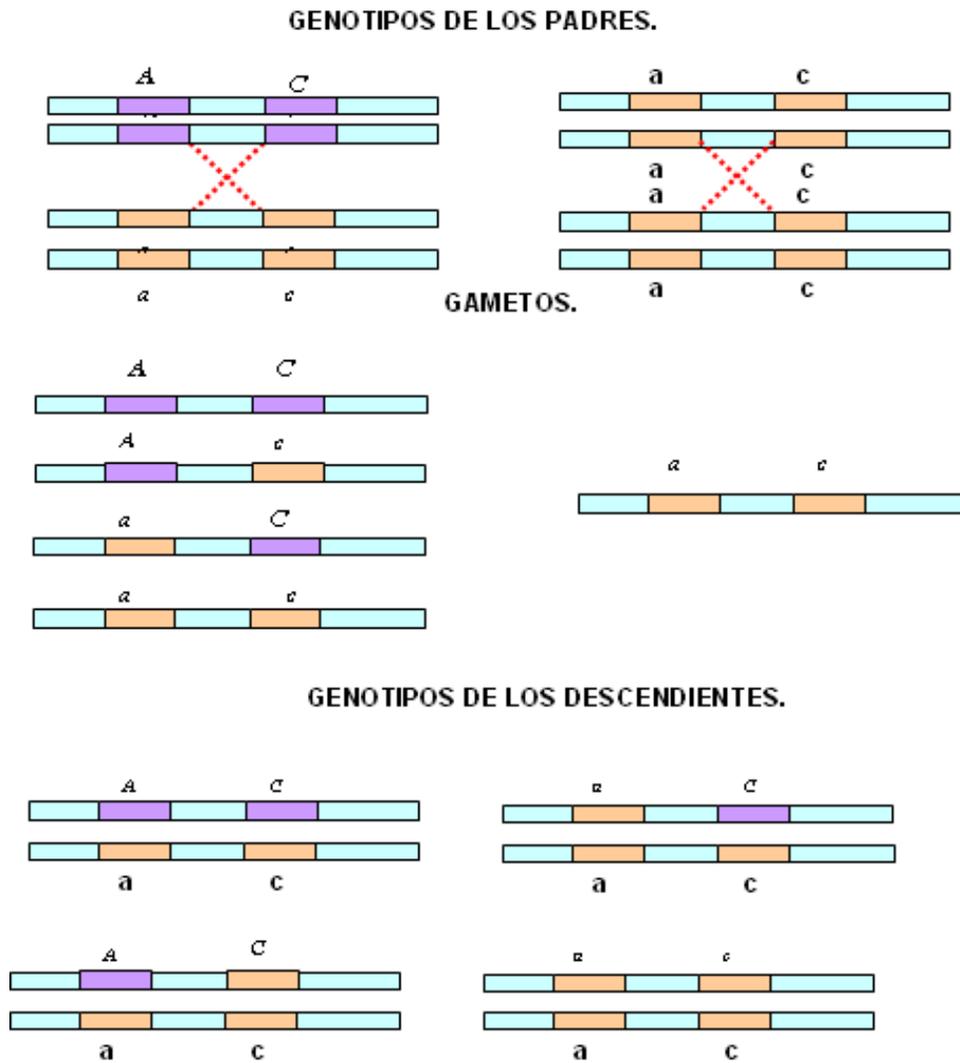


Figura 13.4. Cruce entre organismos con caracteres cuyos genes están medianamente separados en el mismo cromosoma. Aunque parece igual al primer cruce, la diferencia estriba en que el evento de entrecruzamiento es menos frecuente y por tanto los gametos que portan los genes recombinados están en menor proporción y por lo tanto originan un menor número de descendientes.

En el caso del ligamiento Incompleto en la progenie aparecen 4 tipos de hijos, 2 no recombinantes, que aparecen siempre en mayor proporción numérica (podría ser el 80%) y 2 recombinantes, que aparecen siempre en menor cantidad numérica (sería el 20%).

## **CÁLCULO DE LA FRECUENCIA DE RECOMBINACIÓN Y FASE DE POSICIÓN ENTRE GENES LIGADOS**

Cuando los genes situados en un cromosoma están ligados se puede calcular la distancia aproximada entre los genes mediante lo que se llama frecuencia de recombinación (FR)

Esta se calcula:

$$FR = \frac{\text{Número de hijos recombinantes}}{\text{Número total de hijos}}$$

En el caso del primer cruce la frecuencia de recombinación es:

$$FR = \frac{50 \text{ hijos recombinantes}}{100 \text{ hijos totales}} = 0,5 \text{ o } 50\%$$

En el segundo cruce:

$$FR = \frac{0 \text{ hijos recombinantes}}{100 \text{ hijos totales}} = 0$$

En el tercer cruce:

$$FR = \frac{20 \text{ hijos recombinantes}}{100 \text{ hijos totales}} = 0,2 \text{ o } 20\%$$

Así la frecuencia de recombinación es un dato numérico teórico de la distancia física entre los genes que tiene un valor predictivo en el caso de que entre los genes analizados exista una distancia tal que no se cumple lo esperado según la segunda Ley de Mendel.

No obstante, la FR no ofrece un valor real de la distancia entre los genes, porque en el caso del ligamiento completo, como no aparecen hijos recombinantes la  $FR=0$ , pero entre 2 genes no puede existir una distancia de cero, ya que dos cosas no pueden ocupar el mismo espacio físico. Cuando entre los genes se cumplen la Ley de Segregación Independiente la FR es de 50%, pues la mitad de los hijos son recombinantes, pero todos los genes que se ubican en un cromosoma no pueden tener una distancia de 50 unidades de recombinación, ya que existirán genes más alejados.

Esto nos indica que la distancia que brinda la FR es una medida teórica de aproximación y no un valor real de longitud, pero sí nos define si entre los genes de los loci estudiados existe ligamiento completo o incompleto.

En resumen la FR nos permite llegar a las siguientes conclusiones:

- . Si FR es igual a 0, entre estos genes existe Ligamiento Completo.
- . Si FR es igual a 50, se cumple la Ley de Segregación Independiente y por lo tanto no existe ligamiento entre los genes.
- . Si FR es mayor que 0 pero menor que 50, entonces entre los genes existe un ligamiento incompleto.

Otro aspecto que hay que tener en cuenta cuando se estudian genes ligados es la ubicación de estos en los cromosomas homólogos, lo que se designa con el nombre de fase.

Retomemos el ejemplo del tercer cruce prueba. En este caso uno de los padres es doble heterocigótico. Pudiera entonces haber dos situaciones en relación con la ubicación de los genes; bien que los dos genes que determinan los caracteres dominantes estén en el mismo cromosoma, bien que se encuentren en cromosomas homólogos. En el primer caso ambos genes fueron heredados del mismo progenitor y en el segundo fueron heredados de progenitores diferentes.

Cuando los dos genes que determinan los caracteres que se están estudiando (en este caso los dominantes) se encuentran en el mismo cromosoma se dice que están en acoplamiento o en cis. Cuando están en cromosomas homólogos se dice que están en repulsión o trans.

Para diferenciar estas dos situaciones se debe realizar un retrocruce. Si en los resultados de éste se observa que los individuos no recombinantes reproducen los fenotipos paternos, entonces los genes bajo estudio se encontraban en acoplamiento (Fig. 13.5).

Si por el contrario son los descendientes recombinantes los que reproducen los fenotipos paternos, los genes bajo estudio están en repulsión (Fig. 13.6).

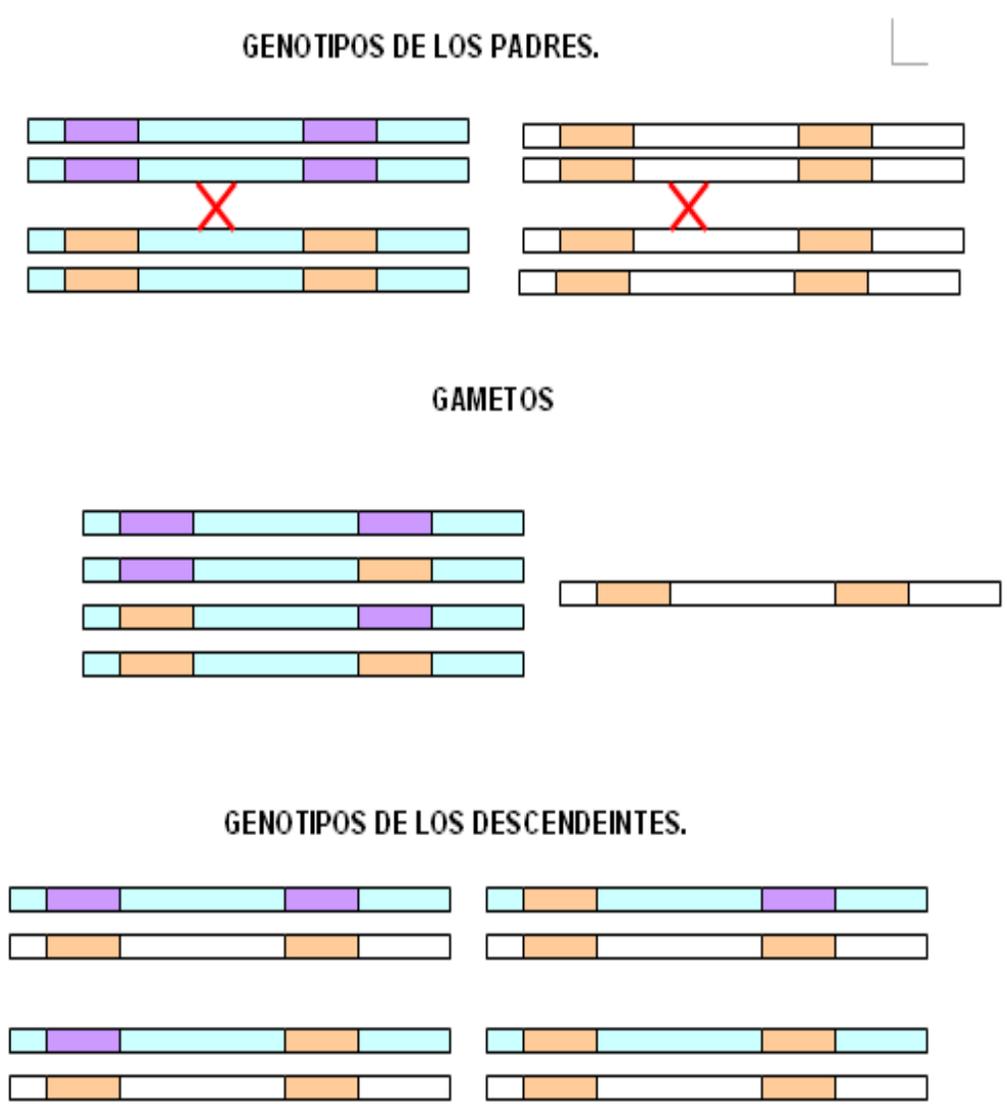
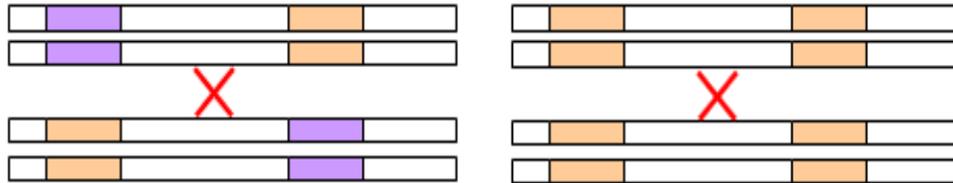
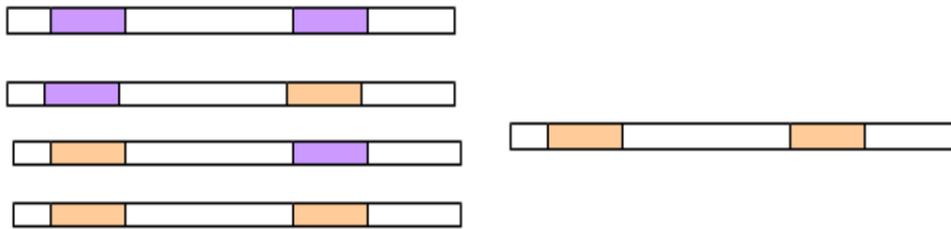


Figura 13.5. Genes en acoplamiento. Cuando los genes bajo estudio están en acoplamiento los descendientes no recombinantes (cromosomas como rectángulos azul pálido) reproducen los fenotipos paternos.

**GENOTIPOS DE LOS PADRES.**



**GAMETOS.**



**GENOTIPOS DE LOS DESCENDENTES.**

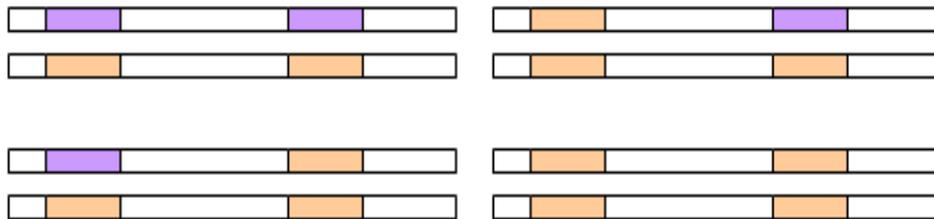


Figura 13.6. Genes en repulsión. Cuando los genes bajo estudio están en repulsión los descendientes recombinantes (cromosomas con rectángulo azul pálido) reproducen los fenotipos paternos.

## LOCALIZACIÓN DE GENES LIGADOS

Existe un tipo de estudio que permite establecer la posición relativa de varios genes en un cromosoma, este método se llama test de tres puntos.

En el ejemplo siguiente se demuestra cómo calcular la posición de varios genes diferentes ubicados en el cromosoma X de la mosca *Drosophila melanogaster*.

Existen 3 genes diferentes ubicados en el cromosoma X de esta especie de mosca que son:

GEN	CARACTERÍSTICA
sc	Forma del cuerpo alargada.
+	Forma del cuerpo normal.
v	Alas sin venas.
+	Alas con venas normales.
eq	Falta de pelos (quetas) en el cuerpo.
+	Cantidad normal de pelos en el cuerpo.

Nota: El signo + se utiliza en caracteres de animales y plantas para representar al alelo normal o no mutado y se llama silvestre, este alelo domina sobre los alelos mutados.

Si cruzamos una hembra (XX) con fenotipo silvestre pero heterocigótica para los tres genes mutados con un macho (XY) que presenta el fenotipo mutado por ser hemizigótico para los 3 genes mutados podemos observar la descendencia de machos de este cruce que serán los que expresaran en su fenotipo la combinación de genes producidos por entrecruzamiento o no entre los cromosomas X de la madre, así:

hembra heterocigótica  
fenotipo silvestre

macho hemizigótico  
cuerpo alargado,  
alas sin venas y cuerpo  
sin pelos

sc v eq / + + +

sc v eq

Descendencia de machos (genotipos hemicigóticos)

FENOTIPOS	GENOTIPOS	No DE HIJOS
1)Cuerpo Alargado, Alas sin Venas y Cuerpo sin pelos	sc v eq	8576
2)Silvestre	+ + +	8808
3)Cuerpo Alargado	sc + +	681
4)Alas sin venas y cuerpo sin pelos	+ v eq	716
5)Cuerpo Alargado y alas sin venas	sc v +	1002
6)Cuerpo sin pelos	+ + eq	997
7)Cuerpo Alargado y sin pelos	sc + eq	4
8)Alas sin venas	+ v +	1
Total de descendientes.		20785

Los fenotipos 1 y 2 son no recombinantes, pues cada uno de ellos expresa los caracteres que aparecen en cada uno de los cromosomas X de la madre sin entrecruzamiento. En total se obtuvieron (8 576 + 8 808) 17 384 no recombinantes.

Los fenotipos 3 y 4 son el resultado de recombinaciones entre sc y v, lo que dio lugar a dos combinaciones diferentes a la de los padres en (681 + 716) 1 397 descendientes.

También 5 y 6 son recombinantes entre los genes v y eq, produciendo (1 002 + 997) 1 999 hijos con combinaciones nuevas diferentes a la de los padres.

Por su parte los grupos 7 y 8 se producen por doble entrecruzamiento entre sc-v-eq, también son recombinantes pues presentan otras combinaciones génicas nuevas diferentes de las observadas en los padres, en un total de (4 + 1) 5 descendientes.

Calculemos la Frecuencia de Recombinación (FR) entre los genes:

$$\text{FR entre sc-v} = \frac{1716}{20785} = 6,72\%$$

$$\text{FR entre v - eq} = \frac{1999}{20785} = 9,72\%$$

$$\text{FR dobles recombinantes (DR)} = \frac{5}{20785} = 0,02\%$$

Con estas cifras podemos dibujar el mapa de ligamiento entre estos 3 genes



Esto significa que se observó el 3,22% de los dobles entrecruzamientos esperados o sea, los esperados y los observados coincidieron sólo en el 3,22%, por tanto el 96,78% de los dobles entrecruzamientos fueron interferidos.

Se debe esperar que ocurran el 100 % de los dobles entrecruzamientos, como solamente se observó el 3,22 % de lo esperado la interferencia fue del 96,78 %.

## **FACTORES QUE PUEDEN AFECTAR EL ENTRECRUZAMIENTO EN ANIMALES Y PLANTAS**

Edad Materna: Disminuye el entrecruzamiento

Temperatura: Temperaturas por encima o por debajo de 22oC aumentan el entrecruzamiento.

Citoplasma: Factores citoplasmáticos que regulan el entrecruzamiento.

Nutrición: Desnutrición disminuye el entrecruzamiento

Iones de calcio: disminuyen el entrecruzamiento

Agentes Químicos: Agentes Quelantes aumentan el entrecruzamiento.

Algunos Antibióticos: Aumentan entrecruzamiento

Rayos X: Aumentan el entrecruzamiento

## **ANÁLISIS DE LIGAMIENTO EN EL HOMBRE**

El estudio de ligamiento en el hombre es una de las áreas de la Genética Médica que se ha expandido más rápidamente a partir de la década del '60. Estos estudios permiten identificar la localización cromosómica de genes causantes de enfermedades genéticas y esta información puede ser aplicada al diagnóstico de una enfermedad, al aislamiento de genes específicos y al Asesoramiento Genético.

El estudio de genes ligados en el hombre presenta 2 dificultades:

1. No posibilidad de dirigir los cruces entre las personas.
2. El pequeño tamaño de la familia humana

No obstante estas dificultades existen 2 formas diferentes de estudios:

*Localización física:* Usa una variedad de métodos para definir la ubicación de genes en un cromosoma específico. Con estos métodos se puede construir mapas de posición de genes que reflejen la distancia física entre los genes ubicados en un cromosoma.

*Localización genética:* Se basa en el uso de técnicas genéticas que construyen mapas presentando la posición de genes y otras secuencias del genoma. Estas técnicas incluyen estudios mediante árboles genealógicos y con herramientas de Biología Molecular

### **Construcción de mapas físicos**

La construcción de mapas físicos comenzó a realizarse partiendo del estudio de un número grande de familias para caracteres que se heredan por un patrón recesivo ligado al cromosoma X, por la facilidad que ofrece este patrón de herencia de que a partir del genotipo de los hijos varones se puede saber el genotipo de los genes localizados en el cromosoma X en la madre.

Este método es lento y complicado por la necesidad de estudiar un número grande de familias que tengan variantes génicas detectables, que permitan establecer el ligamiento en genes ubicados en el cromosoma X. Por ejemplo, el gen de la hemofilia y la ceguera a los colores, que están ligados.

En genes ubicados en los autosomas el estudio es más complejo aún, pues los estudios familiares para caracteres autosómicos requieren mayor número de familias y cálculos matemáticos complejos, que indiquen una mayor probabilidad de ligamiento entre dos genes.

En la década de los años 60 se desarrolló una metodología que permite obtener células somáticas híbridas entre 2 especies diferentes.

Los primeros estudios con resultados favorables se realizaron en células somáticas de hombre y ratón. Se observó que con la introducción en el medio de cultivo del virus Sendai se favorece la fusión del núcleo de la célula del ratón y el de la célula humana, formando lo que se denomina un heterocarionte. ( Fig. 13.7 ).

Cuando los núcleos de ambas especies se fusionan en un mismo núcleo, los cromosomas de las dos especies coexisten en el mismo núcleo. Una característica de este híbrido somático es que los cromosomas del hombre se van perdiendo uno a uno en cada división celular, mientras que los cromosomas del ratón permanecen en el núcleo. Por estudios de los cromosomas del híbrido somático se puede ir definiendo los cromosomas humanos que se han ido perdiendo en el híbrido. Si tomamos una célula de ratón incapaz de sintetizar la enzima hexosaminidasa A y la hibridamos con una célula humana capaz de sintetizar esa enzima, se va siguiendo la presencia de actividad de esta enzima en el híbrido somático y los cromosomas que van quedando en el híbrido, cuando se pierda el cromosoma donde está ubicado el gen que codifica la síntesis de hexosaminidasa A, la célula híbrida morirá por la deficiencia de la enzima, pues la célula de ratón usada para el híbrido no sintetiza esa enzima.

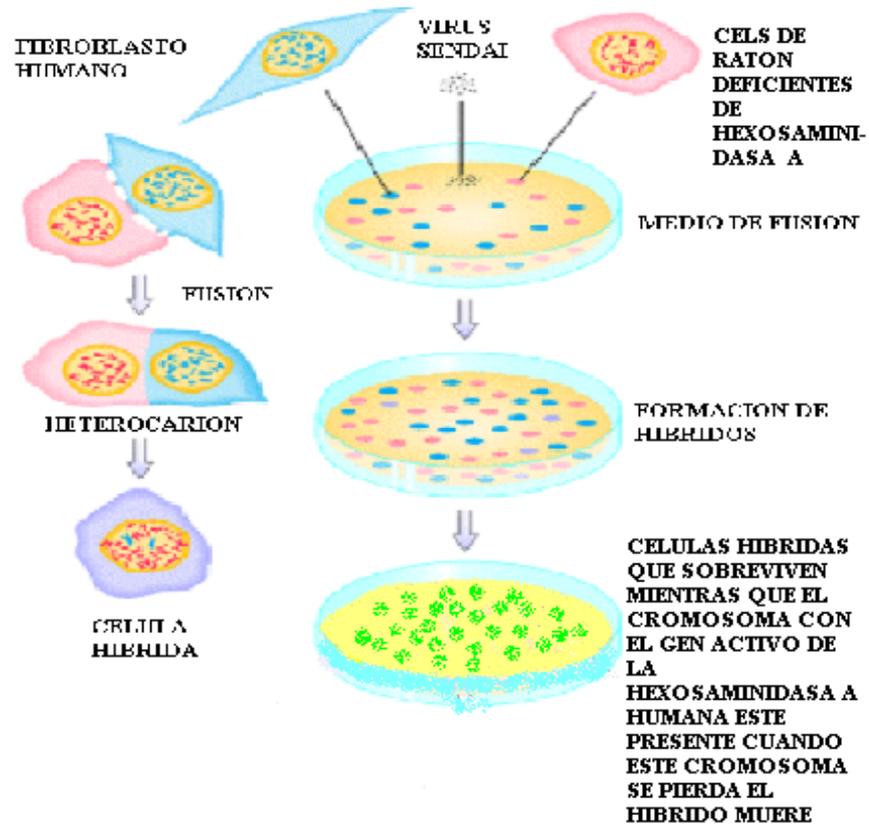


Figura 13.7. Se representa la formación de híbridos somáticos usados para el mapeo físico de genes. Se muestra el uso del virus sendai para producir células con dos dotaciones cromosómicas de diferentes especies o de dos individuos de una especie

Con este método se localizó el gen de la hexosaminidasa A en el cromosoma 15; el gen de la hipoxantina fosforibosil transferasa en el cromosoma X.

En la actualidad los estudios de híbridos somáticos para la construcción de mapas físicos de genes en el hombre han introducido técnicas más modernas de estudio cromosómico, como tinción de cromosomas con colorantes fluorescentes que hacen más fácil el reconocimiento de cada cromosoma específico.

Estudios con híbridos de células somáticas en los cuales los cromosomas humanos pueden presentar aberraciones en su estructura, que permiten ubicar a genes a partir de su producto de expresión. No sólo en un cromosoma específico sino en zonas específicas del cromosoma como en el brazo corto, en el brazo largo e incluso en bandas específicas de un cromosoma.

También se están estudiando híbridos de células somáticas que son mantenidas en cultivo, que pertenecen a un paciente que presenta hasta tres enfermedades genéticas diferentes y así pueden ubicarse estos genes en un cromosoma específico y en zonas específicas del cromosoma.

La construcción de mapas físicos que usan híbridos de células somáticas son métodos indirectos que requieren la selección de células humanas con diferentes características como aberraciones cromosómicas, pacientes con 2 o más enfermedades genéticas y marcadores bioquímicos que puedan ser detectados por lo que resultan estudios complejos. En la actualidad con el desarrollo de las técnicas de Biología Molecular se han desarrollado métodos más sensibles y con mayor resolución para construir mapas físicos de los cromosomas en el hombre.

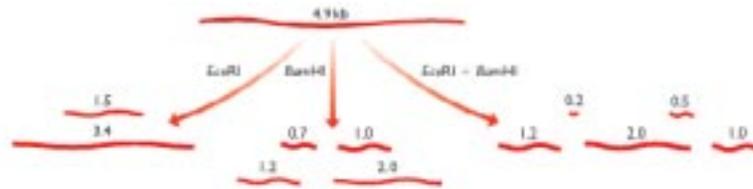
*Mapas de restricción:* Este ubica la posición relativa de una secuencia de ADN mediante el uso de endonucleasas de restricción

*Hibridación in situ fluorescente (FISH):* Mediante esta técnica se localizan marcadores en un segmento de ADN, con una sonda, la cual es construida artificialmente en el laboratorio con una secuencia nucleotídica conocida que sirve para hibridar con el segmento de ADN complementario a su secuencia en el cromosoma (Capítulo 7).

*Mapas por restricción:* Este mapeo utiliza marcadores genéticos que pueden ser localizados por la posición de sitios polimórficos (muy variables en cuanto a su secuencia nucleotídica) que son cortados por enzimas de restricción específicas.

La forma más sencilla de construir un mapa de restricción es comparar el tamaño de los fragmentos que se producen cuando se corta un fragmento de ADN con dos diferentes enzimas de restricción. Un ejemplo es presentado en la Figura 13.8.

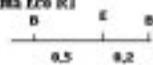
Analizando la figura 13.9 primero el ADN se digiere por la enzima EcoR1 y los fragmentos que aparecen se miden mediante electroforesis en gel de agarosa. Luego la molécula es digerida con la enzima BamH1 y los fragmentos resultantes se miden de igual forma. Los resultados de estas mediciones nos demuestran un número de fragmentos de restricción producidos por cada enzima. Esto origina un polimorfismo de longitud de los fragmentos de restricción, que son secuencias que se caracterizan por tener sitios específicos de reconocimiento para las endonucleasas de restricción (enzimas de naturaleza bacteriana las cuales cortan el ADN en secuencias específicas, cada enzima tiene una secuencia de corte y se denominan según la bacteria o microorganismo de las cuales se obtiene.)(Ver Capítulo 12)



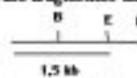
**INTERPRETACION DEL MAPA DE RESTRICCIÓN**

**FRAGMENTOS CONCLUSIONES**

0,2 y 0,5 kb producidos por la acción conjunta de ambas enzimas Estos deben aparecer por el corte de las dos enzimas del fragmento de 0,7 kb que produce la enzima Bam HI sola y este fragmento contiene un sitio de restricción que reconoce la enzima Eco RI



1,0 kb aparece cuando corta Bam HI sola Este fragmento no es cortado por Eco R I, BamHI corta el fragmento de 1,5 kb que produce Eco RI en dos fragmentos uno de 1,0 kb y otro de 0,5 kb.



1,2 y 2,0 kb solo aparecen cuando BamHI corta Estos fragmentos no tienen en su interior ningún punto de corte para la enzima EcoRI, y pueden ser los fragmentos de corte que hace BamHI cuando corta el fragmento de 3,4 kb que produce EcoRI sobre la secuencia estudiada.

Así se pueden inferir dos mapas



De las cortes realizadas por la enzima BamHI se puede predecir lo siguiente:  
 Si el mapa 1 es correcto los productos de la restricción parcial debían medir  $0,7 + 1,2 = 1,9$   
 Si el mapa 2 es correcto los productos de la restricción parcial debían medir  $0,7 + 2,0 = 2,7$   
 Los fragmentos que produce BamHI en condiciones subóptimas incluye un fragmento de 2,7 kb

Por lo que podemos concluir que el mapa 2 es el correcto

Figura 13.8. Mapeo de restricción: el objetivo es mapear sitios con las enzimas de restricción Eco RI (e) y Bam HI (b) en un fragmento lineal de 4,9 kb. Los resultados de la acción de 1 o las 2 enzimas como se presenta en la parte superior de la figura. Los tamaños de los fragmentos que aparecen después del corte por ambas enzimas nos permiten construir un mapa según se explica en la parte inferior de la figura. No queda claro la posición de uno de los tres sitios de restricción que surgen de la acción de la enzima bam h1. (Tomado de [www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi/) libro t.a.Brown Genomes 2da ed. Capítulo 5 eds bios scientific publishers ltd 2002 )

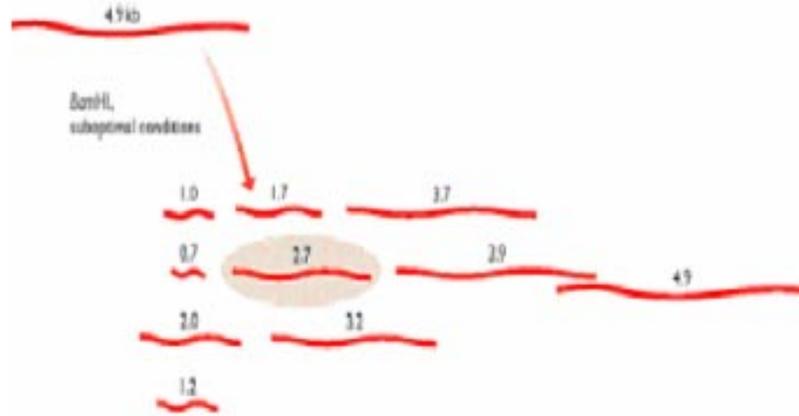


Figura 13.9. Cuando se hace la digestión parcial con la enzima Bam H1 se indica que el mapa II es el correcto. (Tomado de [www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi/) libro t.a. Brown Genomes 2da ed. Capítulo 5 eds bios scientific publishers ltd 2002 )

### *HIBRIDACION IN SITU CON SONDAS RADIOACTIVAS O FLUORESCENTES*

La Hibridación in situ es una versión del análisis de hibridación en la cual un cromosoma intacto se examina por segmentos artificiales de ADN marcados. La posición en el cromosoma donde se hibrida el segmento o sonda de ADN de secuencia conocida nos da la información sobre la localización cromosómica de esta. (Figura 13.10). Para el método de trabajo, el ADN en el cromosoma a ser hibridado debe estar en estado de simple cadena y para esto es necesario desnaturalizarlo. El método más usado para alcanzar la desnaturalización del cromosoma es secarlo en un porta objeto de cristal y tratarlo con formamida.

Al inicio del uso de la hibridación in situ las sondas de ADN eran marcadas con isótopos radioactivos como el  $^{32}\text{P}$  y con posterioridad comenzó a usarse el tritio  $^3\text{H}$  que tiene una mayor resolución y sensibilidad. En los años 80 se introdujeron sondas de ADN marcadas con colorantes fluorescentes que han mejorado más aún la sensibilidad y resolución de estas técnicas. La Hibridación in situ se comenzó utilizando cromosomas metafásicos en los cuales el ADN se encuentra muy condensado por lo que las sondas que hibridan con los cromosomas tienen que ser muy grandes del orden de 1 a 2 millones de pares de bases (1 ó 2 Mb).

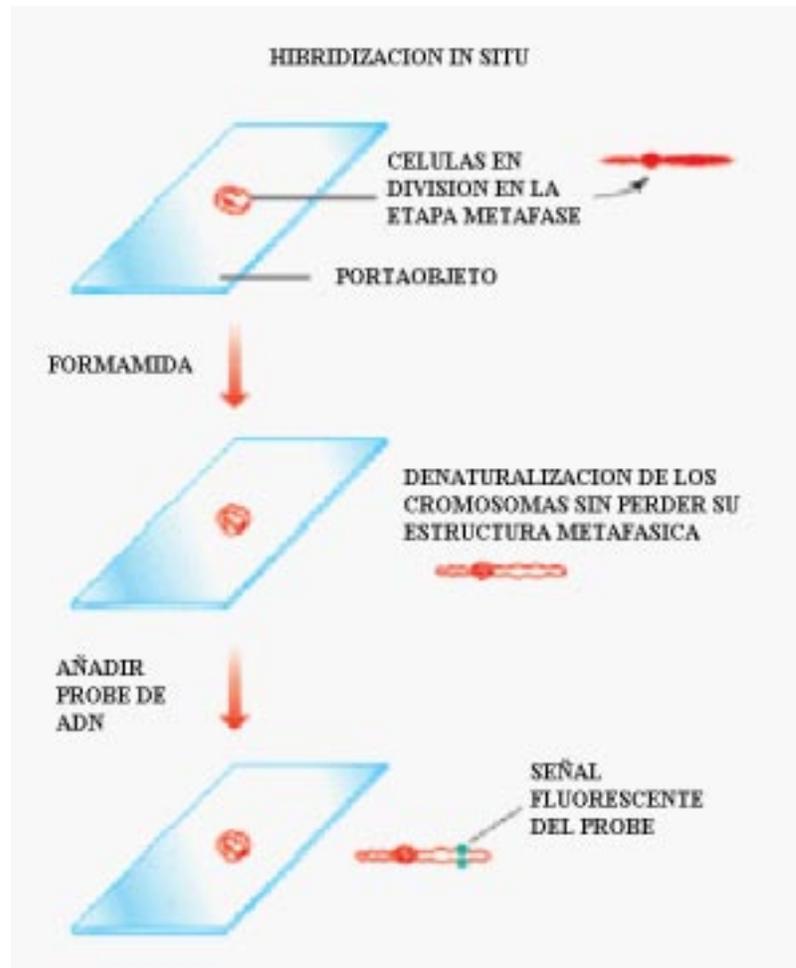


Figura 13.10. Hibridación in situ de cromosomas humanos con fragmentos de ADN lineales de secuencia conocida y marcados con colorantes fluorescentes que permiten detectar la posición física dentro de un cromosoma de un fragmento o gen conocido. (Tomado de [www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi/) libro Genomes t.a.Brown eds Bios Scientific Publisher Ltd , Oxford, UK 2002 capítulo 5 )

Desde los años 90 se comenzaron a desarrollar diferentes técnicas que usan cromosomas interfásicos y prometafásicos lo que va disminuyendo el estado de contracción del ADN en estos y permite reconocer la ubicación de secuencias específicas en un cromosoma con tamaños mucho menores del orden de 10 a 50 pares de bases lo que hace a estas técnicas más sensibles y resolutivas en sus resultados. (Figura 13.11).

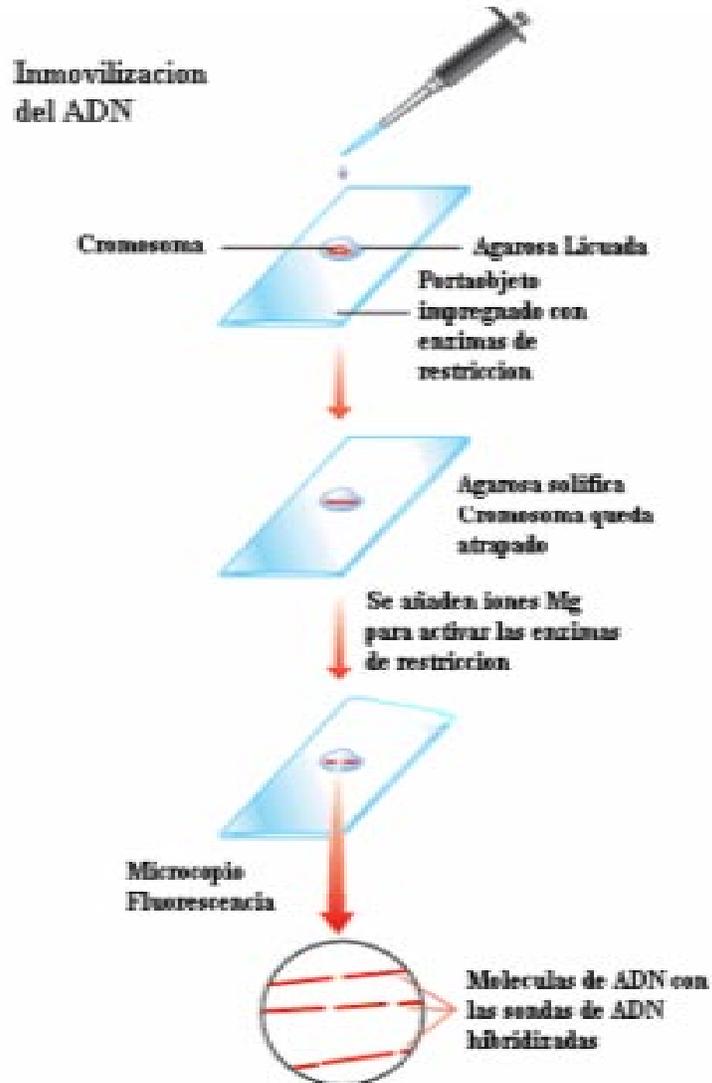


Figura 13.11. Se muestra otra técnica de hibridación in situ que se coloca agarosa licuada con cromosomas en un portaobjeto tratado con enzimas de restricción, la agarosa solidifica y los cromosomas quedan atrapados se le añade iones magnesio para que la estructura cromosómica se active e hibridize con sondas de ADN conocidas marcadas con colorantes fluorescentes. (Tomado de [www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi/) libro t.a. Brown Genomes 2da edición capítulo 5 eds. Bios Scientific Publishers, Oxford, Uk 2002 )

## Mapas genéticos

Este nos brinda más información que el mapa físico pues aunque este último ha desarrollado técnicas de alta resolución, el mapa genético nos brinda una visión más exacta de la segregación de 2 genes (que se encuentran ligados) a través de las generaciones de una familia o de un grupo de familias con características genéticas específicas y nos posibilita localizar más exactamente un gen causante de una enfermedad heredable, que sin estos métodos sólo se pueden estudiar por su expresión fenotípica.

El análisis de ligamiento es un método muy valioso para la genética Humana y la Médica, pues brinda la posibilidad de identificar, localizar y diagnosticar genes causantes de enfermedades genéticas que no han sido detectados por métodos bioquímicos o moleculares.

Este estudio para obtener resultados debe partir de una familia que sea informativa porque en esta se puede detectar la forma de transmisión del gen de interés médico cuya expresión fenotípica es difícil de establecer por diferentes razones como:

- . Carencia de Penetrancia
- . Expresión Fenotípica Tardía
- . Signos Clínicos no certeros ( Heterogeneidad clínica y genética)

No obstante, la existencia de estas dificultades puede estudiarse la segregación del gen de interés médico si éste está ligado a un "marcador genético" (Capítulo 14).

Los genes son marcadores muy útiles en la construcción de mapas genéticos y lo hemos demostrado en los acápites anteriores cuando analizamos los cruces pruebas, pero también tenemos que reconocer que no son estos estudios totalmente ideales. Un problema que se presenta al usar estos métodos en animales y plantas es que los mapas basados en la expresión fenotípica no son muy detallados.

Esto hace considerar que la localización de genes requiere de marcadores más eficaces, las zonas de ADN que pueden ser identificadas, aunque no sean genes expresables, se denominan marcadores de ADN, como un gen es un marcador, una secuencia de ADN necesita tener al menos 2 alelos para ser útil en el estudio de mapeo.

Existen 3 secuencias que satisfacen las características necesarias para ser marcadores de ADN, se producen por la acción de las enzimas de restricción sobre las diferentes secuencias del genoma y estas son:

Polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP) (Ver Capítulo 12 y 14) Estos se obtienen por la acción de las enzimas de restricción y presentan variabilidad alélica, si se encuentran flanqueando a un gen de interés médico se pueden usar para ubicación en el cromosoma. (Figura 13.12).

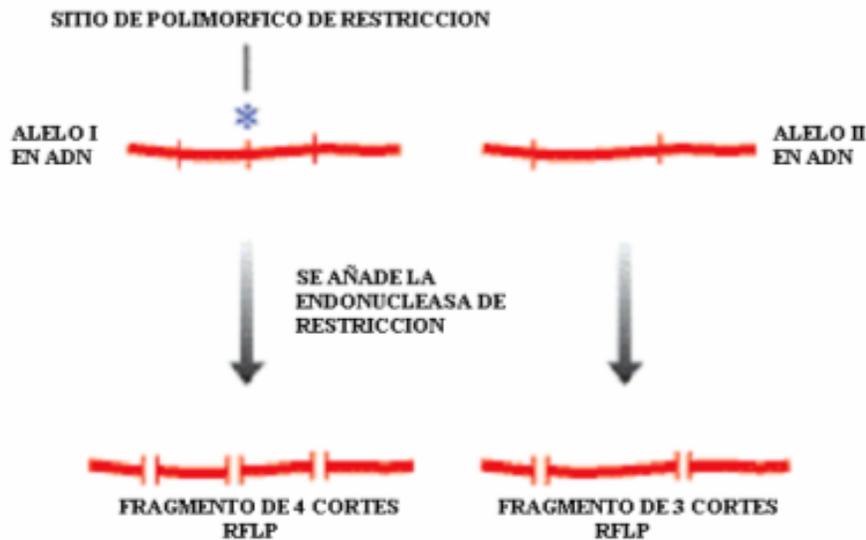


Figura 13.12. Sitios de restricción: Se forman por la acción de enzimas de restricción que reconocen una zona polimórfica en un fragmento lineal de ADN que está marcado con un asterisco en la figura. La enzima de restricción específica corta la zona polimórfica produciendo 4 fragmentos de ADN, con otra enzima de restricción no específica para cortar el fragmento polimórfico del mismo fragmento de ADN se producen solo 3 zonas de corte. (Tomado de [www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi/) libro t.a. Brown Genomes 2da ed. capítulo 5 eds Bios Scientific Publishers Ltd 2002 )

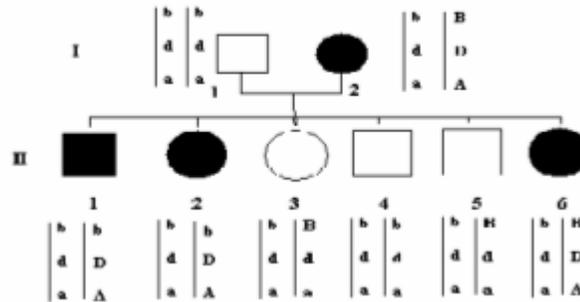
Secuencias polimórficas largas o Simple Sequence Length Polymorphism ( SEP ): Son secuencias repetitivas con variaciones en su longitud, la variabilidad alélica está dada por las diferentes longitudes de las secuencias repetitivas. A diferencia de los RFLP los SEP pueden ser multialélicos, existen dos tipos:

Minisatélites: También llamados Zonas Repetitivas en Tándem de Número Variable (Variable Number of Tandem Repeats) (VNTR) en las cuales la unidad de repetición tiene hasta 25 kb de longitud

Microsatélites: También llamados Repeticiones en Tándem Simples (Simple Tandem Repeats)(STRs): Estas son secuencias repetitivas cortas usualmente formadas por dinucleótidos o tetranucleótidos

Los más usados en los estudios en la construcción de mapas genéticos son los RFLP y los VNTR, estos últimos por ubicarse en las regiones extremas de los cromosomas, Telómeros.

Ahora ilustraremos algunos estudios de ligamiento en el hombre.  
Consideremos la siguiente familia (Figura 13.13):



LEYENDA

- A y a Locus marcadores (Locus 1)
- B y b Locus marcadores (Locus 2)
- D Neuro fibromatosis tipo I
- d Sano

Figura 13.13. Familia que presenta NF1. Relación de ligamiento del locus D (NF1) y los loci 1 y 2.

La mujer I-2 presenta una enfermedad genética llamada Neurofibromatosis 1 (NF1) que se hereda con un patrón autonómico dominante y la enfermedad tiene expresividad variable. El gen de la NF1 lo representaremos por la letra D y su alelo no mutado por d.

Este gen se encuentra en el cromosoma 17, en este mismo cromosoma encontramos en esta mujer I-2 dos loci génicos 1 y 2 representados por los alelos A,a y B,b respectivamente y que no producen ninguna enfermedad.

En esta familia se puede observar la tendencia de segregación entre el gen D (NF1) y los otros 2 loci y observamos que todos los hijos enfermos de esta mujer que expresan la enfermedad siempre que llevan el gen de la enfermedad llevan alelo A del locus marcador A y con respecto al otro locus los hijos enfermos pueden llevar al alelo B o el b indistintamente, esto nos puede hacer pensar que exista un ligamiento entre el gen de la NF 1 y el alelo dominante del locus A y que no existe ligamiento entre el gen de la NF 1 y los alelos del locus B. De esta forma en esta familia se podría predecir por la presencia del alelo A del locus 1 que el gen de la NF 1 estará presente en el individuo.

Pero como el alelo a del locus 1 no es el gen que produce la enfermedad la predicción de si estos genes están ligados o no puede ser errónea si ocurre un evento de entrecruzamiento.

La probabilidad de un diagnóstico erróneo esta dada por la posibilidad de que un entrecruzamiento ocurra entre el locus de la NF1 y el locus 1 que es equivalente a la distancia en unidades de recombinación entre ambos loci.

Esto se complica más por la expresividad variable de la enfermedad en que a simple inspección clínica puede aparecer un miembro de esta familia que exprese la enfermedad de forma tan ligera que escape al estudio clínico y haya heredado el gen afectado, pero que no sea detectado por estudio clínico.

El estudio de ligamiento requiere de que la familia sea informativa y esto está dado por la relación entre el locus que produce la enfermedad a estudiar y el otro locus que se use como marcador genético y de la fase en que se encuentren ambos loci, esto significa si los genes están en acoplamiento o en repulsión.

Para el estudio de ligamiento en humanos por estudio de familias son más útiles las familias grandes que las pequeñas, aunque si la familia es muy grande en ocasiones no es suficientemente informativa, por lo que familias con 3 generaciones se consideran más útiles que las que presentan solo 2.

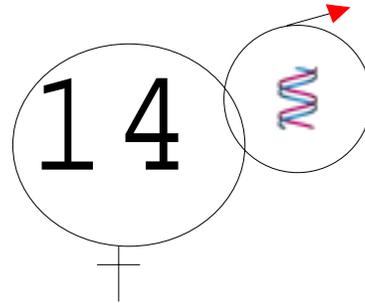
Para examinar como se detecta y mide el ligamiento entre 2 loci génicos llamémosle A y B en una serie de familias. Valoremos que en los hijos de estas familias por información de la segregación meiótica de estos loci se encuentra que aparecen 80 % de hijos no recombinantes y 20 % de hijos recombinantes estos valores nos indican a priori que la distancia entre ambos loci es de 20 unidades de recombinación. El estimado sin embargo es válido solamente si el número de hijos observados en esta relación 80:20 es realmente diferente a la proporción 50:50 que aparece si no existe ligamiento entre los loci.

Para evaluar esto se debe calcular la probabilidad relativa de obtener los datos observados cuando los 2 loci están ligados en alguna fracción de recombinación que llamaremos  $r$  (sita) en comparación con la probabilidad de que estos no estén ligados. Por ejemplo si de 5 hijos, 4 son no recombinantes y 1 es recombinante la relación debe ser considerada significativamente diferente de los valores esperados para segregación independiente entre estos loci. Si uno observa que la proporción 80:20 se mantiene cuando estudia docenas de familias para estos loci génicos esto avala el ligamiento entre estos loci.

Pero realmente la certeza de esta observación debe ser calculada matemáticamente para dar una mayor confiabilidad a los valores observados. Es por ello que existe un indicador que se calcula como relación de probabilidad en varios valores de  $r$  que podemos darles valores de  $r = 0$  (ligamiento) y  $r = 0,5$  (no ligamiento) así considerando estos valores se calcula  $Z$  como:

$$Z = \frac{\text{probabilidad de que los datos coincidan con loci ligados en } r}{\text{Probabilidad de los datos si no hay ligamiento}}$$

## 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 o antígenos	Genotipos	Alelos	Locus
		A	AA AO	A, dominante sobre O	9q34
		B	BB BO	B, dominante sobre O	
		AB	AB	AB <u>codominantes</u>	
		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

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 glicoesfingolípidos 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 CCT 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.

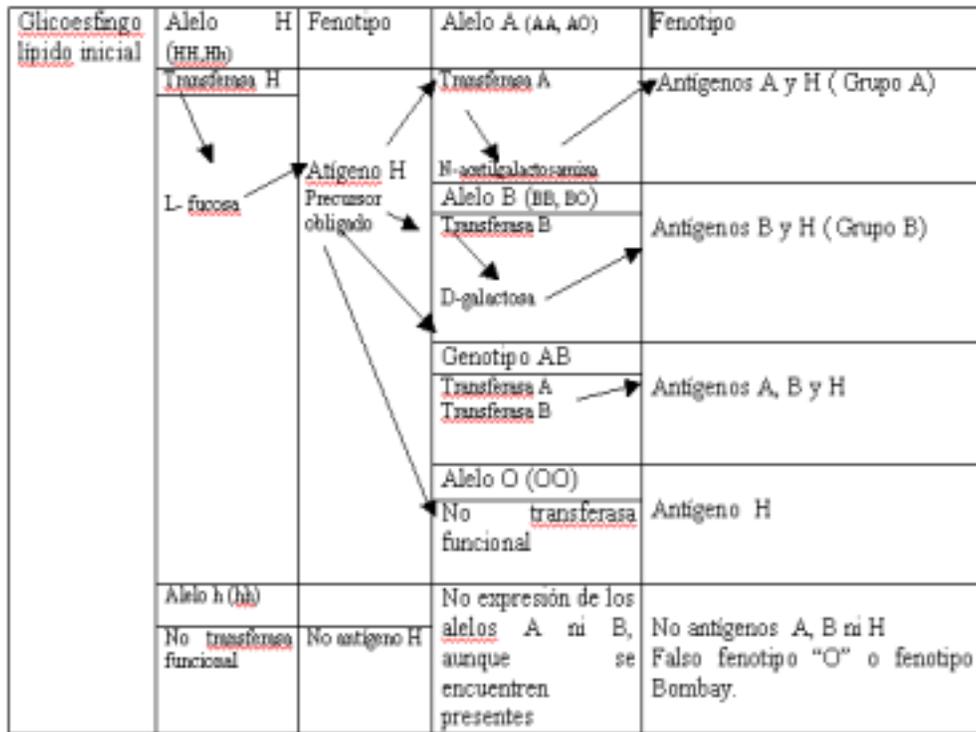


Figura 14.2.

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

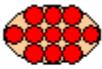
<u>Anti-Rh</u>	Fenotipos	Genotipos	<u>Alelos</u>	Locus
	Rh +	DD Dd	D y d	1p34-36
	Rh -	dd		

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 realcionado 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.

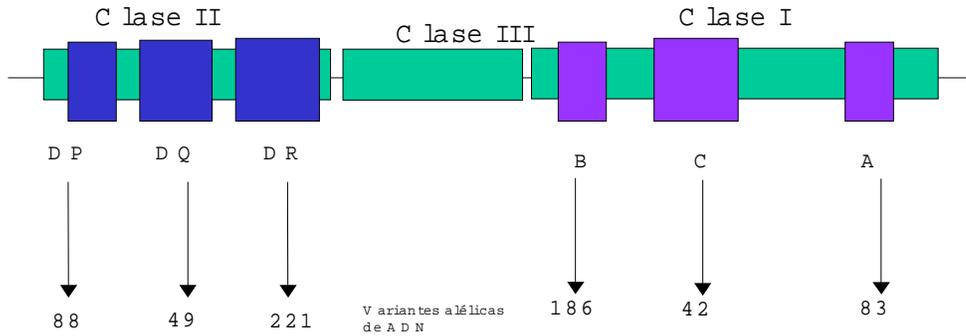


Figura 14.5. Esquema de ubicación de las clases I, II y III del sistema MHC. Los números indicados con las flechas se refieren al número de alelos de estos loci, al ser detectados por estudios moleculares del ADN.

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	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.

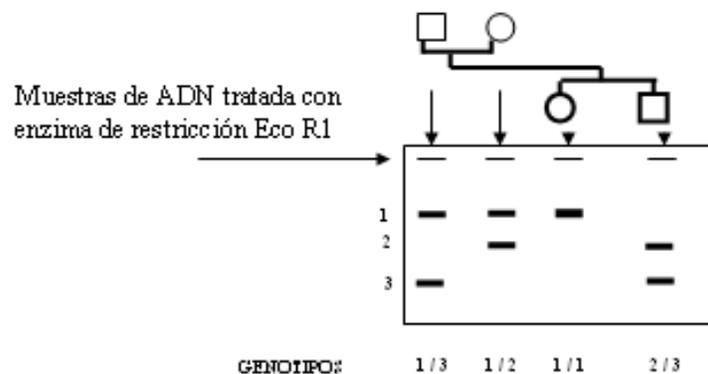


Figura 14.6. Corrida electroforética de los fragmentos de acuerdo con su peso molecular (Southern blot). Análisis de la segregación de tres de los 8 alelos para el locus RFLP: D14S1. Este locus tiene para esta familia, los alelos 1, 2 y 3.

## **RESUMEN**

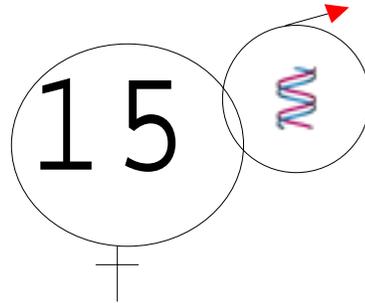
Los marcadores genéticos tienen que cumplir requisitos que permita denominarlos como tal. Los sistemas de grupos sanguíneos y el sistema de histocompatibilidad mayor (MHC) tienen estas características.

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 a nivel de ADN por enzimas de restricción como los RFLP por su carácter polimórfico y su localización cromosómica.

## LOS GENES EN LAS POBLACIONES HUMANAS

Araceli Lantigua Cruz



*Aunque la divulgación de la secuenciación de las bases que componen al Genoma Humano, no permite identificar diferencias biológicas entre la especie humana, que justifiquen diferenciaciones y marginaciones sociales, sí existen diferencias relacionadas con las frecuencias de alelos, las cuales explican variaciones entre estas, que expresando el mismo carácter, difieren en sus cualidades fenotípicas.*

*Así se definen las razas o grupos raciales mayores en caucásicos, negros y asiáticos, cada uno de los cuales tienen a su vez subgrupos.*

*Como ya hemos estudiado las bases de las diferencias entre los alelos surgen de las mutaciones..*

*La selección de mutaciones favorables, en respuesta a condiciones ambientales o a la probabilidad de sobrevivir de mutaciones neutrales o beneficiosas, junto con un grado de aislamiento reproductivo entre los grupos, marcan las diferencias genéticas entre las poblaciones.*

*A esto se añade el paso de los diferentes periodos vividos, como el glacial de hace 100 000 años, que impusieron grandes barreras naturales entre los grupos humanos existentes sobre la Tierra.*

*Con el tiempo cada grupo se subdividió en numerosas subpoblaciones a las que se les denomina grupos étnicos, con sus propias peculiaridades genéticas y ambientales. De ahí que existan tantas diferencias entre las frecuencias de los genes, al comparar, desde este punto de vista, a las poblaciones.*

*Por ejemplo, el alelo que expresa el grupo sanguíneo B, es común en asiáticos, pero esta ausente en la población aborígen americana; la enzima alcohol deshidrogenasa tiene tres loci: ADH1, ADH2, ADH3, la variante de la ADH2 es mucho más frecuente entre los japoneses (90%) que entre los europeos (15%).*

*Al análisis de cómo estudiar los genes en las poblaciones humanas está dirigido este capítulo.*

## LA GENÉTICA POBLACIONAL

La genética poblacional es el estudio de la distribución de los genes en las poblaciones y de cómo las frecuencias de los genes y de los genotipos se mantienen constantes o cambian.

La genética poblacional tiene mucho en común con la epidemiología, el estudio de factores genéticos y ambientales que determinan la frecuencia y distribución de enfermedades en las comunidades humanas.

Estas dos especialidades, la genética poblacional y la epidemiología, se fusionan en la genética epidemiológica que estudia, principalmente, aquellas enfermedades, en las que predomina la combinación de factores genéticos y ambientales, y que generalmente presentan patrones complejos de herencia entre los que se incluyen las enfermedades comunes del adulto.

Ley y factores que rigen la GENÉTICA POBLACIONAL:

- Ley de Hardy Weinberg
- Los factores principales que rompen este equilibrio.
- Las categorías en las que se basa el manejo del estudio de las poblaciones genéticas.

### Ley de Hardy- Weinberg

En 1908 un matemático inglés nombrado George Hardy y el médico alemán Wilhm Weinberg, formularon de forma independiente, la tesis que hoy se conoce como Ley de Hardy-Weinberg. Esta ley enuncia que los genotipos generados por dos o más alelos de un locus, se distribuyen en las poblaciones, en correspondencia con sus frecuencias, y que tanto las frecuencias de los alelos como las frecuencias de los genotipos generados por estos, se mantienen constantes de generación en generación. Esta constancia en dichas frecuencias, de generación en generación, se conoce como Ley de Hardy-Weinberg.

El equilibrio enunciado en la La Ley de Hardy-Weinberg se mantiene:

- en poblaciones muy grandes,
- que se caractericen porque los matrimonios sean al azar,
- donde la tasa de mutaciones sea constante,
- y no existan factores de selección, ni de migración.

Para conocer las frecuencias de los alelos de un locus específico, así como las frecuencias de los genotipos que estos generan, es necesario realizar estudios que permitan llegar a este análisis. El primer paso es conocer la frecuencia con la que estos alelos se

expresan, a través de la identificación del fenotipo en cuestión, el tipo de herencia y la relación de expresión que existe entre estos alelos.

### ***Frecuencia fenotípica***

Determinar el número de individuos que expresan una cualidad del fenotipo en estudio, en relación con el total de individuos de la población problema, recibe el nombre de frecuencia fenotípica. Este dato se expresa, generalmente en porcentaje.

### ***Frecuencia genotípica***

A su vez, las veces en que aparecen cada uno de los genotipos generados por las combinaciones, dos a dos de los alelos involucrados en el locus en estudio, en relación con el total de genotipos (que será igual al total de individuos contemplados en el estudio), recibe la denominación de frecuencia genotípica. Los resultados de este análisis, se dan tanto en porcentaje como en proporción.

### ***Frecuencia génica***

El término frecuencia génica, se refiere al número de veces que un alelo, se encuentra presente en relación con el número total de alelos, de la población en estudio, para ese locus. Los resultados del análisis de la frecuencia génica, a diferencia de las anteriores, siempre se expresa en proporciones, y la suma de la frecuencia de cada alelo estudiado para ese locus será igual a uno.

En términos algebraicos y teniendo a las letras  $p$  y  $q$  como equivalentes a la frecuencia de dos alelos para un locus específico, lo aquí expresado significa que:

$$p + q = 1$$

Y también que las veces con las que sus combinaciones, dos a dos (por ser organismos diploides) o frecuencias genotípicas, se presenten en la población en estudio, teóricamente, serán igual al desarrollo de un binomio cuadrado perfecto:

$$(p + q)^2 = p^2 + 2pq + q^2$$

Donde  $p^2$  y  $q^2$  se corresponden con los genotipos homocigóticos y  $2pq$  con los genotipos heterocigóticos.

La Genética Poblacional, tiene varios enfoques para su estudio, uno de ellos es de interés médico, cuando al menos uno de los alelos que se estudia corresponde con una

mutación que produce una enfermedad genética, y el conocimiento tanto de la incidencia fenotípica del defecto como de la frecuencia génica del alelo mutado, así como de la frecuencia genotípica  $2pq$ , proporcionará datos de gran importancia y que, tanto las autoridades de Salud, como los médicos de asistencia y muy en especial los Genetistas Clínicos, deben tener presente para el manejo preventivo del defecto.

Otro de los enfoques es de interés genético, antropológico, biológico y también médico legal. Este tipo de enfoque está relacionado con los datos que proporcionan, las frecuencias de alelos producidos por mutaciones que no generan en su expresión, consecuencias médicas, sino más bien, variaciones genéticas representadas por las cualidades alternativas de los caracteres en estudio, y que, contribuyen a la diferenciación fenotípica de los individuos. Los marcadores genéticos estudiados en el Capítulo 14 son ejemplos de ellos.

### **Determinación de frecuencias fenotípicas, genotípicas y génicas entre dos alelos con dominancia completa**

Para los cálculos de las frecuencias fenotípicas, genotípicas y génicas entre alelos con relación de dominancia completa hemos seleccionado como marcador genético, al sistema de grupo sanguíneo Rh.

Protocolo de estudio:

Población hipotética: Ciego de Avila..

Muestra: 600 habitantes de la Ciudad.

Marcador genético: Sistema de grupos sanguíneos Rh.

Objetivos: calcular las frecuencias fenotípicas, genotípicas y génicas del sistema de grupos sanguíneos Rh.

Método de estudio fenotípico, análisis e interpretación de los resultados del pesquiasaje o tamizaje.

Población	Fenotipo	Genotipos
450	Rh +	DD Dd
150	Rh -	<u>dd</u>
600		

La hemoclasificación del sistema Rh, nos ha permitido identificar dos subgrupos poblacionales bien definidas: 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 -.

### Cálculo de la frecuencia fenotípica

Frecuencia fenotípica para los individuos Rh + de nuestro estudio:  $450/600 \cdot 100 = 75.0\%$

Frecuencia fenotípica para los individuos Rh - de nuestro estudio:  $150/600 \cdot 100 = 25.0\%$

### Cálculo de la frecuencia genotípica

Los fenotipos homocigóticos dominantes DD y los genotipos heterocigóticos Dd están todos contemplados entre los 450 individuos Rh+, sin embargo la frecuencia genotípica de los homocigóticos recesivos dd, coinciden con la frecuencia fenotípica de Rh -, entonces para conocer la frecuencia de los genotipos DD y Dd, ya que hay relación de dominancia completa necesitamos conocer antes las frecuencias génicas de los alelos D y d.

### Cálculo de las frecuencias génicas

Ya que la distribución de los alelos D y d en la población que estudiamos deben combinarse según el binomio cuadrado perfecto  $(p + q)^2 = p^2 + 2pq + q^2$ , entonces en nuestro estudio  $p = D$  y  $q = d$  y a su vez las frecuencias de los genotipos serán equivalentes a:

$p^2 + 2pq$  a los genotipos DD y Dd según la distribución de los gametos D y d en la población:

GAMETOS	D	d
D	DD	Dd
d	dD	dd

$$DD + 2Dd = Rh +$$

Entonces,  $q^2$  será igual a la frecuencia fenotípica y genotípica de los individuos Rh - que representan el 25 %, por lo tanto la frecuencia del alelo d puede ser determinada hallando la raíz cuadrada de la frecuencia fenotípica pero en proporción o sea dividiendo entre 100 (0.25)

$$q^2 = \sqrt{0.25} = q = 0.5 \text{ y esta será la frecuencia génica del alelo d,}$$

entonces si las frecuencias de  $p + q = 1$ , la frecuencia de  $p = 1 - q$ , y finalmente la frecuencia génica del alelo D será igual a 0.5 y las frecuencias de los genotipos DD y Dd se pueden calcular sustituyendo los valores de  $p=D= 0.5$  y los de  $q=d = 0.5$  en:

$p^2 + 2pq$  siendo el valor de los homocigóticos dominantes (DD) igual a  $(0.5)^2 = 0.25$  ó 25 % y los heterocigóticos (Dd) igual a  $2(p,q) = 2(0.5 \times 0.5) = 0.5$  ó 50 %.

### **Determinación de frecuencias fenotípicas, genotípicas y génicas entre dos alelos codominantes**

Para este caso utilizaremos otro grupo sanguíneo. Se trata del grupo MN y del locus con igual denominación. Los antígenos presentes, son también denominados M y N, y sus correspondientes anticuerpos, anti M y anti N.

Los fenotipos que se identifican por simple hemoclasificación, en este caso son tres: M, MN y N.

Un ejemplo de ello utilizando una población de 1419 personas sería:

Fenotipos y No.	Genotipos	Alelos y locus
M (392)	MM (392)	M y N
MN (707)	MN (707)	
N (320)	NN (320)	
1419	1419	

El fenotipo MN se presenta porque los alelos M y N son codominantes, o sea ambos alelos de un par se expresan en el estado heterocigótico igual que cuando están en el estado homocigótico.

La frecuencia fenotípica y genotípica. Cuando los alelos que se estudian son codominantes coinciden. En este caso serían:

Fenotipos	Genotipos	Frecuencias
M = $392 / 1419 \cdot 100 = 27.6$	MM = $392 / 1419 \cdot 100 = 27.6$	27.6 %
NM = $707 / 1419 \cdot 100 = 49.8$	NM = $707 / 1419 \cdot 100 = 49.8$	49.8%
N = $320 / 1419 \cdot 100 = 22.6$	NN = $320 / 1419 \cdot 100 = 22.6$	22.6 %

Las frecuencias génicas serán, de acuerdo con el concepto:

$$\text{Todos los genes M} = (392 \times 2 + 707) / 1419 \times 2 = 0.53$$

$$\text{Todos los genes N} = (320 \times 2 + 707) / 1419 \times 2 = 0.47$$

( Se tiene en cuenta que cada individuo posee dos alelos.)

Se cumple que la frecuencia génica de dos alelos en la población es igual a 1.

### **Determinación de frecuencias fenotípicas, genotípicas y génicas entre alelos múltiples**

El mejor ejemplo para la determinación de las frecuencias fenotípicas, genotípicas y génicas de alelos múltiples es el sistema de grupos sanguíneos ABO.

Al existir tres alelos para el locus ABO las posibilidades de combinaciones para estos alelos en la población se extienden al trinomio  $(p + q + r)^2 = p^2 + 2pq + q^2 + r^2 + 2pr + 2qr$ .

Si queremos determinar las frecuencias fenotípicas, genotípicas y génicas en una población de 180 personas y al aplicar la hemoclasificación encontramos una distribución como sigue:

	A	B	AB	O	TOTAL
Fenotipos	74	17	7	82	180
Frecuencia fenotípica	41.11%	9.44 %	3.89 %	44.89 %	
Genotipos	AA + AO	BB + BO	AB	OO	
Frecuencias genotípicas	$p^2 ; 2pr$	$q^2 ; 2qr.$	$2pq$	$r^2$	

En este caso para obtener las frecuencias genotípicas se requiere calcular antes las frecuencias génicas de los alelos p, q y r.

El análisis se inicia por el cálculo de la frecuencia génica de O

$$O = r^2 = 82 / 180 \quad r = \sqrt{82 / 180} \quad r = 0.67$$

Los individuos que tiene los grupos A y O en la población están representados por las combinaciones de los alelos p y r en el binomio

$$(p+r)^2 = p^2 + 2pr + r^2$$
$$p+r = \sqrt{74 / 180 + 82 / 180}$$

$$p+r = 0.92$$

$$p = 1 - r$$

$$p = 0.92 - 0.67 \quad p = 0.25$$

Entonces si  $p + q + r = 1$

$$q = 1 - p - r \quad q = 1 - 0.25 - 0.675 \quad q = 0.080$$

Las frecuencias génicas de los alelos A, B y O, en la población estudiada de 180 individuos serán:

$$O = r = 0.67 \quad A = p = 0.25 \quad B = q = 0.08$$

Y las frecuencias genotípicas:

Genotipos	AA	AO	BB	BO	AB	OO
Frecuencias genotípicas	$p^2$	$2pr$	$q^2$	$2qr.$	$2pq$	$r^2$
	6.25 %	33.50 %	0.64 %	10.72 %	4.00%	44.89 %

¿Cómo sabemos si una población mantiene sus genes para un locus específico en equilibrio Hardy-Weinberg?

Supongamos que por una investigación previa que data de 20 años, hemos conocido que la frecuencia de los alelos para el sistema de grupos sanguíneos M, N fue de 0.53 para el alelo M y de 0.47 para el alelo N, y deseamos conocer si en esa población se mantienen las frecuencias génicas y genotípicas en equilibrio Hardy-Weinberg.

Si determinamos los grupos sanguíneos M y N en una población de 2000 sujetos, utilizando un test estadístico como el chi-cuadrado ( $X^2$ ) que nos permita establecer si existen o no diferencias significativas entre lo esperado y lo observado, conocer si realmente se mantiene el equilibrio.

Fenotipos	Número de individuos esperados siendo M = p = 0.53 y N = q = 0.47	Número observado Según nueva hemoclasificación
M	$p^2 \times 2000 = 562$	567
MN	$2pq \times 2000 = 996$	998
N	$q^2 \times 2000 = 442$	435
TOTAL	2000	2000

$X^2 = \sum [(O-E)^2 / E] = 0.158$  (No significativo para un grado de libertad). Entonces la población se mantiene en equilibrio Hardy-Weinberg para este marcador genético.

## **FRECUENCIAS DE GENES Y GENOTIPOS DE GENES LIGADOS AL CROMOSOMA X**

El cálculo en estos casos es relativamente sencillo debido al carácter hemicigótico del sexo masculino, para mutaciones no afectadas por fenómenos de selección.

Basta entonces conocer la incidencia del fenotipo en varones en los que hay solamente dos alternativas que corresponden a las frecuencias génicas de p y q. En las mujeres como pueden ser homocigóticas dominantes o recesivas y heterocigóticas la estimación de las frecuencias genotípicas se hará como corresponde a la distribución de

estos dos alelos según  $(p + q)^2 = p^2 + 2pq + q^2$ , sustituyendo en p y q los valores de frecuencias génicas estimadas a partir de los fenotipos de los varones.

Un buen ejemplo es la frecuencia de la ceguera para el color (mutación que se expresa como daltonismo y que individualiza muy bien el carácter en hombres) en una población. Supongamos que cada 1000 hombres, 80 sean daltónicos, la frecuencia génica de q será igual a 80 entre mil, o sea 0.08 y la de p de 0.92. Ya con las frecuencias génicas se pueden estimar las frecuencias genotípicas en las mujeres haciendo la sustitución pertinente según  $p^2 + 2pq + q^2$ .

## **FACTORES QUE PUEDEN ALTERAR EL EQUILIBRIO DE HARDY-WEINBERG EN UNA POBLACIÓN**

### **Matrimonios no al azar**

Cuando en una población grande los matrimonios son al azar los alelos pueden combinarse por la segregación de ellos en los gametos con igual probabilidad y esto permite una contribución de sus frecuencias en la población de forma aleatoria, sin embargo aun cuando las poblaciones sean suficientemente grandes, en ocasiones existen fenómenos sociales de estratificación según grupos raciales que interfieren con la selección azarosa de las parejas, por ejemplo la división entre negros y blancos. Por otra parte, en ocasiones la selección clasificada de las parejas por su inteligencia, forma y color del cabello, la estatura, algunas características conductuales, habilidades para la música o para el deporte o buscar pareja con características de defectos similares como ceguera, sordera o bajas tallas también interfieren en que los matrimonios no sean totalmente al azar y la distribución de los alelos en la población tampoco sea aleatoria, lo que no contribuye a mantener el equilibrio de Hardy-Weinberg en una población.

La consanguinidad es otro fenómeno que interfiere con la formación de parejas al azar, aun cuando se pueda suponer que toda pareja tiene al menos un ancestro común. La probabilidad de que un niño sea homocigótico para una enfermedad genética autosómica recesiva rara, es menor cuanto más alejada sea la relación de parentesco entre sus padres. La consanguinidad es un fenómeno presente en todas las poblaciones humanas. Las leyes de cada país prohíben los matrimonios entre familiares de primer y segundo grados y algunas religiones incluyen la prohibición matrimonios entre familiares de tercer grado.

Hay una tendencia a la disminución de estos tipos de matrimonios sobre todo en países desarrollados y en vías de desarrollo. Los matrimonios consanguíneos más frecuentes se producen entre primos hermanos, doble primos hermanos, medios primos hermanos.

La probabilidad de compartir genes similares es mayor en la medida en que la relación entre consanguíneos sea más cercana.

Muchas personas homocigóticas para mutaciones recesivas raras han heredado estas mutaciones de sus padres quienes tienen un ancestro común, sin embargo sólo la consanguinidad cuando es muy alta en una población afecta el equilibrio genético.

En la investigación clínico genética efectuada recientemente en nuestro país, se observó que la frecuencia de consanguinidad entre los padres de personas con retraso mental fue más alta en las regiones geográficas extremas de la nación, donde todavía existen grupos poblacionales más aislados en los que hay muy pocas variaciones de apellidos.

## **Mutaciones**

La presencia de nuevas mutaciones puede afectar el equilibrio de Hardy-Weinberg cuando la tasa de ellas aumenta por razones específicas.

La tasa de mutaciones de un locus se expresa como el número de nuevas mutaciones por locus por generación.

Una vía directa de estimar la tasa de mutaciones en una población es a través de la detección de la prevalencia al nacimiento de enfermedades genéticas autosómicas dominantes o ligadas al cromosoma X, ya que en estos casos el efecto de la mutación se detecta directamente por el fenotipo. Un ejemplo de estimación de la tasa de mutación con efecto dominante sería la de observar defectos tales como la acondroplasia en parejas que no presentan el fenotipo de esta forma de osteocondrodisplasia.

En el equilibrio genético de las poblaciones, estas mutaciones tienen diferentes posibilidades de repercusión.

- Que se pierdan inmediatamente por ser letales para las personas que las reciben, bien porque sean incompatibles con la vida o porque nunca puedan transmitirse a la siguiente generación.
- Que sobrevivan con pocas probabilidades de mantenerse de generación en generación.
- O que no sólo sobrevivan, sino que se transmitan de generación en generación, pudiendo incluso convertirse en un alelo predominante.

Todo depende de la aptitud reproductiva (fitness) de la persona afectada en términos de sobrevivir, de posibilidades de encontrar pareja y tener relaciones y de las posibilidades de fertilidad.

Factores como morir antes de la pubertad disminuyen la aptitud reproductiva para un genotipo específico, a la inversa un tratamiento médico puede incrementar la aptitud reproductiva de un genotipo particular. De igual forma el diagnóstico prenatal y la terminación selectiva de un embarazo disminuye la aptitud reproductiva de un genotipo particular.

### **Selección contra mutaciones dominantes**

La selección de un genotipo específico distorsiona el equilibrio de Hardy-Weinberg

En el caso de mutaciones autosómicas dominantes la selección actúa contra los genotipos en los cuales la mutación es severa, eliminándolas en una simple generación, en estos casos la presencia de la enfermedad es siempre el resultado de una nueva mutación. Hay muchos ejemplos de enfermedades genéticas dominantes con estas características en las que la severidad del defecto produce la muerte antes de la etapa reproductiva o aun llegando a esta etapa de la vida estos individuos no son aptos para la reproducción.

Por el contrario si una nueva mutación no invalida la posibilidad de reproducción, puede ser que la aptitud reproductiva sea reducida o igual que la del alelo no mutado.

El equilibrio de la frecuencia de genes específicos es el resultado del balance entre dos fuerzas, la selección que elimina las mutaciones de la bolsa de genes o "pool" de genes de la población y la producción de nuevas mutaciones que las añade de nuevo a la bolsa.

La aptitud reproductiva sorprendentemente mejorada por tratamientos de personas afectadas, puede dar lugar a un incremento de la contribución de ese genotipo y producirse un cambio en el equilibrio genético de la población. De igual forma si las personas afectadas disminuyeran su aptitud reproductiva al renunciar a su descendencia, la frecuencia del alelo mutado podría caer a casi cero y mantenerse solamente en la bolsa de genes de cada generación, a expensas de la producción de nuevas mutaciones.

### **Selección contra mutaciones recesivas**

Para estos tipos de mutaciones las fuerzas selectivas son menos efectivas ya que sólo una pequeña proporción de genes están presentes en el homocigótico recesivo que son los que se exponen a fuerzas selectivas, pero además su repercusión sobre el equilibrio aun mejorando sus posibilidades de aptitud reproductiva, podría ser muy lenta y se necesitarían muchas generaciones para incrementar su frecuencia génica.

### **Selección contra mutaciones recesivas ligadas al cromosoma X**

En estos casos el masculino hemicigótico resulta ser el afectado mientras que la mujer es heterocigótica asintomática como regla.

La aptitud reproductiva depende de la gravedad de la afección. Si la mutación es muy severa el varón no se reproduce, tales enfermedades se conocen como letales genéticas ligados al X, y la contribución de la mutación se produce por la segregación de la mutación en los gametos de la mujer portadora y la tasa de nuevas mutaciones. Sin embargo cuando la mutación no afecta la aptitud reproductiva del varón la distribución de genotipos se comporta con una relación de varones afectados a mujeres portadoras de 1:2. La posibilidad de mujeres portadoras de mutaciones severas, que padecen la enfermedad por defectos de lyonización (la inactivación no azarosa de un cromosoma X en la mujer), contribuyen poco con su baja aptitud reproductiva a la inestabilidad del equilibrio genético sin embargo, enfermedades como la hemofilia A cuyo tratamiento mejora considerablemente la aptitud reproductiva del varón afectado, puede esperarse que eleve la frecuencia del gen mutado y se establezca un nuevo equilibrio genético para esta mutación.

### **Ventajas selectivas de heterocigóticos**

Hasta ahora hemos analizado la frecuencia de mutantes raros como un balance entre la pérdida por selección y la ganancia por nuevas mutaciones.

Ahora analizaremos el caso de heterocigóticos para algunas enfermedades que tienen una ventaja selectiva en comparación con ambos genotipos homocigóticos, el dominante y el recesivo.

Estos tipos de ventajas selectivas para un genotipo heterocigótico cuyo homocigótico recesivo produce enfermedades genéticas muy severas, pueden incrementar la frecuencia de la mutación específica en una población. Un ejemplo de ello es la ventaja selectiva del heterocigótico para la anemia por hemáties falciforme (AHF) o "sickle cell anemia" para la malaria.

En el Africa Occidental hay altas frecuencias de esta anomalía de la beta hemoglobina, donde los heterocigóticos tienen mayor aptitud reproductiva que los homocigóticos. Los heterocigóticos son resistentes a la malaria producida por el protozoo Plasmodium vivax que a su vez es transmitido por el mosquito Anopheles, este protozoo pasa parte de su ciclo de vida alojado en el eritrocito de los vertebrados, sin embargo, los eritrocitos de los heterocigóticos para la AHF no permiten que este protozoo culmine su ciclo de vida exitosamente y las personas parasitadas que tienen esta condición genética resisten mejor a la malaria que los homocigóticos para el alelo A (AA), o que los homocigóticos para el alelo S (SS) por este motivo a través de generaciones los individuos heterocigóticos AS han incrementado su frecuencia en estas regiones. Este es el resultado de una desviación explicable por fuerzas de selección sobre un genotipo en particular.

Cuando las fuerzas selectivas operan en ambas direcciones manteniendo o eliminando a un alelo mutado la situación se describe como un polimorfismo balanceado.

Otro fenómeno que pueden repercutir en afectaciones del equilibrio genético en las poblaciones es el de las migraciones.

En la historia de las migraciones se produce un fenómeno denominado *deriva genética*. Como ya hemos analizado cuando ocurre una mutación, su presencia inicial se debe a una simple copia entre todos los alelos de ese locus en la población en estudio. La probabilidad de que esta mutación eleve su frecuencia por generaciones depende como ya se ha analizado, de su aptitud reproductiva y de las fuerzas de selección natural que operan sobre ella. Si un individuo que presenta esta mutación migra hacia una región de una pequeña población, la frecuencia de esa mutación en esa región puede, al paso de varias generaciones ser mayor que la existente en el país de origen, fenómeno al que se le denomina deriva genética ya que, mientras que la población se mantenga pequeña, puede haber una considerable fluctuación en la frecuencia génica.

Si ocurriera que uno de los fundadores originales de un nuevo grupo fuera portador de un alelo relativamente raro, y este queda fijo en el nuevo grupo con una frecuencia relativamente alta estaremos en presencia de lo que se conoce como *efecto fundador*. En la literatura genética hay múltiples ejemplos de este fenómeno. En Cuba la Ataxia Espino Cerebelosa tipo 2 (SCA 2) autosómica dominante, que tiene una alta frecuencia en la provincia de Holguín es el resultado de un efecto fundador debido al asentamiento de un español que portaba esta enfermedad en esta región de Cuba.

Otro fenómeno dentro de las migraciones es el denominado flujo genético, que a diferencia de la deriva genética involucra a un grupo poblacional que migra hacia otra población con su propia frecuencia génica incorporándola gradualmente a la bolsa de genes de la población donde se instalan. Las frecuencias de los alelos del sistema de grupos sanguíneos ABO muy estudiado en numerosas poblaciones presentan evidencias de este fenómeno. La transferencia de genes entre grupos raciales es también un ejemplo de flujo genético. En Cuba la trata de esclavos por los españoles desde las regiones africanas endémicas de malaria y los propios asentamientos de los españoles en nuestro país han originado nuestra propia bolsa genética en la que por ejemplo la frecuencia genotípica de heterocigóticos AS para la AHF alcanza en la población general valores de 3.08 % y de 6.2 % en la población negra y mestiza.

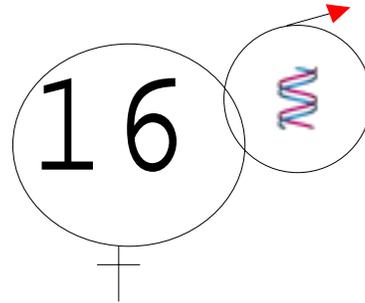
## **RESUMEN**

El propósito de este Capítulo ha sido identificar la importancia para la Genética Médica, del estudio de los genes en las poblaciones humanas, no solo para el conocimiento del origen de nuestra mezcla racial sino para tomar medidas preventivas específicas y com-

prender el origen y la frecuencias genotípicas y génicas de mutaciones raras una vez que se hayan realizado estudios epidemiológicos de sus frecuencias fenotípicas. Conocer las características del equilibrio genético de una población además ofrece la posibilidad de analizar las causas de sus desviaciones y de elaborar pronósticos de sus cambios en la medida en que se introduzcan nuevos tratamientos que mejoren la aptitud reproductiva de las personas afectadas o que a través del diagnóstico prenatal y el aborto selectivo se disminuya la aptitud reproductiva de un genotipo específico. La genética poblacional humana además pone en manos de genetistas dedicados a la epidemiología instrumentos que permiten caracterizar las frecuencias génicas y de esta forma identificar polimorfismos de marcadores genéticos y analizar sus relaciones como posibles genes susceptibles o incluso candidatos, para enfermedades comunes o características conductuales o funcionales complejas como se expresan en el Capítulo 16.

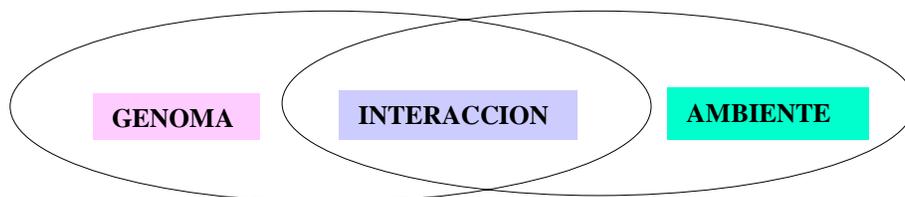
## HERENCIA MULTIFACTORIAL

Araceli Lantigua Cruz



Existen, en el genoma humano, grupos de genes que participan simultáneamente en la expresión de caracteres cuantitativos y que por lo tanto, están sujetos o son más susceptibles, a modificaciones determinadas por factores ambientales. Expresan rasgos continuos o cuantitativos, pero sus anormalidades se nos presentan de forma abrupta en defectos congénitos aislados, o como enfermedades complejas sin aparentes defectos clínicos neonatales.

La herencia multifactorial se considera aun pobremente comprendida. Como su nombre indica, se encuentran involucrados tanto factores genéticos como ambientales, es un reto inmediato de las investigaciones que enfoca el PROYECTO GENOMA HUMANO, ya que involucra a un considerable número de enfermedades del adulto que causan baja calidad de vida o mortalidad precoz. Con el conocimiento de la función de los genes que tienen participación en estas enfermedades genéticas, o al menos la posibilidad de encontrar genes candidatos de susceptibilidad genética por encontrarse asociados a estas, se busca la posibilidad de su prevención, tanto preconcepcional como postnatal y hacia la comprensión y búsqueda de su patogénesis, y alternativas en farmacoterapia más individuales y efectivas.



En este capítulo abordaremos el análisis de la interacción de poligenes, cuyo efecto aditivo en la expresión de un carácter, explica la aparición de rasgos cuantitativos y al propio tiempo, la participación que el ambiente puede tener en la modificación fenotípica de la expresión de estos tipos de rasgos.

## FRECUENCIAS DE GENOTIPOS Y FENOTIPOS PARA RASGOS DISCONTINUOS

Para comprender la herencia multifactorial es necesario analizar la distribución de genotipos de acuerdo con el número de loci involucrados y la expresión de sus correspondientes fenotipos.

Cuando analizamos un carácter monogénico determinado por un solo locus con sus respectivos alelos A y a, los heterocigóticos son los más frecuentes de los tres genotipos que se presentan, sin embargo, el fenotipo determinado por rasgos discontinuos solo distingue dos posibilidades dominante o recesivo, como se observa en la figura 16.1.

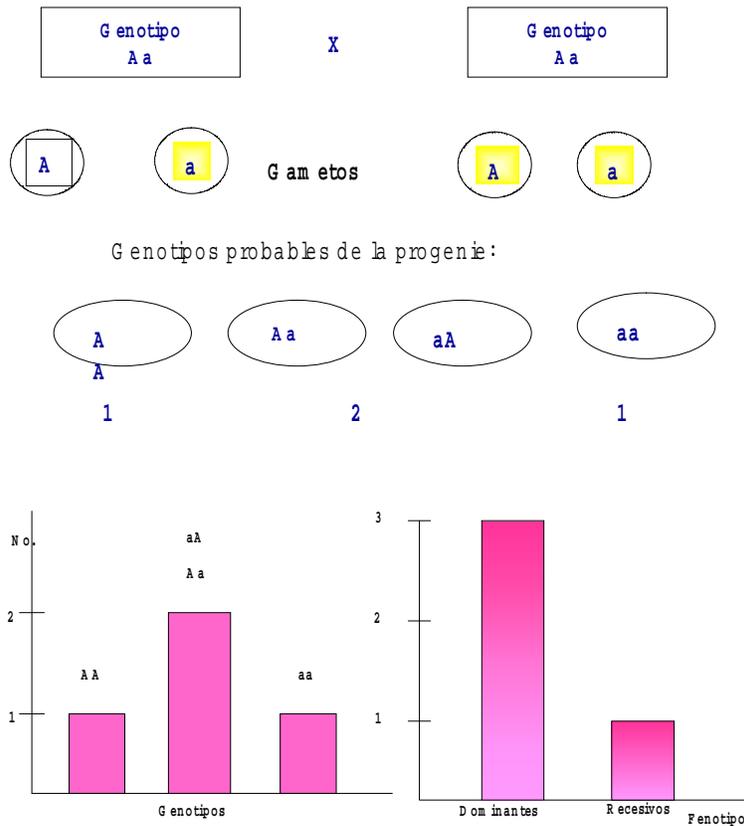


Figura 16.1. Distribución en la población de genotipos y fenotipos para dos alelos A y a, con relación de dominancia completa.

Por otra parte, al analizar cómo se distribuyen en la población las 16 combinaciones entre gametos que segregan dos caracteres independientes, estos se agrupan en la población de modo tal que las combinaciones doble heterocigóticas son los genotipos más frecuentes y el resto se distribuyen a ambos lados de la frecuencia mayor, siguiendo una distribución estadística normal, no sucede así con la distribución de fenotipos, que como se observa en el gráfico de la figura 16.2, las barras son mayores para los fenotipos dominantes.

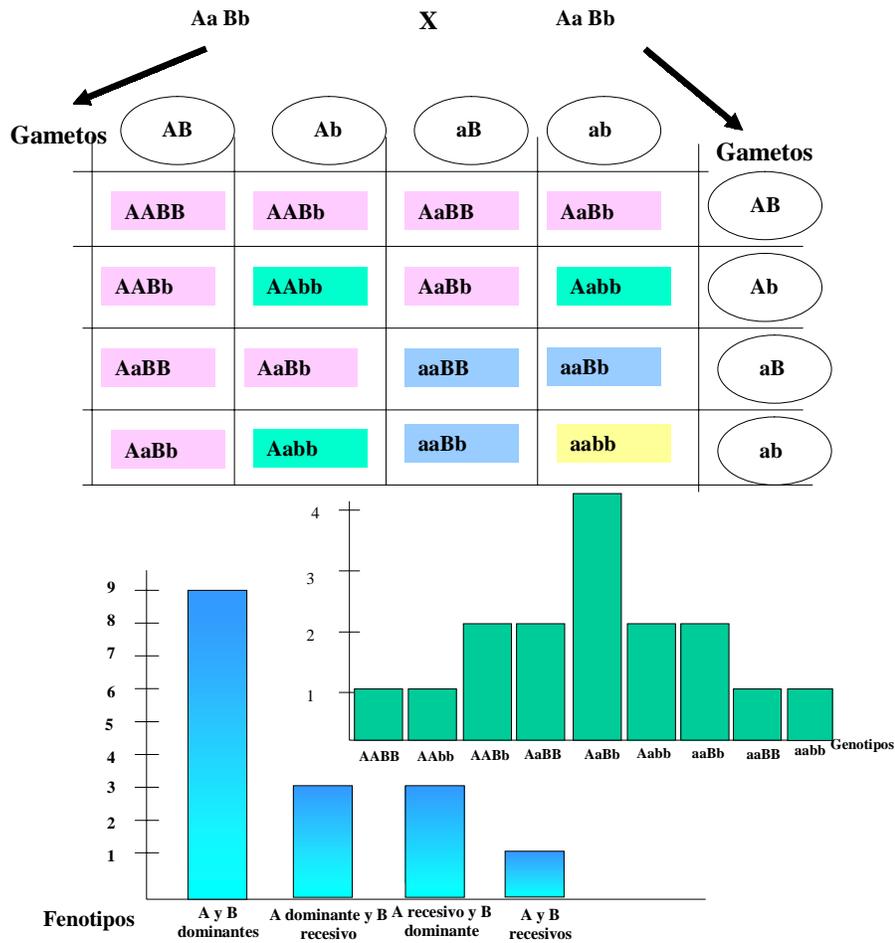


Figura 16.2. Distribución en la población de dos loci independientes y con relación de dominancia completa entre sus alelos.

## FRECUENCIAS DE GENOTIPOS Y FENOTIPOS PARA RASGOS CONTINUOS

Pero si tenemos que para una planta el carácter talla está determinado por tres loci, cada uno de ellos con dos alelos que presentan interacción aditiva entre ellos; por ejemplo, el locus "X" (alelos X, x), locus "Y" (alelos Y, y), locus "Z" (alelos Z, z) de modo tal que el genotipo xx yy zz tiene una talla base de 60 pulgadas; mientras que cada alelo en mayúscula adiciona a esta talla base 3 pulgadas, proporcionando al genotipo XX YY ZZ una talla 78 pulgadas.

Si como aparece en el esquema de la figura 16.3, se produce un cruce entre dos líneas puras, para estos genotipos tendremos que la F1 estará formada genotípicamente por un trihíbrido, pero fenotípicamente por un fenotipo que resulta de la interacción entre los tres loci para expresar una talla intermedia de 69 pulgadas entre sus dos parentales que expresan tallas de 78 y 60 pulgadas respectivamente.

Analicemos entonces la descendencia de un cruce entre dos F1 y como se observa en la tabla de la figura 16.4, la cantidad de genotipos es tal que proporcionan una distribución estadística normal en la descendencia obtenida, donde la talla más frecuente se corresponde con 69 pulgadas. No es difícil comprender que cualquiera de estos genotipos tendrá gran predisposición a cambiar su fenotipo, con la acción de factores ambientales como el acceso al agua y nutrientes orgánicos y minerales de diferentes tipos y que pudieran incrementar o disminuir la talla de cualquiera de los genotipos, pero que sin embargo algunos de ellos podrían ser más vulnerables a estos factores.

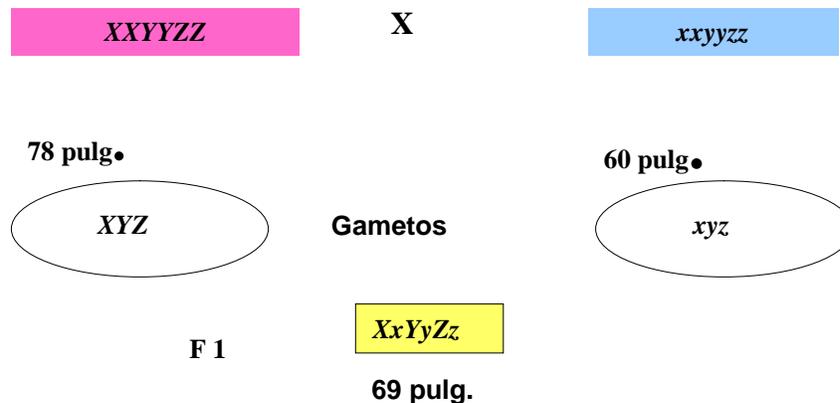


Figura 16.3 Cruzamiento entre líneas puras para tres loci con efecto aditivo en la talla de la planta

XxYyZz

XxYyZz

X

F1	GENOTIPO	ALTURA	F1	GENOTIPO	ALTURA
1	XXYYZZ	78	2	XxYYZZ	69
2	XXYYZz	75	4	XxYYZz	66
2	XXYyZZ	75	1	xxYYZZ	72
2	XxYYZZ	75	2	xxYYZz	69
4	XxYyZZ	72	2	xxYyZZ	69
4	XxYYZz	72	4	xxYyZz	66
4	XxYyZZ	72	1	xxYyZz	66
8	XxYyZz	69	2	Xzxxyy	63
1	XXYYzz	72	1	xxyyZZ	66
2	XXYyzz	69	2	xxyyZz	63
2	XxYYzz	69	1	xxYYzz	66
4	XxYyzz	66	2	xxYyzz	63
1	XxYyZZ	72	1	xxyyzz	60
2	XxYyZz	69			

Altura en pulgadas	60	63	66	69	72	75	78
Frecuencia en número	1	6	15	20	15	6	1

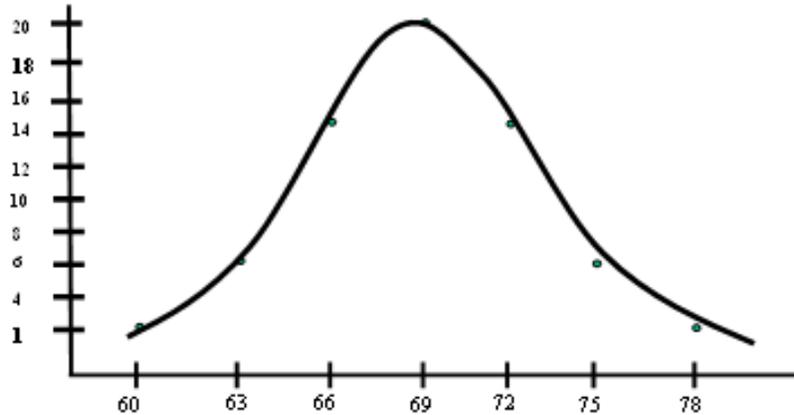


Figura 16.4. Distribución de fenotipos y genotipos para tres loci con dos alelos cada uno, con efecto aditivo en su expresión.

En este ejemplo, el carácter talla determinado por la acción aditiva de los loci X, Y y Z es el resultado de la acción de los alelos correspondientes a estos loci y que forman poligenes cuya segregación determina una herencia poligénica. A este tipo de herencia también se le conoce como herencia cuantitativa, porque estudia la expresión de rasgos que se miden y que tienen una expresión continua.

## HERENCIA MULTIFACTORIAL

Las mutaciones que ocurren en alguno de los genes involucrados en un rasgo específico, dan lugar a genotipos más predispuestos a modificaciones condicionadas por situaciones ambientales de ahí que también se conozca a este fenómeno como herencia multifactorial.

Entre los caracteres genéticos con herencia multifactorial se encuentran:

- Rasgos cuantitativos como el coeficiente de inteligencia, la talla, la circunferencia cefálica, el conteo de crestas digitales de los dermatoglifos, el índice de refracción de los medios transparentes del ojo, los valores de tensión arterial, entre los más conocidos. En el histograma de la figura 16.5 las barras representan el número de individuos con un coeficiente de inteligencia determinado y en su interior aparecen los genotipos que expresan coeficiente de inteligencia específico.

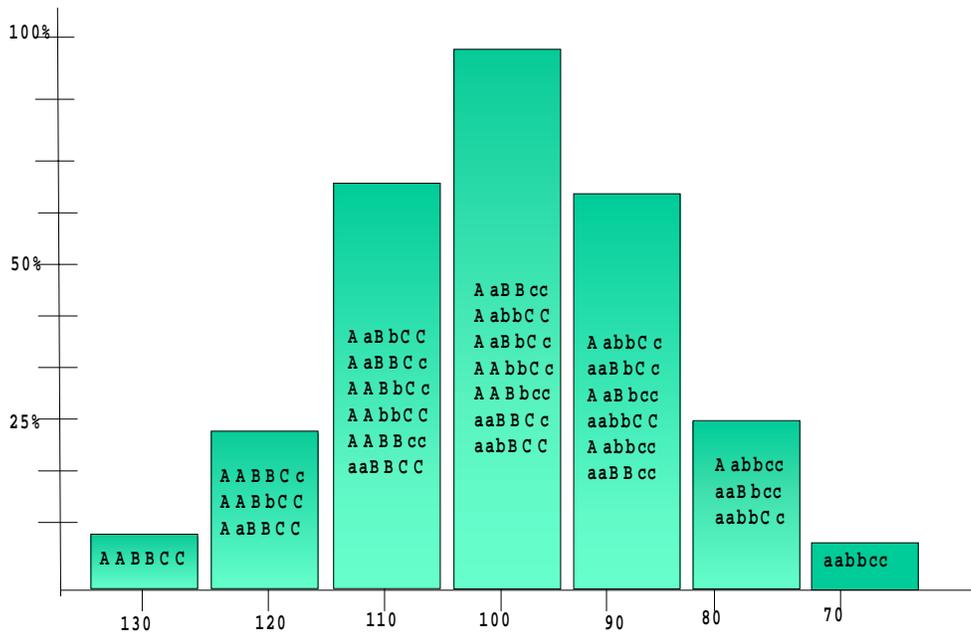


Figura 16.5. Distribución del coeficiente de inteligencia y de los genotipos posibles. Observe que en los extremos de la curva están los muy inteligentes con coeficientes de 120 y 130 y los menos inteligentes con coeficientes entre 80 y 70.

- . Un segundo grupo está representado por defectos congénitos con un umbral relacionado con un genotipo subyacente. Aquí a la predisposición genética, se le suma, una acción ambiental desfavorable que precipita el nacimiento de un niño con alguna de las malformaciones genéticas con este tipo de herencia como: los defectos de cierre del tubo neural, el labio leporino y paladar hendido, los defectos congénitos del corazón etc.
- . Un tercer grupo de defectos con este tipo de herencia, se encuentra formado por las denominadas enfermedades comunes del adulto, como son: la hipertensión arterial, las enfermedades coronarias, la diabetes mellitus, el asma bronquial, las depresiones o enfermedades bipolares, la esquizofrenia, el cáncer.

El fenotipo expresado por la acción aditiva de los genes involucrados en la herencia multifactorial, presentan una distribución normal. Los extremos de esta curva representan a la población cuyos genotipos son más resistentes o más predispuestos a la acción desfavorable del ambiente.

## **HEREDABILIDAD**

Con el objetivo de separar los roles relativos a los genes y al ambiente, se ha desarrollado el concepto de *heredabilidad* y al propio tiempo se han diseñado métodos matemáticos para su estimación.

El término *heredabilidad* se refiere en sentido general, a conocer si el papel genético en determinado fenotipo, es mayor o menor, se expresa como  $h^2$ . A diferencia del análisis que podemos realizar a partir del fenotipo expresado por una simple mutación, por la segregación de sus alelos en una familia, en el caso de la herencia multifactorial el componente genético ha de investigarse por la expresión del defecto en poblaciones específicas, y cada población tendrá su propia heredabilidad, es por esta razón que se trabaja con desviación estándar y varianzas.

El fenotipo (F) de un rasgo multifactorial está dado por la suma de tres valores:

1. g, contribución de un factor genético aditivo. Este valor se caracteriza por una varianza G.
2. b, contribución del ambiente dentro de la familia en estudio. Su varianza es B.
3. e, la contribución azarosa de los factores ambientales. Su varianza es E.

Entonces:  
 $F = G + B + E$

Y la heredabilidad:  
 $h^2 = G / G + B + E = G / V$

O sea, la relación entre la varianza genética (G) y la varianza fenotípica que se encuentra sometida a la acción genética y ambiental (V).

Otro método para el cálculo de la heredabilidad es el que se realiza a través de gemelos, comparando los datos relacionados con la concordancia que existe entre los gemelos con relación a un rasgo o defecto específico y que se estima se deba a variaciones en poligenes. Los gemelos monocigóticos (MZ) comparten el 100% de sus genes y siendo así cabe esperar que ambos gemelos presenten el rasgo o enfermedad, mientras en el caso de los dicigóticos (DZ) desde el punto de vista genético se comportan como dos hermanos que comparten la mitad de sus genes. El cálculo de la heredabilidad en estos casos se determina teniendo en cuenta la de la concordancia en gemelos DZ restando la varianza de concordancia entre gemelos MZ y dividiendo estos resultados entre la varianza de concordancia en DZ.

$$h^2 = (\text{Varianza en DZ} - \text{Varianza en MZ}) / \text{Varianza en DZ}$$

Si el rasgo está determinado fundamentalmente por el ambiente esta razón se aproxima a cero, por otro lado si la determinación tiene una base genética principal la varianza de concordancia debe ser muy alta en MZ y la razón se aproxima a 1.

Los estudios entre gemelares tienen una importancia particular para determinar heredabilidad, porque los gemelos monocigóticos tienen igual genoma y comparten el mismo ambiente intrauterino y los dicigóticos porque con genomas diferentes, comparten el mismo ambiente intrauterino.

PARENTESCO	PROPORCIÓN DE GENES EN COMÚN
<b>GEMELOS MONOCIGOTICOS</b>	<b>1</b>
<b>FAMILIARES DE PRIMER GRADO</b>	<b>1/2</b>
<b>FAMILIARES DE SEGUNDO GRADO</b>	<b>1/4</b>
<b>FAMILIARES DE TERCER GRADO</b>	<b>1/8</b>

## MODELO DE PREDISPOSICIÓN GENÉTICA

La incidencia poblacional de un defecto indica un umbral determinado por la carga genética de la población en el extremo de la curva donde se encuentran los individuos con mayor predisposición genotípica para el rasgo o defecto en estudio y que se expresa con el color azul de la figura 16.6.

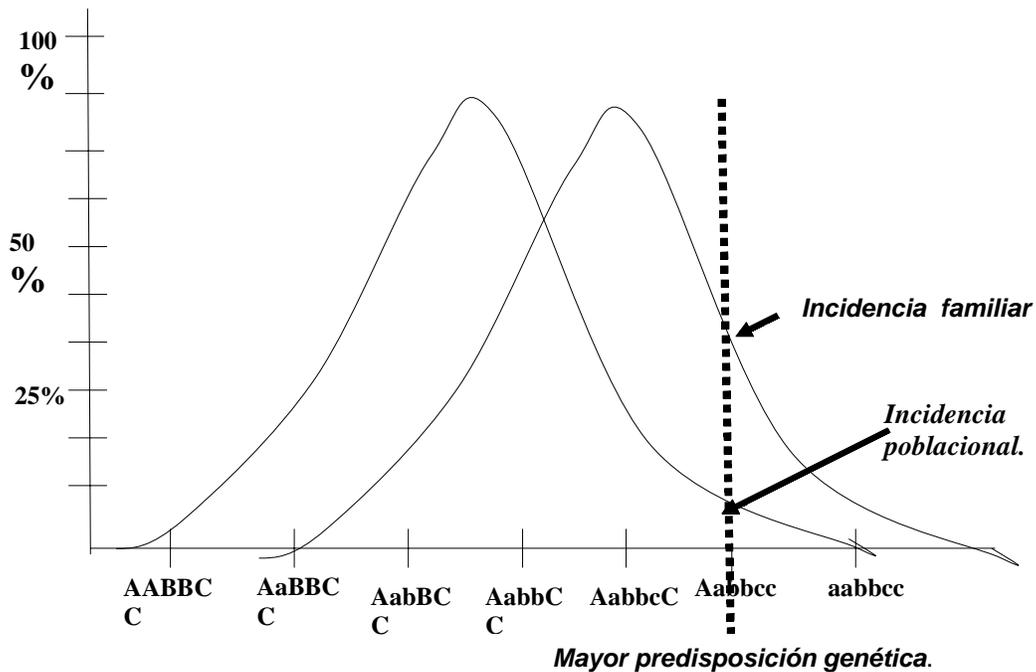


Figura 16.6. Modelo de carga genética y de umbral. Observe que los individuos emparentados con los individuos afectados comparten genotipos similares.

Al realizar la investigación de la incidencia del defecto entre los familiares de primer grado de los individuos afectados en la población, la predisposición genética aumenta cuando hay mayor agregación familiar y por tanto, la incidencia será mucho mayor en este grupo de familiares que la observada en la población general, o sea la carga genética es mayor y el umbral de incidencia también lo es, como se aprecia en la curva en rojo de la figura 16.6.

Si la incidencia poblacional y familiar son parecidas, la agregación familiar es de baja frecuencia y entonces la heredabilidad será baja, y el papel preponderante lo tiene el ambiente. Si ocurre lo contrario, significa que debe haber un componente genético importante y se puede suponer que el genotipo determinado por poligenes tiene mayor similitud con el genotipo del afectado, en sus familiares de primer grado, es decir hay una elevada predisposición genética a factores ambientales específicos.

El estudio de la heredabilidad en gemelos es el método preferible para conocer con mayor precisión la participación genética del carácter en estudio. Se basa como ya se ha referido, en determinar el grado de concordancia entre gemelos monocigóticos y dicigóticos. La concordancia entre gemelos monocigóticos, ha de ser alta si la participación genética es alta y baja si la participación en la ocurrencia del defecto, es predominantemente ambiental.

## **DEFECTOS CONGÉNITOS DE HERENCIA MULTIFACTORIAL**

Hay poligenes que actúan en la morfogénesis y en casos de mutaciones de algunos de ellos, el genotipo puede tener determinada predisposición genética que lo hace más susceptible a defectos ambientales maternos prenatales que podrían ser de tipo nutricional como se conoce en los defectos de cierre del tubo neural y las deficiencias de ácido fólico antes y durante la gestación. En estos casos la expresión consiste en defectos congénitos aislados con gradaciones variables en cuanto a gravedad estética, funcional o ambas para el individuo como se refiere en el capítulo 17. Ejemplos de estos defectos son las malformaciones del tubo neural como los encefaloceles, meningoceles, acráneos, defectos de la cara como labio leporino con o sin paladar hendido.

La probabilidad de recurrencia se basa en análisis empírico y específico para cada defecto y para cada población, a diferencia del análisis que se puede hacer cuando se trata de la segregación de mutaciones simples como ocurre en las herencias mendelianas.

En ocasiones aparecen en una familia varios individuos con similares defectos sin que puedan determinarse criterios para definir una herencia mendeliana.

Esto se debe a que en familias específicas, cuando la heredabilidad es elevada, hay mayor probabilidad de que varios miembros tengan genotipos más parecidos, y sean más susceptibles a las variaciones del ambiente. La generalidad de los defectos congénitos con este tipo de herencia multifactorial, presentan gradaciones de severidad en cada uno de ellos que se suponen están en correspondencia con el genotipo de modo tal que los más severos por ejemplo labio leporino doble con paladar hendido tienen un genotipo más comprometido que los que presentan un simple labio leporino unilateral. Los padres de

personas con estos defectos en consecuencia, tendrán mayor probabilidad de tener otros hijos afectados mientras más severo es el defecto en estudio como se expone en el capítulo 18.

## **HERENCIA MULTIFACTORIAL DE ENFERMEDADES COMUNES**

Las enfermedades comunes desde el punto de vista de la comprensión de la participación de genes específicos en estas, la posible heterogeneidad genética que desarrollan así como por las dificultades para precisar el punto de partida desde el cual un fenotipo correspondiente a un genotipo determinado puede ser reconocido como una enfermedad, resultan difíciles de estudiar.

Enfermedades como la epilepsia, la esquizofrenia, el asma bronquial, el cáncer, los defectos de atención, por nombrar solamente algunas, cuya alteración genética no obedecen a un defecto básico simple y en los que están implicados diversos mecanismos determinados por varios genes, se les denomina, dentro de esta etiología genética, enfermedades complejas

Los avances en la fisiopatología compleja de estos tipos de enfermedades y los mecanismos involucrados son elementos que justifican esta denominación. Los avances en la genética del cáncer son un ejemplo de ello.

La esperanza de vida ha ido variando en el humano a partir de los cuidados médicos y cambios en el panorama de las enfermedades infectocontagiosas así como en los factores nutricionales, todo ello apoyado por las medidas educativas y el incremento del nivel de instrucción, los medios de divulgación masiva y el acceso a estos. El crecimiento de la esperanza de vida es mayor en los países desarrollados y más lentamente pero en ascenso en países en vías de desarrollo.

Nuevas enfermedades con compromiso genético pueden delinearse a partir del adulto mayor de más de 65 años, se espera que en el año 2030, 1 de cada 5 personas tenga más de 65 años.

También aumenta el número de personas mayores de 85 años y más.

En este tipo de población hay un incremento de enfermedades comunes que se caracterizan por su cronicidad. Alrededor de dos tercios de la mortalidad de la población adulta es causada por enfermedades cardiovasculares, cáncer o padecen algún tipo de demencia o enfermedad bipolar.

Ahora bien el comienzo de la mayoría de las enfermedades crónicas tienen sus procesos patológicos subyacentes en el niño, adolescente y el adulto joven.

Casi todos tienen un significativo componente familiar, sugiriendo que la distribución de estas enfermedades no es al azar y que hay individuos con diferentes niveles de riesgo para su padecimiento.

No hay una definición apropiada ni aceptada para esta denominación. El término común se refiere a frecuencia y arbitrariamente se tiene en cuenta valores de un afectado por 1000 individuos de la población.

En algunos países enfermedades determinadas por defectos genéticos de la hemoglobina podrían ser catalogadas como tal.

Ejemplos de enfermedades comunes son:

- . Las cardiovasculares.
- . El cáncer.
- . El embolismo.
- . Enfermedades obstructivas crónicas.
- . El asma bronquial el enfisema pulmonar.
- . La diabetes.
- . Las enfermedades bipolares.
- . Las demencias.

## **SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA**

La base genética subyacente y el constante poner a prueba el genoma frente a las condiciones ambientales adversas, desencadena la expresión del defecto genético ya sea monogénico o poligénico.

El término empleado para referirnos a este fenómeno es el de susceptibilidad genética.

Así existe susceptibilidad genética incrementada para enfermedades monogénicas específicas, mutaciones del ADN mitocondrial y para defectos que involucran a poligenes.

El componente genético de una enfermedad común del adulto, está determinado por la predisposición genotípica y la susceptibilidad genética individual. El desarrollo o no de la enfermedad depende de la interacción del genoma en cuestión, con factores ambientales tales como:

- . Dieta.
- . Actividad que realice.
- . Exposición al ambiente.
- . En algún grado, a variaciones biológicas azarosas, como ocurre en el sistema inmune.

- . Y también por factores ambientales que pueden operar durante el desarrollo.

No existe distinción absoluta entre enfermedad común y enfermedad monogénica, pues estas últimas también pueden ponerse de manifiesto solamente al exponerse a un agente ambiental específico.

El estudio genético y molecular de estos tipos de enfermedades complejas, traen en muchas ocasiones, hallazgos de genotipos que a su vez definen el comportamiento de estos a las farmacoterapias específicas, que explican porque unos pacientes con el mismo defecto fenotípico para algunas de ellas, responden con diferentes grados de tolerancia a los efectos secundarios de las drogas empleadas. A este campo actual de investigaciones sobre le Genoma Humano se le conoce como farmacogenómica .

### **Riesgos de susceptibilidad genética**

Existen indicadores que pueden considerarse de riesgo de susceptibilidad genética para ciertas exposiciones ambientales

- . Personas heterocigóticas por ejemplo para alelos deficientes de la alfa 1 antitripsina.
- . Síntomas predictivos de susceptibilidad genética basados en el análisis de la historia natural de la enfermedad. Por ejemplo, un síntoma aislado puede ser predictor de susceptibilidad a una determinada situación ambiental para un individuo aun sano y que forma parte de una familia específica en la que se encuentran otras personas afectadas por la enfermedad en cuestión.
- . Susceptibilidad genética en respuesta a determinada farmacoterapia.
- . Susceptibilidad genética por presentar un marcador polimórfico fuertemente asociado con la enfermedad.

También existen mecanismos de reducción a la susceptibilidad, por ejemplo el heterocigótico para la hemoglobina S. Los heterocigóticos presentan manifestaciones clínicas más ligeras a la Malaria.

Polimorfismos para una mutación simple (frecuencia mayor de 1 al 2 % de heterocigóticos), un ejemplo la deficiencia de alcohol deshidrogenasa y su relación con la resistencia al alcoholismo en los asiáticos.

Hay grupos de enfermedades comunes que se encuentran asociados con simples mutaciones (monogénicas) por ejemplo la arterioesclerosis asociada a hipercolesterolemia en individuos con defectos del receptor a lipoproteínas de baja densidad (LDL) o el

enfisema pulmonar en individuos deficientes para alelos deficientes para la alfa 1 antitripsina como ya se ha expuesto.

La susceptibilidad para la mayoría de las enfermedades comunes es mucho más compleja, porque involucra a un número mayor de genes.

Aunque los genotipos poligénicos, involucrados para un carácter determinado, sean deficientes en alguno de sus genes, crearan respuestas en correspondencia con su susceptibilidad diferencial y las enfermedades comunes suelen ser muy heterogéneas.

Puede concluirse que diferentes mecanismos, llevan al mismo final clínico.

Por otra parte no todo individuo susceptible desarrolla la enfermedad, lo que hasta cierto punto demuestra y alienta sobre la eficiencia esperada de medidas preventivas específicas.

Al propio tiempo existen fenocopias causadas por agentes ambientales específicos, sin que se encuentren involucrados defectos genéticos subyacentes.

Por lo hasta aquí expresado, se puede esperar que en una población existan individuos tanto con una susceptibilidad genética aumentada como con una reducción de la susceptibilidad genética.

También podría esperarse resistencia genética, pero esta es más difícil de identificarse ya que no es posible por simple observación, encontrar diferencias genotípicas entre los individuos resistentes a una enfermedad específica y un individuo susceptible no enfermo.

Los ejemplos más conocidos de resistencia son los heterocigóticos para la anemia a hematies falciformes, las talasemias alfa y beta y para la deficiencia de G6PD en relación con la malaria.

## **DEMOSTRACIÓN DE LA EXISTENCIA DE UN COMPONENTE GENÉTICO EN LA EXPRESIÓN DE UNA ENFERMEDAD COMÚN**

El componente genético de una enfermedad común, puede sospecharse por:

- . La agregación familiar.
- . Variación de la frecuencia de la enfermedad en varios grupos étnicos.

La frecuencia de úlcera duodenal en familiares de individuos afectados es el doble que en controles no afectados, mucho más alta en Escocia que en América del Sur.

Lo mismo ocurre para enfermedades como la diabetes, la arterioesclerosis, artritis reumatoide, cáncer del colon.

Pero esto aun no prueba el componente genético de una enfermedad común.

La agregación familiar, puede resultar frecuente en miembros de una familia, por probabilidad, cuando la frecuencia de la enfermedad es alta en una población con sus características socioculturales específicas.

La frecuencia de una historia familiar positiva es una pregunta insegura.

Una historia familiar positiva muchas veces es ambigua. ¿Cuántos afectados?, ¿Qué porcentaje representa? Además el grado de parentesco no se incluye.

A esto se agrega el sesgo que constituye el hecho de que el afectado conoce su enfermedad pero no identifica síntomas en los familiares, que reporta como supuestamente sanos.

La agregación familiar en parientes de primer grado del individuo afectado puede compararse con un grupo control o con la incidencia poblacional.

Por ejemplo, los familiares de primer grado de individuos diabéticos insulino dependientes tienen una frecuencia del 5 al 10 % muy elevada al compararla con la frecuencia poblacional de 1 en 500.

Los patrones de migración de grupos étnicos pueden sugerir que existe un factor genético involucrado.

Por ejemplo la frecuencia de diabetes insulino no dependiente en judíos yemenitas es del 5 al 10 % en una generación y disminuye en las generaciones que migran a Israel.

¿Por qué solamente una fracción de la población, manifiesta la enfermedad?

También las diferencias clínicas de la enfermedad, entre grupos étnicos son importantes, porque sugiere heterogeneidad genética mientras que las diferencias en frecuencias y en la clínica sugieren participación genética, ambiental o ambas.

El conocimiento del componente genético de una enfermedad común se apoya en:

1. El estudio de modelos en animales. Si existe una enfermedad análoga a la del humano en animales, se puede experimentar haciendo cruzamientos. Si el componente genético es inequívoco, habrá que preguntarse si será equivalente en el humano y plantearse nuevas exploraciones.
2. La ocurrencia de síndromes genéticos con implicaciones de la enfermedad en estudio, podría reflejar la existencia de factores genéticos para la enfermedad, por ejemplo la poliposis del colon, el síndrome caracterizado por diabetes insípida, diabetes insulino dependiente y atrofia óptica. Incluso el gen de la poliposis del colon, se ha localizado en el cromosoma 5 y esta información puede utilizarse para investigar el papel genético del cáncer común del colon.
3. Estudios en gemelos permiten conocer la tasa de concordancia de enfermedades en uno o en ambos miembros de gemelos mono o dicigóticos. Una alta concordancia

cia entre MZ en relación con DZ indica factor genético, igual tasa de concordancia indica mayor efecto ambiental. Algunas veces es difícil distinguir herencia o ambiente entre MZ ya que su idéntico genotipo los hace seleccionar idénticos ambientes, un ejemplo de ello se relaciona con enfermedades como la cardiopatía isquémica, la úlcera péptica, enfermedad celiaca, diabetes, esquizofrenia. En estas enfermedades, la tasa de concordancia es más alta en gemelos MZ que en DZ. Raramente la tasa de concordancia entre MZ es del 100% y esto evidencia componente ambiental de la enfermedad. En estos casos el análisis de incidencia entre diversos grupos étnicos sirven para inferir el componente genético y ambiental.

4. El control entre esposos permite investigar el componente ambiental en el adulto pero no en la infancia. Es importante la comparación entre los esposos y los familiares de primer grado de estos.
5. Estudios de adopción. En este caso el adoptado no comparte el genoma de la familia pero si el ambiente. Hay que tener en cuenta que las adopciones muchas veces se realizan por similitud fenotípica no solo entre niños de la familia sino también entre sus padres adoptivos.
6. Genes marcadores. Un estudio de la enfermedad en relación con genes marcadores conocidos como ocurre con los haplotipos de HLA, grupos sanguíneos, polimorfismos de ADN, pueden demostrar: Asociación en estudios poblacionales o ligamiento en estudios familiares. En el primer caso la comparación entre población afectada y población sana, en el segundo caso, se requiere la presencia de dos o más individuos afectados en la familia.

Ejemplos de asociaciones son el grupo sanguíneo A y la úlcera gástrica, el grupo sanguíneo O y la úlcera péptica; la asociación de HLA-B27 con la espondilitis anquilosante, con un riesgo relativo del 100%. La asociación entre bases genéticas y mecanismos inmunológicos.

## **MÉTODOS PARA DEMOSTRAR HETEROGENEIDAD GENÉTICA EN LA HERENCIA MULTIFACTORIAL**

Las observaciones en estudios epidemiológicos en relación con las diferencias en los síntomas de la misma enfermedad común en diferentes grupos étnicos, diferencias fisiológicas, marcadores subclínicos familiares indican gran heterogeneidad genética que puede explicarse por tratarse de varios genes con similar efecto aditivo o por el efecto de diversos tipos de mutaciones que involucran a uno varios genes mayores en un grupo de poligenes específicos.

Lo hasta aquí expuesto justifica que para el análisis de una herencia multifactorial de un defecto específico de los relacionados en este capítulo, es necesario tener en cuenta en el diseño experimental, definiciones acerca de las características clínicas que han de tener los individuos afectados, por ejemplo si se quiere estudiar, la heredabilidad de la hipertensión arterial habrá que hacer un exámen clínico que permita identificar solamente a los casos que presenten hipertensión arterial esencial y excluir del estudio a los individuos que presenten hipertensión arterial secundario a una hipercolesterolemia familiar. Definir el espectro de síntomas que se observan en la enfermedad y cuales de ellos se tendrán en cuenta para definir si un familiar de primer grado está o no afectado.

### **CARACTERÍSTICAS COMUNES A TODO RASGO EN EL QUE SE SOSPECHE HERENCIA MULTIFACTORIAL**

Es preciso resumir los aspectos que deben tenerse en cuenta en el análisis de la herencia multifactorial y que se relacionan a continuación:

- . Aunque la enfermedad o el defecto congénito tienen evidencia de herencia familiar no es posible distinguir un patrón mendeliano de la misma.
- . La presencia de familiares de primer grado afectados se debe a la predisposición genética o sea a la probabilidad de que sus genotipos sean más parecidos.
- . La probabilidad de afectados entre familiares de segundo y tercer grado declina o es menor porque ya sus genotipos no son tan parecidos.
- . La probabilidad de nuevos individuos afectados en la familia es mayor mientras más personas afectadas hay en la misma, lo que se explica por el parecido de sus genotipos o predisposición genética.
- . La consanguinidad es un fenómeno que conduce a una mayor probabilidad de hermanos con genotipos poligénicos similares y por tanto con mayor predisposición a presentar el mismo defecto congénito o enfermedad compleja del adulto. Por ejemplo retraso mental, esquizofrenia, enfermedad coronaria, labio leporino, cardiopatías congénitas por citar algunos ejemplos).
- . Entre gemelos monocigóticos y dicigóticos no hay la misma concordancia para los defectos congénitos, siendo esta mayor en los MZ, ya que tienen igual genotipo y comparten iguales factores ambientales en el claustro materno. De igual forma ocurre cuando ambos comparten el mismo ambiente postnatal.

## RESUMEN

Los rasgos cuantitativos corresponden generalmente con la acción aditiva de varios loci en el efecto final del fenotipo, cuando se pueden medir es posible hacer hipótesis acerca de sus posibles genotipos. Para su estudio es imprescindible la realización de estudios poblacionales donde se midan uno a uno de los individuos estos caracteres como la talla la circunferencia cefálica o el coeficiente de inteligencia por solo mencionar a algunos de ellos. Los defectos congénitos de etiología genética son el resultado de un efecto umbral y se presentan abruptamente como los rasgos discontinuos, sin embargo cada día hay más evidencias de la relación aditiva que existe entre los genes que actúan durante el desarrollo y el efecto que factores ambientales, preferentemente de tipo nutricional ejercen sobre la expresión de estos genes. Un individuo puede tener por su genotipo una mayor o menor predisposición genética para una malformación específica pero si el efecto ambiental no hace diana en el proceso de desarrollo en el cual están involucrados esos genes, no aparecerá el defecto. Una evidencia de que se trata de defectos continuos lo constituye las gradaciones de severidad que se observan en los mismos y que de forma empírica se utilizan para determinar el rango de probabilidad de repetición del mismo en la familia. Una pareja que ha tenido un hijo con labio leporino unilateral aislado solamente a nivel de las estructuras labiales tiene menor probabilidad de tener otro hijo afectado que una pareja con un hijo que presenta como defecto malformativo único también labio leporino pero doble y que además tiene paladar hendido.

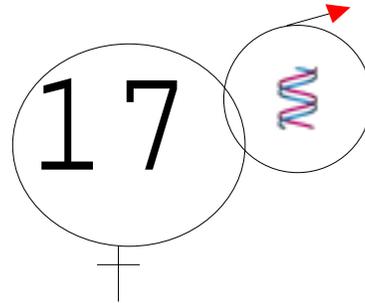
Otras enfermedades genéticas estudiadas en este capítulo se relacionan con las enfermedades comunes por su frecuencia unas características del adulto y cuya frecuencia se han incrementado con la prolongación de la vida y otras comunes en niños y adolescentes como el autismo, la epilepsia y otros trastornos del sistema nervioso central.

El cálculo de la heredabilidad es un instrumento de utilidad para los genetistas e investigadores del tema ya que permite identificar la magnitud del papel genético o ambiental en la expresión del carácter en cuestión y puede ser una guía valiosa para identificar prevención o la acción de genes específicos.

Poder esclarecer la genética de la herencia multifactorial a través del estudio poblacional de enfermedades de este tipo es uno de los objetivos actuales del proyecto Genoma Humano.

## DEFECTOS CONGÉNITOS DE ORIGEN GENÉTICO Y AMBIENTAL

Araceli Lantigua Cruz



*Se describe como un defecto congénito toda aquella anormalidad de estructura anatómica visible al examen clínico del recién nacido, o posterior al nacimiento, cuando se hace patente el defecto funcional de un órgano interno afectado anatómicamente, por ejemplo cardiopatías, defectos renales o del sistema excretor, defectos de las vías biliares, de las vías digestivas, etc.*

*Estos defectos pueden ocurrir de forma aislada, o como defectos congénitos múltiples, y la mayoría de las veces sus factores causales son interpretados como enfermedades genéticas o "taras familiares". Los padres de un bebé que nace con algún tipo de defecto congénito generalmente se preguntan: ¿Por qué a mi, si en nuestras familias no hay estos antecedentes? O cuando el defecto realmente es de origen hereditario y el neonatólogo los envía a consulta de genética, afirman casi con alegría ..."es la marca de la familia", sobre todo si el defecto procede por la vía paterna, y en estos casos le restan importancia al mismo, ya que se conoce en la familia la historia natural del defecto y tienen experiencia de cómo abordar por su cuenta el defecto, o si tienen mayor severidad, exigen la atención temprana que ya conocen resulta más efectiva para tratar el problema de su hijo lo más adecuadamente posible.*

*Por otra parte, como se analizó en el Capítulo 1, los defectos congénitos también aparecen por la acción de agentes ambientales a los que se expone la embarazada y que interfieren en el desarrollo normal del embrión.*

*Dos conclusiones pueden estar latentes en esta introducción:*

*No todos los defectos congénitos tienen una etiología genética, ni todas las enfermedades genéticas presentan defectos congénitos.*

*En este capítulo se abordarán los factores etiológicos que determinan la presencia de los defectos congénitos y esperamos que el lector aclare sus dudas en relación con este tema.*

## TIPOS DE DEFECTOS CONGÉNITOS

Teniendo en cuenta que las anomalías congénitas pueden tener un factor causal genético o ambiental, es preciso utilizar el término defecto al referirnos a los mismos mientras no se tenga conocimiento del factor causal que pudo originarlo.

Los defectos congénitos por su magnitud se distinguen como mayores y menores. Los primeros, relativos a los defectos que tienen un compromiso funcional importante para la vida del individuo, tienen consecuencias médicas, estéticas, requieren de atención temprana, algunas veces de urgencia y por tanto tienen también repercusión social. Tienen una frecuencia del 2 al 3 % de los recién nacidos (Figura 17.1).



Figura 17. 1. A: Defecto congénito mayor. B: Defecto congénito menor. C: Signo dismórfico.

Los denominados defectos menores son defectos estructurales relativamente frecuentes, que denotan un crecimiento desproporcionado de una parte anatómica, que no tienen un significado relevante en la atención médica y que tampoco tienen un significado especial a nivel social. Son defectos que tienen más bien un significado predictivo sobre el origen prenatal de un estado patológico específico, como por ejemplo el retraso mental. Estas anomalías menores se sobrelapan con pequeñas anomalías descritas como signos dismórficos, se presentan con una frecuencia aproximada del 15%.

También se ha observado que en recién nacidos con ausencia de signos dismórficos, la frecuencia de defectos congénitos mayores es menor al 1%, mientras que cuando hay un solo signo dismórfico, la probabilidad de un defecto mayor es del 3%. Cuando hay dos defectos menores el riesgo de que se presente un defecto mayor es del 10% y cuando hay tres o más defectos menores la frecuencia de un defecto mayor se eleva al 20%, por lo que el examen y detección de defectos menores o signos dismórficos, es importante para el diagnóstico o detección de defectos mayores estructurales o funcionales, sobre todo de órganos internos que no pueden ser detectados fácilmente por la simple observación.

## DEFECTOS CONGÉNITOS Y MORFOGÉNESIS

Los defectos congénitos, en sentido general, ocurren durante la morfogénesis, en el periodo embrionario, desde la tercera semana hasta la octava semana con prolongación hasta la semana 12 del desarrollo, ya que hay estructuras como el cerebro, los dientes, los genitales, los órganos de la audición y de la visión, y los pliegues de flexión de las manos y pies, que se extienden más allá de las ocho semanas.

Hay al menos cuatro tipos de problemas o patogénesis que afectan la morfogénesis generando los defectos congénitos (Figura 17.2), ellos son:

1. La pobre formación de un tejido debido a defectos genéticos propiamente dichos y que ya han sido estudiados, pero en los cuales la anomalía genética afecta a genes involucrados en el desarrollo. Son a estos tipos de defectos congénitos, a los que se les denomina *malformación*.
2. Efecto de fuerzas inusuales sobre los tejidos genéticamente bien formados, a estos defectos congénitos se les denomina *deformidad*.
3. Ruptura de tejidos y red de vasos sanguíneos genéticamente bien formados y que se conocen como *disrupción*.
4. Un cuarto tipo de problema de la morfogénesis se conoce como *displasia* y se refiere a la organización anormal de las células de un tejido. Las displasias tienen un origen genético.



Figura 17.2 A: Disrupción. B: Deformidad. C: Malformación. D: Displasia

En ocasiones hay solapamiento entre estos tipos de defectos, que están en correspondencia con el momento del desarrollo embrionario en el que hacen su aparición. Cuando esto ocurre en estadios muy tempranos del desarrollo, es difícil su determinación y quedan en la mayoría de las veces, enfocados como malformaciones, sobre todo cuando no hay evidencia alguna de deformidades o interrupciones.

## **MECANISMOS MOLECULARES Y CELULARES DEL DESARROLLO EMBRIONARIO**

Cuando se produce la fecundación, comienza un nuevo ciclo celular en el que se enfrentan los cromosomas y genes homólogos de los 23 cromosomas que contienen los pronúcleos masculinos y femeninos. Durante las primeras divisiones mitóticas del cigoto, el ciclo celular se distingue por presentar solamente las fases de síntesis y división celular.

Cuando las células comienzan a diferenciarse, de nuevo en el ciclo celular se evidencian sus cuatro fases y esto está en correspondencia con la producción de ARNm de la expresión de proteínas, a partir de los genes del nuevo genoma.

Esto nos permite reflexionar sobre el origen materno de las proteínas utilizadas en G1, S, y G2, y probablemente en la totalidad de las primeras divisiones mitóticas del periodo de segmentación. Los ARNm para la síntesis de estas proteínas provienen exclusivamente de genes maternos, como ocurre en la *Drosophila melanogaster*, o sea de las células maternas de origen folicular que rodean al óvulo o corona radiante que permanecen hasta la formación del blastocisto rodeando a esta estructura.

Recordemos además que el genoma mitocondrial es transmitido solamente por la vía materna.

Existen genes de la polaridad que pertenecen al genoma de la madre, que tienen la información que establece la polaridad céfalocaudal, dorsoventral, mediolateral y que definen lateralidad derecha e izquierda del cuerpo. Esto se ha observado en el modelo corporal de la *Drosophila melanogaster* y se supone pudiera ser similar en el humano.

Ahora bien, a partir del cigoto ocurren un número de eventos, todos regulados y programados genéticamente, que se describen tanto en la embriología descriptiva como en la embriología experimental, esta última ya cuenta con muchos avances que explican desde el punto de vista celular y molecular, los cambios que se describen en la primera.

## Eventos moleculares

Los genes involucrados en todos los mecanismos celulares son en su mayoría factores de transcripción, que tienen una función específica en el desarrollo embrionario.

Estos factores de transcripción, se clasifican, atendiendo a su especificidad sobre genes o tejidos, como inespecíficos (porque actúan sobre gran variedad de genes) y específicos de tejidos, por su acción sobre genes específicos que van a determinar el destino de un tejido determinado.

Estos factores de transcripción de genes involucrados en el desarrollo funcionan al unirse al promotor del gen en cuestión, cambiando la estructura del ADN, que contiene el gen, de modo tal, que se inicia la transcripción del mensaje en el ARN m y posteriormente, la proteína que será la estructura molecular que regula la realización de un proceso celular específico.

Las secuencias de ADN con funciones de promotores se encuentran adyacentes al ADN con funciones codificantes, o muy cerca de estas regiones, pero las secuencias de ADN con funciones de potencializadores o amplificadores de los promotores, son segmentos del ADN, que pueden estar físicamente muy lejos del gen y que como su nombre lo indica, modifican la acción del promotor como se esquematiza en la Figura 17.3.

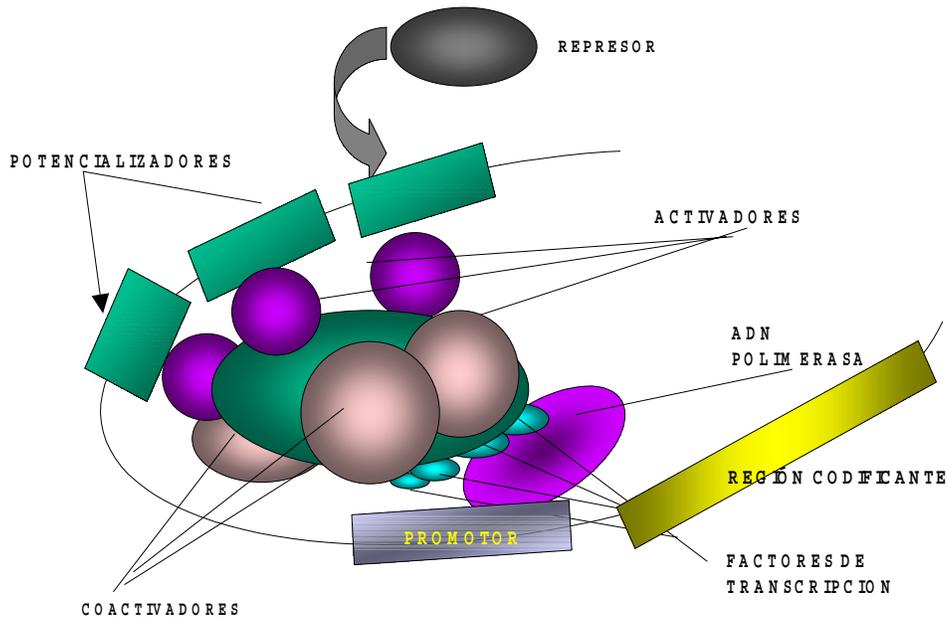


Figura 17.3. Grupos de proteínas que se unen para activar, inhibir o potenciar la acción de los genes involucrados en el desarrollo.

Los factores de transcripción en un papel regulador también pueden inhibir la expresión del gen. Estos factores de transcripción son estructuras proteicas que generalmente requieren de la acción de otras proteínas con funciones de activadores y de coactivadores, y que son reguladas por la acción de proteínas represoras (Figura 17.3). Todas estas proteínas están codificadas por genes que funcionan durante el desarrollo embrionario.

Como el proceso del desarrollo embrionario requiere de la acción simultánea de muchos genes, se estima que existen genes rectores, regulados por factores de transcripción maestros, similares a los directores de una gran orquesta sinfónica, que dirigen a uno o a grupos de genes de forma simultánea, pero siguiendo un afinado cronograma de activación y de inactivación, y al propio tiempo de retroalimentación, ya que los factores de transcripciones también se encuentran regulados genéticamente.

El esquema que representa la figura 17.3, da una idea de lo complicado de este proceso molecular y de cómo el plegamiento de la molécula de ADN permite que estructuras de ADN, con funciones de potencializadores y que se encuentran muy alejadas de una región codificante de un gen y de su promotor, se acerquen con la acción conjunta de proteínas específicas, para cada estructura génica que requiera ser expresada o inhibida en un momento determinado.

Se describen diferentes estructuras de las proteínas que actúan como factores de transcripción, tres de ellas se mencionan a continuación.

1. Helice-giro-hélice. Formada por 2 pequeñas cadenas de aminoácidos en forma de hélice, una que reconoce al promotor y a la otra que mantiene a la hélice lectora en la posición correcta.
2. Cremallera de leucima. La leucima se repite en las cadenas que se alinean a modo de una cremallera, que se abre al reconocimiento de la secuencia de ADN promotor.
3. En dedos de zinc. Esta proteína se estructura alrededor de átomos de zinc, de modo tal que se producen prolongaciones que semejan dedos, y de esta forma se mantienen estables y reconocen secuencias de ADN que corresponden a promotores de genes específicos.

Además de los factores de transcripción, existen otros mecanismos de control de la expresión genética que corresponden con patrones de metilación del ADN y que están en relación con el fenómeno explicado en el Capítulo 10, y que recibe el nombre de *impronta genómica*. La tasa de metilación de bases de citocima, varía (aumenta o disminuye), a lo largo del desarrollo embrionario, regulando la expresión de los genes en estado diploide o haploide.

Otro mecanismo de regulación de la expresión génica, está relacionado con la condensación que experimenta la molécula de ADN al formar la cromatina y enrollarse de forma más compacta, con las proteínas histonas, propias del empaquetamiento del ADN.

La condensación del ADN o heterocromatina, en la que la compactación de los genes no permite la función de grupos de genes adyacentes, y la eucromatina, en la que la molécula de ADN está más desenrollada y permite la función de genes específicos con sus potencializadores y promotores.

Estos mecanismos moleculares mantienen un lenguaje genético, que se traduce en los cambios de diferenciación, movimientos celulares y comunicaciones celulares. Una vez que una célula se diferencia, mantiene en las clones que derivan de ella, el mismo esquema de expresión de los genes que tuvo lugar en la primera célula, es decir hay un registro de pasos que queda como una "memoria celular".

## **Eventos celulares**

Existen un número de eventos celulares importantes en el desarrollo embrionario:

- Crecimiento (basado fundamentalmente en mitosis).
- Diferenciación celular (basado en mecanismos bioquímicos, moleculares y celulares).
- Motilidad celular (fenómeno de migración celular).
- Muerte celular programada (fenómeno que permite el modelado de órganos, eliminando estructuras embrionarias transitorias).

Finalmente, el fenómeno de inducción embrionaria permite el destino de determinados grupos celulares y se encuentra subordinado a los fenómenos celulares anteriores.

### *Crecimiento*

El crecimiento del embrión es un aspecto que comienza con las primeras divisiones celulares aún no diferenciada.

Se supone que el cuerpo humano adulto, está compuesto por unos diez billones (10) de células.

El incremento numérico se relaciona con el índice de divisiones mitóticas y el control de la velocidad con que este fenómeno se produce está también regulado, de forma similar a como lo hacen los factores de transcripción de genes, pero en este caso son proteínas específicas que regulan el ciclo celular incluyendo por supuesto la mitosis. Dentro de este grupo proteico se encuentran dos tipos fundamentales de proteínas:

- Las ciclinas.
- Las proteínas quinasas dependientes de ciclinas. (Proteínas del ciclo de división celular Cdk).

Se han aislado un gran número de proteínas denominadas factores de crecimiento que tienen funciones en el crecimiento y la diferenciación celular, entre ellas:

- El factor de crecimiento neuronal (NGF).  
(crecimiento de axones).
- El factor de crecimiento epidérmico (EGF).
- El factor de crecimiento de insulina I (IGF-I).
- Los factores de crecimiento fibroblástico (FGF).
- Los factores de crecimiento eritroyetria (EPO).

Las hormonas también actúan sobre el crecimiento:

- La hormona del crecimiento.
- La lactógeno placentaria.

La especialización de cada célula, finalmente, regula los mecanismos de diferenciación, división, destino, crecimiento e inducción embrionaria.

### *Motilidad o migración celular*

La motilidad celular es un mecanismo por el cual muchas de las estructuras corporales se distribuyen y ordenan.

Hay estructuras orgánicas cuyas células se originan en distintos puntos del embrión y tienen un destino específico por lo que están obligadas a migrar. Se reconocen dos mecanismos biológicos para que ocurra este fenómeno: el reconocimiento y la adhesividad celular.

Generalmente en la embriogénesis las células migran en grupos.

Las células que tienen estas características se desplazan siguiendo itinerarios predefinidos para cada variedad de células. No se detienen antes ni después de los lugares de su destino y si esto no ocurriera así, se originarían defectos que se conocen con el nombre de heterotopias de tejidos, que cuando ocurren en células del sistema nervioso pueden tener severas consecuencias.

La migración celular entonces no ocurre sin rumbo, sino regulada genéticamente. La fibronectina es una proteína extracelular que se conoce que marca su camino y el colágeno parece ser una proteína extracelular que marca hasta donde debe migrar la célula.

Las células que migran cambian su estructura citoplásmica en su lado frontal, donde aparecen invaginaciones anchas y aplanadas como láminas, que reciben el nombre de lamelipodios, en la formación de estas curiosas estructuras están involucradas proteínas del citoesqueleto. De cada una de estas estructuras pronto aparecen otras en forma de púas como finos pseudópodos, denominados micropúas que en su interior poseen filamentos de actina agrupados en manojos; estas micropúas se adhieren a las zonas marcadas por la fibronectina y se contraen avanzando de este modo hasta sitios específicos, por reconocimiento de las moléculas de proteínas, hasta su destino. Le siguen en propiedad, la adhesividad, determinada por glicoproteínas denominadas moléculas de adhesión celular o CAM (células de adhesión molecular). Estas proteínas desaparecen en cuanto las células comienzan a migrar y reaparecen al llegar a su punto de destino, donde se ensamblan con otras células para formar el tejido determinado.

Otro fenómeno ocurre con las conexiones entre las células nerviosas y de éstas con las células musculares. Las neuronas más que migrar hacen crecer sus axones, permaneciendo en su sitio los cuerpos celulares. Para ello, en el extremo distal de los axones que tomarán contacto, entre ellos o con la fibra muscular, se desarrolla una estructura a la que se le denomina como de crecimiento, muy parecida a los lamelipodios de la célula migratoria, pero en lugar de micropúas son prolongaciones más largas denominadas filipodios.

### *Muerte celular programada o apoptosis*

La muerte celular esta programada en el desarrollo embrionario. Permite la aparición de orificios, la formación de tubos, se eliminan células, estructuras vasculares transitorias. A este tipo de muerte celular se le conoce con el nombre de *apoptosis*.

La apoptosis ocurre durante toda la vida.

Las células en apoptosis, sufren cambios hasta convertirse en fragmentos de derivados nucleares y organoides citoplasmáticos que quedan incluidos en vesículas, que finalmente son fagocitadas por macrófagos y células vecinas que producen su degradación final.

Algunos ejemplos de etapas del desarrollo embrionario que requieren de apoptosis son: la gastrulación, la desaparición del piso de la notocorda, la desaparición de la membrana buco faríngea, la desaparición de las membranas interdigitales, entre otros muchos procesos de la formación de órganos específicos.

## Inducción embrionaria

La inducción es un mecanismo regido jerárquicamente desde el punto de vista genético. Es un fenómeno en cascada, donde el destino de una región embrionaria depende de recibir una señal extracelular de una segunda región generalmente adyacente. Por definición, la primera región debe ser competente para responder a las señales de la segunda región, hay situaciones en las que unos tejidos son inductores en tanto que otros son inducidos, lo que explica que el que debe recibir la señal de inducción ha de estar preparado para responder a la señal en cuestión o sea ser competentes y reaccionar a las funciones ordenadas. La competencia abarca un periodo de tiempo muy preciso esto significa que si se producen asincronías de tiempo, la influencia de la señal de inducción sería nula y en consecuencia no se produce el desarrollo de las estructuras esperadas.

La notocorda ejerce inducción sobre el ectodermo que se comporta como competente, pero que a su vez no tiene acción inductiva sobre el endodermo ni sobre el mesodermo.

Los fenómenos inductivos suelen producirse en cadena;

Región A → región b que se transforma en B → región c que se transforma en C → Región d que se transforma en D

La notocorda induce al ectodermo para formar el tejido nervioso, este origina la vesícula óptica que a su vez induce al ectodermo supradyacente para que se desarrolle el cristalino, que junto con la propia vesícula óptica, induce al mesodermo circundante a que se forme la coroides y la esclerótica. Una región inducida pasa a ser inductora.

El fenómeno de inducción comienza al formarse el embrión trilaminar, cuando se establecen relaciones de vecindad entre los tejidos.

Las hormonas también ejercen inducción entre tejidos distantes, la formación de los genitales externos son un ejemplo de ello.

## CONTROL GENÉTICO DEL DESARROLLO

Como hemos visto son muchos los genes que están involucrados en el desarrollo corporal y que tienen su acción durante la etapa de morfogénesis. El control genético del desarrollo de cada parte corporal, se conoce por los experimentos realizados en la *Drosófila melanogaster* y en vertebrados, aves y mamíferos como el ratón. La presencia en el humano, de las proteínas que regulan cada parte corporal de las encontradas en estas especies, son evidencias de la existencia de homología en el control genético de su

embriogénesis, por lo que se han incorporado los mismos nombres asignados a los genes de las especies donde fueron descritos por primera vez, a los genes humanos comprometidos en el desarrollo.

La complejidad de los nombres y de la acción de cada gen o grupos de genes, hace difícil la comprensión de este tema para el estudiante.

Con el objetivo de organizar metodológicamente su estudio, se les incluye una versión resumida del estado actual del tema.

## **Genes de segmentación**

*¿Qué son genes de segmentación?*

Son genes cuyas proteínas se expresan dando lugar a estructuras anatómicas particulares de acuerdo con su posición corporal.

Se han identificado tres grupos de genes de segmentación:

- . Genes gap que funcionan determinando segmentos embrionarios adyacentes a la estructura en formación. Las mutaciones de estos genes se expresan por el defecto, pérdida o delección de la región anatómica correspondiente.
- . Genes de la regla de los pares, que funcionan en la determinación de segmentos alternos a la estructura en formación. Sus mutaciones producen anomalías de la formación de los segmentos involucrados.
- . Genes de polaridad de segmentos<sup>1</sup>, que determinan porciones de cada segmento. Sus mutaciones producen anomalías anatómicas de los mismos.

Los genes de la polaridad de segmentos, producen morfógenos conocidos como hedgehog y wingless, cuyas estructuras génicas se conservan a lo largo de la evolución. En mamíferos se han identificado genes homólogos al hedgehog denominados *Sonic hedgehog*, *Desert hedgehog* y también homólogos al *wingless*.

El *Sonic hedgehog* (SHH) funciona en el desarrollo del tubo neural y sus mutaciones pueden originar holoprosencefalia.

<sup>1</sup> No confundir con los genes de la polaridad de origen materno y que tienen la acción de definir las regiones céfalo-caudal, ventrolaterales izquierda y derecha y dorso ventral, en etapas muy tempranas del desarrollo del cigoto.

Sus nombres se deben a los estudios realizados por sus mutaciones en la *Drosophila* y se ha incorporado su denominación, a los vertebrados incluyendo al hombre, en la medida en que se ha comprobado su homología con ellos.

## Genes homeóticos

*¿Qué son los genes homeóticos?*

Son genes del desarrollo corporal que identifican los diferentes segmentos corporales. Contienen en su estructura génica, una secuencia de de 180 pb (pares de bases) bases del ADN conservada, equivalente a decir que presentan en sus proteínas, 60 aminoácidos (aa) casi idénticos en su secuencia en diferentes especies. A esta característica se le denomina homeobox (HOX).

Este grupo de genes están involucrados en el control del desarrollo espacial, como ocurre con los HOX D, en la determinación del hueso y el lugar que éste va a ocupar, en el desarrollo de las extremidades.

Los HOX se expresan sintetizando proteínas que tienen función de factores de transcripción y que especifican el destino celular y establecen su eje regional.

La tabla 17.1 describe los grupos de genes homeóticos en el humano, el número de genes de cada grupo, su denominación en números arábigos y su localización cromosómica.

Tabla 17.1. Homeobox en el humano.

GRUPO	No. De GENES	DENOMINACION	CROMOSOMA
HOX A	11	1-7, 9-11, 13	7p
HOX B	9	1-9	17q
HOX C	9	4-6, 5-13	12q
HOX D	9	1, 3, 4, 8-13	2q

## Cajas pareadas (PAX)

Otros tipos de genes con secuencias de ADN conservadas son: cajas pareadas (paired box. PAX). Tienen 130 aa conservados en sus proteínas, se conocen.

como PAX (PAX 3 y PAX 6). Mutaciones de estos genes en el humano producen el síndrome Waardenburg y el defecto ocular aniridia (falta de iris).

## **Genes con caja HMG (Grupo de Alta Movilidad o High Movility Group)**

Estos genes tienen una secuencia conservada de 79 aa, que se conoce con el nombre HMG. A este grupo de genes corresponden los genes SOX cuyas proteínas son reguladoras de la transcripción y se expresan durante la embriogénesis. En el humano se ha detectado una mutación del SOX9 que se encuentra localizado en el cromosoma 17, que causa una enfermedad genética ósea denominada displasia campomélica (defectos óseos y de genitales).

El gen SOX9 se expresa en la cadena de genes que están relacionados con la diferenciación de la gónada primitiva. En embriones cromosómicamente XY, activan la transcripción del gen SRY que funciona diferenciando la gónada primitiva en testículo.

## **Genes T**

Estos genes comparten una secuencia homóloga denominada caja T o T-box. Se les denomina TBX y están relacionados con la formación del mesodermo y la diferenciación de la notocorda.

Algunos están en el mismo cromosoma muy cerca unos de otros formando grupos (clusters). Uno de estos grupos se encuentra en el cromosoma humano número 12, (genes TBX3 y TBX5).

Mutaciones del gen TBX5 causan el síndrome Holt-Oram (que se caracteriza por defectos de formación de las extremidades superiores y cardiopatía congénita, conocido también como síndrome corazón manos).

## **Factores de transcripción en dedos de zinc**

Estos genes producen proteínas que forman estructuras espaciales involucrando a moléculas de zinc. Los más conocidos en el humano son denominados GL13 y WT1. Mutaciones del gen GL13 causan en el humano un defecto congénito conocido como céfalopolisindactilia, en tanto que las mutaciones de WT1 pueden producir nefrocarcinoma.

## **Genes de transducción de señales**

Estos genes producen proteínas que se encuentran en el exterior de las células y que son del tipo de los factores de crecimiento. Funcionan como transductores de señales hacia al interior de las células, regulando el crecimiento y la diferenciación celular.

Las mutaciones de estos genes, además de producir alteraciones del desarrollo pueden dar lugar a distintos tipos de cánceres.

El protooncogen RET situado en 10q11.2, produce una proteína del tipo de las tirosinas quinasas. Sus mutaciones que lo transforman en oncogen, producen cáncer del tiroides, otras mutaciones mantienen la estructura de protooncogen pero afectan el desarrollo embrionario como es el caso de la enfermedad Hirschprung (fracaso de la migración de las células que darán origen a las células ganglionares de la mucosa y plexo mesentérico del intestino grueso. (El niño afectado presenta distensión abdominal y obstrucción intestinal).

## **Receptores de factores de crecimiento fibroblástico**

Los receptores de factores de crecimiento fibroblástico (FGFR), son genes que producen proteínas que se caracterizan por presentar un segmento extracelular que se relaciona con los factores de crecimiento fibroblástico específicos, un segmento intramembrana citoplasmática y un segmento intracitoplasmático. Los cambios conformacionales de esta proteína, activan a otras proteínas intracelulares, que a su vez pueden transmitir la señal hasta el ADN nuclear determinando con esto una respuesta de función celular. Los genes FGFR que se describen en el humano son FGFR1, FGFR2 y FGFR3. Mutaciones del gen FGFR3 dan lugar a síndromes óseos dentro de los que se encuentra la baja talla denominada Acondroplasia.

## **DESARROLLO EMBRIONARIO DE LAS EXTREMIDADES**

El desarrollo embrionario de las extremidades es un buen ejemplo para ilustrar lo hasta aquí expuesto. Desde el punto de vista genético, esta parte del desarrollo humano ha tenido un avance importante en los últimos años, debido a la identificación de varias familias de genes involucradas en el desarrollo embrionario general, que han sido detectadas en su mayoría, en el ratón, con homólogos secuenciales de los genes del desarrollo identificados en la mosca Drosófila. También en el humano se han detectado genes con

homología de estas familias cuyas mutaciones se expresan en malformaciones aisladas o en síndromes con alteraciones congénitas múltiples.

Los resultados experimentales de la participación de muchos de estos genes en el desarrollo de la extremidades de animales, como las aves y el ratón, han permitido la comprensión de la jerarquía de sus funciones, extrapolando los modelos de mecanismos moleculares al desarrollo embrionario del humano y en particular al desarrollo de las extremidades.

### Aspectos esquemáticos generales, para el estudio del desarrollo del esqueleto

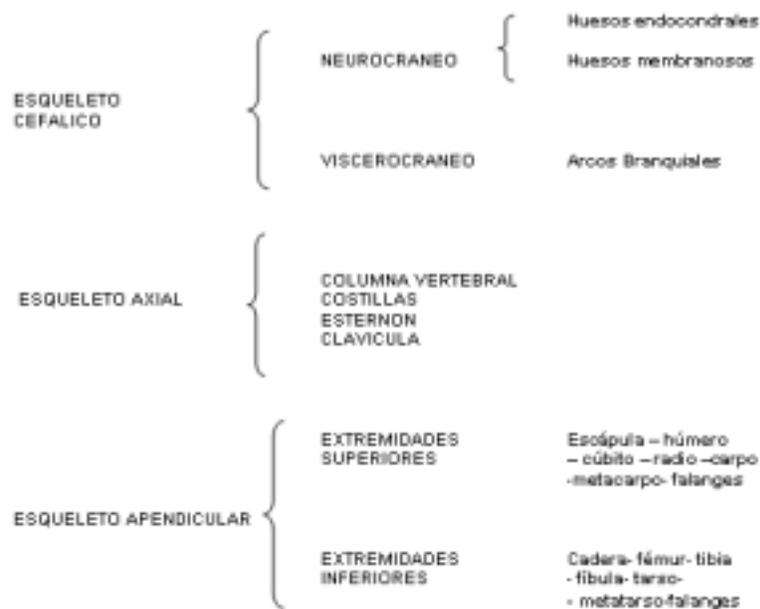
Recordar algunas definiciones del desarrollo embrionario como:

Origen del mesenquima:

- Ectodermo.
- Mesodermo.

Origen de los epitelios:

- Ectodermo.
- Mesodermo.
- Endodermo.



## **Embrilogía descriptiva de las extremidades**

Los brotes de las extremidades superiores hacen su aparición en el día 24, de la cuarta semana del desarrollo, a nivel de las somitas cervicales C5 a C8. Cuatro días después, (día 28) aparece el brote de las extremidades inferiores, a nivel de las somitas lumbares L3 a L5.

Estos brotes surgen por el engrosamiento y formación de una masa de mesénquima nuclear, procedente del mesodermo lateral correspondiente, esta masa celular mesenquimatososa se encuentra cubierta por ectodermo, en el cual se desarrollan cambios con actividad celular inductiva.

Para el día 33, se pueden distinguir en las extremidades superiores las placas de las manos, antebrazos y hombros, mientras que en las extremidades inferiores solo se distinguen los brotes en forma de aletas.

El día 37, en la placa de las manos se distingue la placa digital que dará origen a los dedos y se observa un incremento en la longitud de las extremidades. En las inferiores se comienzan a distinguir los muslos, las piernas y la placa del pie.

Para el día 38, en las extremidades superiores, se hacen visibles los rayos digitales y el engrosamiento radial de la placa digital. Ya para estos días comienza a ocurrir la apoptosis que hará posible la independencia de los dedos. En las extremidades inferiores se observa un incremento de longitud y se evidencia perfectamente la placa de los pies.

Ya en el día 44, en la placa digital, se observan escotaduras entre los rayos de los dedos, el codo es obvio, mientras que en las extremidades inferiores se evidencian los rayos digitales, pero aun no se individualizan.

Alrededor del día 47, las extremidades superiores se han alargado, se evidencia perfectamente sus partes anatómicas, incluyendo el progreso de la individualización de los dedos, se mantiene el antebrazo en flexión horizontal. Los dedos de los pies (artejos), aun no se encuentran individualizados.

En el día 52 se aprecia encorvamiento de las extremidades superiores, ya los dedos están libres y en sus yemas se aprecian engrosamientos o "pads" táctiles donde se formarán las huellas digitales. Las manos están ligeramente flexionadas en sus muñecas y se proyectan hacia la línea media corporal, frente a la eminencia cardiaca, pero los dedos de ambas manos no se tocan aun. Por su parte, las extremidades inferiores han crecido, y los pies se aproximan a la línea media y ya comienzan a individualizarse los artejos.

En el día 56 tanto las extremidades superiores como las inferiores están definitivamente formadas. Las manos entrelazan los dedos en la línea media y los pies se también se tocan en la línea media.

## Origen embrionario de los tejidos y estructuras componentes de las extremidades

- Huesos y cartílagos articulares, tendones cápsulas articulares, ligamentos y vasos sanguíneos, proceden del mesodermo lateral.
- Músculos extensores y flexores, de los miotomas diferenciados de las somitas cervicales y lumbares, que llegan al brote de las extremidades por migración.
- Melanocitos y células Schwann del ectomesénquima de las crestas neurales, en tanto que los nervios son prolongaciones de las neuronas medulares de origen ectodérmico.

## Bases moleculares del patrón de formación del esqueleto apendicular

*¿Qué es un patrón de formación?*

La organización espacial de la diferenciación de células y de tejidos que tienen lugar en el proceso de la morfogénesis de los órganos y finalmente del cuerpo como un todo.

Patrón de formación de las extremidades:

En los brotes de las extremidades, una célula puede "conocer" su posición con respecto a tres ejes (Figura 17.4):

- Eje longitudinal: Hombro-brazo-antebrazo-muñeca-mano.  
Cadera-muslo-pierna-tobillo-pie.
- Eje cráneo caudal: Orientación del primer dígito (craneal) y del quinto dígito (caudal).
- Eje dorsoventral: Extensión (dorsal); flexión (ventral).

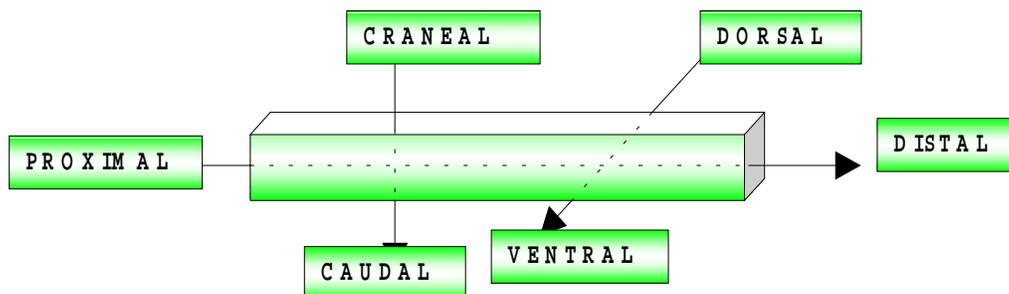


Figura 17.4. Esquema del patrón de formación de las extremidades con sus tres ejes.

La condensación mesodérmica nuclear, adquiere capacidad de formación de extremidades, en respuesta a señales mediadas por el factor de crecimiento de insulina I (IGF-I) y por la insulina.

Este fenómeno molecular determina la aparición de una organización celular de inducción en la región apical del ectodermo, que cubre al brote y que recibe el nombre de cresta ectodérmica apical (AER). Por otra parte, se forman los factores de crecimiento fibroblástico (FGFs), en especial el FGF-8, sintetizado en estas propias células en vía de diferenciación y que definen subgrupos celulares, que se hacen competentes para formar una región denominada zona de actividad de polarización (ZPA) de las extremidades superiores e inferiores respectivamente, cuya función es la de definir la orientación céfalo-caudal.

A su vez AER produce nuevos FGFs tales como los FGF1, FGF2, FGF 4 y FGF 8, que tienen dos funciones : mantener el crecimiento y establecer el eje próximo-distal.

Las funciones de cada uno de los FGFs y de sus receptores, está comenzando a comprenderse.

Otros productos proteicos involucrados son los genes HOX (9 al 13) del grupo D.

El HOX D 13, tiene su acción en manos y dedos (metacarpos y falanges), pero a su vez los metacarpianos y la falanges solo se forman normalmente si, además, están presentes las proteínas de los genes HOX D12 , 11, 10 y 9. En la formación de la fila distal de los huesos del carpo atuan los productos proteicos de los genes HOX 9 al 12, el cúbito, el radio y la fila proximal del carpo se forman bajo la acción de los productos proteicos de los genes HOX D 11, 10 y 9, el húmero por las proteínas de los genes HOX D 10 y 9 y finalmente la escápula se forma por la acción de la proteína expresada por el gen HOX D 9.

Experimentos relacionados con la formación del eje cráneo-caudal o céfalo-caudal han evidenciado que éste se determina por la acción de morfógenos, entre los que se encuentra el ácido retinóico (vitamina A). Estos morfógenos difunden para formar un gradiente que determinará la posición de cada dígito. Una alta concentración de morfógeno, induciría la formación del quinto dedo y la disminución gradual de concentración, los dedos cuarto, tercero, segundo y primero, es decir una dirección de gradientes de mayor a menor en el sentido caudal-cefálico.

El desarrollo óseo comienza en el día 33 por un mesénquima precursor, a partir del cual comienza a ocurrir la condricificación, unos días más tarde (el día 40 del desarrollo) ya comienza la osteogénesis propiamente dicha.

## ETIOLOGÍA AMBIENTAL DE DEFECTOS CONGENITOS

La cantidad de procesos moleculares y celulares, su organización y regulación temporal, puede verse alterada por la acción de agentes extraños, que pueden producir reacciones celulares inusuales o gradientes de sustancias, que pueden modificar la acción específica de morfógenos y como consecuencia, provocar defectos de diferentes grados de severidad en el desarrollo embrionario, aun cuando la estructura y función del genoma recién formado, se encuentre intacto, como para lograr una anatomía y función bioquímica y fisiológica normal en el recién nacido.

Estas sustancias o agentes extraños, pueden tener diferentes acciones y cuando actúan en el periodo comprendido entre la fecundación y la segunda semana (preimplantación) de la gestación, pueden ocurrir dos opciones: eliminación del cigoto antes de que la mujer incluso advierta su embarazo, o un grado de afectación celular tal, que conlleve a la pérdida de células que comienzan a producirse a partir de los primeros periodos post fecundación (segmentación), en cuyo caso, generalmente no tiene lugar ningún efecto. En este periodo la pérdida de algunas células no tiene implicaciones en el futuro desarrollo embrionario, ya que aun no hay una diferenciación celular específica.

Entre la tercera y octava semanas del desarrollo, e incluso para algunos órganos hasta la semana 12, en que se completa la organogénesis, la acción de agentes extraños o sustancias en este periodo de la gestación, pueden interferir con los procesos celulares de proliferación, crecimiento migración o apoptosis, modificando sustancialmente los procesos de inducción y diferenciación. Las anomalías generadas serán defectos congénitos mayores y menores dando lugar en ocasiones a defectos congénitos múltiples.

En periodos más tardíos, de la semana 12 al final de la gestación, estos agentes o sustancias extrañas, pueden hacer diana en tejidos que se encuentran madurando, pero ya no se observan defectos congénitos mayores sino más bien crecimientos desproporcionados de partes fetales y en consecuencia, se pueden observar signos dismórficos o defectos menores, sin embargo algunos órganos y en especial el sistema nervioso central (SNC), pueden resultar dañados funcionalmente.

También estas sustancias o agentes extraños afectan en sentido general, el funcionamiento placentario y como resultado se produce un crecimiento intrauterino retardado.

Cuando estas sustancias producen anomalías en la formación de órganos y sistemas reciben el nombre de teratógenos y en sentido general, prácticamente todos los agentes teratógenos producen retraso del crecimiento intrauterino.

Lo hasta aquí expuesto, explica el por qué defectos como:

- . la infertilidad o los abortos espontáneos,

- . los defectos de morfogénesis,
- . las deficiencias del crecimiento prenatal,
- . las alteraciones funcionales del SNC
- . e incluso la muerte fetal,

se refieren como indicadores generales de teratogenicidad.

El efecto de un agente que tiene acciones desfavorables como teratógeno, se expresa en un amplio espectro que se debe a:

1. La dosis del agente y el tiempo de exposición al mismo,
2. Las semanas de gestación en el momento de la exposición,
3. La susceptibilidad de la madre y del producto al agente debido a variaciones genéticas y metabólicas,
4. Interacción con otros factores ambientales.

Teniendo en cuenta el origen de un teratógeno, podríamos clasificarlos en agentes *exógenos* que llegan a la madre en su relación con el ambiente externo y al producto a través de ésta, y en *endógenos*, atendiendo al funcionamiento anormal de las condiciones endocrinometabólicas maternas afectando concentraciones de metabolitos específicos, que llegan al producto en concentraciones inusuales a través de la función placentaria y que, como en el caso de los agentes de origen exógeno, pueden interferir en el proceso de embriofetogénesis.

### **Agentes teratógenos exógenos**

Los agentes teratógenos con estas características se clasifican atendiendo a su naturaleza en:

- Biológicos.
- Químicos.
- Físicos.

*Biológicos*: Son agentes infecciosos que atacan al producto embriofetal en el útero, provoca inflamación de tejidos en diferentes grados de desarrollo y ocasiona en muchas ocasiones, muerte celular no programada, la patogénesis de la mayoría de sus efectos, si no todos se deben a disrupción de los tejidos formados en el momento de su aparición.

Estos agentes incluyen:

- *Virus* y dentro de este grupo los más frecuentes son el virus de la rubéola, el citomegalovirus, poliovirus, herpes simples, varicela zoster, SIDA, entre otros muchos.  
Los efectos de estos agentes son muy similares: microcefalia calcificaciones cerebrales, convulsiones, déficit auditivo y visual (diversos grados de afectación ocular), prematuridad, crecimiento intrauterino retardado.
- *Bacterias*, en este grupo la sífilis, micoplasma, listeriosis, etc.
- *Parásitos*, Aunque se conocen varios parásitos que cruzan la barrera placentaria solamente se conoce que infecte al feto el toxoplasma, que produce síntomas similares a los que ocasionan los agentes virales, en especial coriorretinitis.

*Químicos*. Los agentes químicos son un grupo importante de sustancias con efecto teratogénico pero para su análisis pueden agruparse en tres clases:

- *Químicos ambientales*, en los que se destacan aquellos que contaminan el ambiente como los componentes mercuriales, pesticidas.
- *Las drogas no prescriptivas*, como el consumo de alcohol, tabaco y otras drogas como la cocaína, mariguana, opiáceos y fármacos comunes, no prescriptos como los salicilatos, la talidomida, etc.
- *Drogas prescriptas*, como agentes anticancerígenos, anticoagulantes, antibióticos aminoglicósidos (estreptomicina, gentamicina), anticonvulsivantes como trimetadiona, fenoteína, barbitúricos, entre los más importantes, el ácido retinoico, entre otros muchos.

Los agentes químicos interfieren la acción de procesos moleculares impidiendo el desarrollo de los mecanismos celulares ya explicados.

*Físicos*. Las radiaciones ionizantes son el ejemplo más conocido. Los estudios realizados al exponer animales a altos niveles de radiaciones de este tipo, han sugerido que solamente dosis de energía tan altas como 200 rads tiene la capacidad de producir crecimiento intrauterino retardado, daños del SNC incluyendo microcefalia, y defectos oculares.. El periodo de mayor sensibilidad está alrededor de la segunda y quinta semanas después de la concepción. Los altos niveles de radiaciones se presentan en tratamientos específicos, no así para exámenes radiológicos incluso del tipo de las pielografías renales, sin embargo todo tipo de estudio que implique radiaciones debe evitarse durante el embarazo o al menos analizarse riesgo contra beneficio. Por otra parte, las radiaciones ionizantes, además del riesgo como teratógenos tienen riesgos como agentes mutagénicos y cancerígenos.

El otro agente físico que puede tener acción como teratógeno es el calor. Las altas temperaturas afectan el desarrollo del SNC tales como defectos de migración y de cierre

del tubo neural. Los baños de sauna, los trabajos en los que la mujer embarazada tenga que exponerse a altas temperaturas muchas horas al día, o incluso eventos febriles (temperaturas superiores a 1.5 grados por encima de la temperatura habitual) son factores de riesgo.

Los teratógenos caracterizados como tales, cuando actúan en el primer trimestre de la gestación, ocasionan defectos múltiples específicos que permiten ser reconocidos por su expresión desde el punto de vista médico como síndromes tales como fetal por rubéola, por alcoholismo, por efectos del calor etc.

## **SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL EFECTO DE TERATÓGENOS**

Como este es un aspecto que explica el alto grado de expresividad variable de los defectos ocasionados por teratógenos, que es difícil de comprender, exponemos un ejemplo que ilustra el mismo y además integra los conocimientos anteriores con el tema en cuestión.

Las sorderas en el humano son una condición que tienen en su etiología factores genéticos y ambientales. Para su estudio se clasifican en sorderas sindrómicas, para referirse a los síndromes conocidos que cursan con ese defecto auditivo y no sindrómicas, para referirse a los tipos que no presentan otros defectos anatómicos o funcionales asociados. Los factores genéticos en estas últimas pueden deberse a la expresión de simples mutaciones y estas a su vez, afectar tanto al genoma nuclear como al mitocondrial. Existe un tipo de sordera en la que se ha encontrado una mutación en el genoma mitocondrial de tipo homoplásmico ( A1555G). Las personas que solamente tienen esta mutación no presentan sordera, pero si una predisposición a padecer ototoxicidad por la acción de aminoglicósidos. Una mujer embarazada que presente esta mutación la va a transmitir a su descendencia la mutación al 100% de sus hijos, con sus mitocondrias, como corresponde a este tipo de herencia y por supuesto, tanto ella como su feto serán susceptibles a la acción ototóxica de antibióticos con estas características.

## **CONDICIONES ENDOCRINOMETABÓLICAS MATERNAS ANORMALES**

El ejemplo más ilustrativo, aunque no el único, es la diabetes insulina dependiente, que es causa de pérdida de embarazos o de malformaciones que involucran preferencialmente a las extremidades. También, la diabetes materna determina anormalidades en el crecimiento y desarrollo fetal que, cuando es por sobrecrecimiento origina, cuando menos, el riesgo de que al nacer se observen en el recién nacido, defectos del tipo de las deformidades.

Otro ejemplo lo constituyen defectos metabólicos maternos, como la fenilcetonuria. Se manifiesta en madres que fueron tratadas en su infancia con dietas carentes de fenilalanina y que ya de adultas dejaron el tratamiento. Como ellas siempre presentan niveles plasmáticos muy altos de fenilalanina, estas concentraciones tan altas pasan al producto y actúan como teratógenos. El efecto es un desarrollo anormal del SNC, evidenciado por microcefalia y retraso mental.

## **DEFECTOS CONGÉNITOS DE LAS EXTREMIDADES**

La etiología de los defectos congénitos de las extremidades como para cualquier otro tipo de defecto congénito, puede ser genética o ambiental (teratógenos). Los defectos genéticos a su vez, pueden ser monogénicos, cromosómicos o multifactoriales, mientras los ambientales pueden ser por el efecto teratogénico de medicamentos (como la talidomida), drogas, físicos como el calor y biológicos por inflamación de células o tejidos en fase de diferenciación.

También, hay que tener en cuenta defectos congénitos uterinos maternos que impidan el movimiento fetal y esto determine compromiso sanguíneo, que afecte el desarrollo de los vasos sanguíneos transitorios para la formación de una parte de la extremidad, o como elemento disruptivo por disminución del flujo sanguíneo, comprometiendo el riego sanguíneo de una parte de la extremidad atrapada mecánicamente por el defecto uterino en cuestión.

Se ha propuesto una clasificación atendiendo al tipo de defecto:

- . Defectos por reducción de extremidades, como la amelia y las meromelias, las oligodactilias.
- . Defectos por duplicación, que da lugar a las polidactilias.
- . Defectos por deficiencia de muerte celular programada, como las sindactilias.
- . Defectos que originan gigantismos parciales de las extremidades, o de partes de ellas.
- . Defectos que originan acortamiento simétricos de las cuatro extremidades, como las displasias óseas.

Algunas anomalías del desarrollo que pueden producir estos defectos:

- . Detención del desarrollo (falla en los componentes)
- . Fallas en la diferenciación de componentes primordiales.
- . Duplicación de componentes.
- . Sobrecrecimiento.
- . Hipoplasia (poco desarrollo).

- Anormalidades de la apoptosis celular.
- Defectos focales (por disrupción).
- Anormalidades generales del esqueleto por displasias, como ocurren en la osteogénesis imperfecta y otros trastornos genéticos que afectan el desarrollo óseo incluyendo errores congénitos del metabolismo de tipo lisosomal.

## **DEFECTOS CONGÉNITOS DEBIDOS A FUERZAS MECÁNICAS**

El término deformación indica moldeado anormal de una parte anatómica, determinada por fuerzas mecánicas inusuales.

La deformidad se reconoce por pérdida de la simetría de la alineación, posición anormal o configuración distorsionada, cuando ocurre después de la organogénesis, no presenta defecto tisular subyacente. Los tejidos genéticamente anormales, sin embargo, son más susceptibles a deformación.

Cuando las deformidades ocurren en etapas fetales del tercer trimestre, son usualmente reversibles y la magnitud del defecto ocasionado dependerá de la intensidad de la fuerza y del tiempo en que ésta se mantuvo.

Generalmente las deformidades se producen por fuerzas extrínsecas sobre el feto como:

- Presión por gemelar.
- Presión por anomalías uterinas.
- Compresión por disminución del líquido amniótico.

Existen también factores intrínsecos que no corresponden analizar en este material como anormalidades neurológicas o renales.

## **DEFECTOS CONGÉNITOS DEBIDO A DISRUPCIONES**

Este fenómeno de *disrupción* es el resultado de un proceso disruptivo que altera estructuras ya formadas. Se describen un amplio rango de alteraciones de este tipo, que en sentido general abarcan: alteraciones de forma y configuración, división de partes usualmente no divididas, fusión de partes usualmente no fusionadas y pérdidas de partes previamente presentes.

Las causas de disrupciones son usualmente ambientales y pueden dar lugar a pérdida, genéticamente programada, de suplemento sanguíneo.

Los agentes disruptivos incluyen estrés mecánico severo y se agrupan en:

- Bandas amnióticas.
- Infecciones virales intrauterinas.
- Isquemia de cualquier causa.

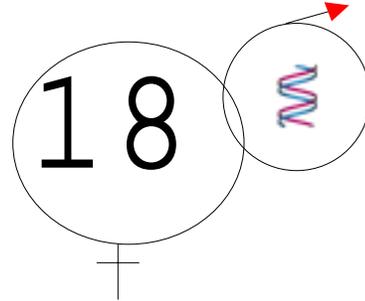
## **RESUMEN**

Los mecanismos celulares de proliferación celular, migración, diferenciación, muerte celular programada y el fenómeno de inducción embrionaria, están regulados por genes que ocupan determinada jerarquía en el desarrollo. Mutaciones de esos genes pueden ocasionar defectos congénitos de diversa magnitud y complejidad. Muchos de ellos actúan de forma combinada a través de sus proteínas, en zonas reguladoras que activan, inhiben o potencializan la acción de genes específicos. Un defecto de la función de esas proteínas por mutaciones de regiones codificantes, zonas de empalme de intrones, promotores o de su regulación en el momento apropiado, pueden ocasionar malformaciones. La no competencia de una región del embrión a la acción inductora de una segunda región puede ocasionar fallas en la formación de una parte del embrión, que finalmente se expresa por un defecto congénito. Mutaciones simples, aberraciones cromosómicas no balanceadas o defectos poligénicos o multifactoriales, pueden ser la etiología genética de malformaciones específicas. Similares consecuencias pueden tener lugar cuando un factor ambiental de procedencia materna exógena, o por anomalías del sistema endocrinometabólico materno o endógenas, hace diana en zonas embrionarias impidiendo, por ejemplo, la competencia de una región del embrión a la inducción de otra región embrionaria, o compitiendo con algunas de las proteínas involucradas en la activación o inhibición de un proceso jerarquizado por genes, cuya función es normal, o también ocasionar la disrupción de tejidos o regiones vasculares por la acción de teratógenos, como las radiaciones o el calor excesivo y prolongado.

La susceptibilidad genética de la madre y del embrión, pueden ser un mecanismo de defensa genética frente a la acción de agentes teratógenos, que junto a factores relacionados con la dosis y el tiempo de exposición del teratógeno, así como el tiempo de desarrollo embrionario en que éste tiene lugar, explican la variabilidad de expresión de la acción de los teratógenos.

La confluencia de factores genéticos o ambientales que producen malformaciones, disrupciones o deformidades en etapas tempranas del desarrollo, dificultan llegar a conocer exactamente la etiología del defecto, que en última instancia, queda clasificado como malformación. Frente a la impotencia de los dismorfólogos cabe preguntarse: ¿Podrá la genética molecular dilucidar esta duda?

# PREVENCIÓN DE LAS ENFERMEDADES GENÉTICAS Y ASESORAMIENTO GENÉTICO



*Iris A. Rojas Betancourt*

*Las enfermedades genéticas son casi siempre serias, incurables y muy pocas tienen un tratamiento satisfactorio. Así, en la situación actual, los medios más efectivos de prevención siguen siendo el Asesoramiento Genético, con el Diagnóstico Prenatal, cuando es posible, a través de los servicios de salud.*

*En este capítulo vamos a abordar la vinculación de la Genética con estos servicios, es decir, la aplicación de los conceptos, técnicas y métodos de trabajo de esta ciencia, al cuidado de la salud humana, a través de los servicios de Genética Médica.*

## SERVICIOS DE GENÉTICA

Los especialistas que atienden los Servicios de Genética Médica, son genetistas clínicos que están altamente comprometidos con el diagnóstico, pronóstico, tratamiento y prevención de enfermedades genéticas y defectos congénitos y quienes en armonioso trabajo con asesores genéticos diseñan las estrategias preventivas individuales o generales que sean pertinentes. Las características y objetivos que se ofrecen a continuación explican la atención multidisciplinaria necesaria y coordinadas armónicamente a fin de obtener los resultados que pueden esperarse.

Los servicios de Genética, atendiendo al origen de la solicitud, pueden ser de dos tipos:

- a) Asistenciales - Preventivos de base individual - familiar.
- b) Programas de prevención con base poblacional (Genética de Salud Pública).

### Servicios asistenciales-preventivos de base individual-familiar

#### *Objetivos*

- Atender los problemas médicos, psicológicos y sociales que presentan los pacientes y sus familiares.

- Facilitar su acceso a otros servicios.
- Ayudarlos a vivir de la mejor manera posible.
- Maximizar la probabilidad de que tengan descendencia no afectada (respetando su autonomía reproductiva).
- Prevenir la aparición de la enfermedad en personas sanas con predisposición genética.

### *¿A quines están dirigidos?*

- A personas con signos o síntomas sugerentes de una enfermedad genética o defecto congénito conocido, como:
  - Defectos congénitos.
  - Retraso Mental.
  - Trastornos de la diferenciación sexual.
  - Trastornos del crecimiento y el desarrollo.
  - Displasias esqueléticas.
  - Trastornos Neurológicos.
  - Discapacidades.
- Personas o parejas con riesgo aumentado de tener descendencia afectada por:
  - Edad materna (o paterna) avanzada.
  - Hijos previos con enfermedades genéticas.
  - Portadores de genes recesivos mutantes.
  - Afectados con enfermedad dominante.
  - Valores alterados de marcadores bioquímicos.
  - Alteraciones ecográficas.
  - Abortos a repetición.
  - Pertenencia a un grupo étnico o geográfico específico.
  - Consanguineidad.
  - Historia familiar positiva.
- Personas sanas con riesgo de desarrollar una enfermedad genética por:
  - Probabilidad de haber heredado un gen determinístico. Ej. - Ataxia SCA2.
  - Probabilidad de haber heredado un gen predisponente. Ej. - Cáncer de mama.

### *Componentes o funciones de los servicios asistenciales-preventivos de base individual-familiar*

- Diagnóstico precoz y preciso.
- Asesoramiento genético.
- Seguimiento longitudinal.

## **Programas de prevención con base poblacional**

Funcionan bajo la responsabilidad de los organismos de Salud Pública, tienen cobertura poblacional y objetivos preventivos.

- Programas preventivos poblacionales.
- Pesquisajes genéticos.

### *Programas preventivos*

Estos se aplican en los tres niveles de prevención de las enfermedades genéticas:

- Prevención primaria: Preconcepcional, o basada en opciones reproductivas post-concepcionales.
- Prevención secundaria: Preclínica.
- Prevención terciaria: De las manifestaciones clínicas.

La *prevención primaria preconcepcional* consiste en evitar la ocurrencia del trastorno en cuestión, y se puede lograr mediante:

- La protección a personas en edad reproductiva de la exposición a agentes potencialmente mutagénicos o teratogénicos, es decir, capaces de dañar el material genético, el embrión o el feto, como por ejemplo: las radiaciones, el alcohol, las drogas, los contaminantes ambientales.
- Estimular la reproducción en edades óptimas, sobre todo en la mujer de 20 a 35 años, para disminuir el riesgo de enfermedades cromosómicas.
- Identificación de parejas con riesgo para enfermedades monogénicas o hereditarias y brindarles opciones reproductivas como: la abstención reproductiva, la inseminación artificial con donante de gametos, la adopción, o influir en la selección de parejas.
- Ingestión de ácido fólico preconcepcional, ya que ciertas malformaciones son susceptibles de prevención primaria, asegurando la administración preconcepcional de este metabolito.

Como estas estrategias no son muy eficaces, sobre todo en el caso de las enfermedades hereditarias, otra forma de prevención primaria es la *prevención primaria basada en opciones reproductivas post-concepcionales*, es decir, evitar el nacimiento del niño afectado.

Ésta implica el conocimiento del riesgo por parte de la pareja y la elección informada de la opción preventiva que mejor se adapte a sus valores personales y expectativas con respecto a su futuro hijo.

El primer paso es la detección sistemática de factores de riesgo en las parejas que se puede lograr mediante:

- La investigación rutinaria de la historia familiar en la atención primaria de salud.
- Detección sistemática de portadores de enfermedades recesivas con alta frecuencia en la población específica.
- Seguimiento del embarazo en la edad materna avanzada.
- Seguimiento de embarazadas con medición de marcadores bioquímicos en suero materno.
- Ultrasonografía fetal.

Estas estrategias estarían seguidas del Asesoramiento Genético y el Diagnóstico Prenatal, si está disponible.

La *prevención secundaria* consiste en aplicar medidas en estadíos preclínicos de la enfermedad, para minimizar las manifestaciones clínicas en los pacientes afectados o con riesgo de enfermar en el futuro, es decir, la detección subclínica precoz de enfermedades o predisposiciones, seguida de intervenciones preventivas y/o terapéuticas.

Ejemplos: Tratamiento de la fenilcetonuria y el hipotiroidismo congénito, detectadas en recién nacidos.

Colonoscopías periódicas, seguidas de intervención quirúrgica en portadores de genes predisponentes para el cáncer de colon.

Estas medidas están precedidas de información al paciente que los capacite en la toma de decisiones.

La *prevención terciaria* consiste en minimizar el impacto médico, psicológico y social de aquellas enfermedades genéticas que ocurren sin que haya signos previos, ni factores de riesgo conocidos en la familia. Consiste en el Diagnóstico, el tratamiento del fenotipo clínico, la rehabilitación, y la incorporación y adaptación a la sociedad.

### *Pesquisajes genéticos*

Son programas destinados a identificar enfermedades genéticas o portadores de genes, mediante el estudio de amplios grupos (poblaciones enteras o grandes subgrupos como embarazadas, recién nacidos, etc.), aunque también se realizan en grupos específicos (grupos étnicos).

### *Principales categorías de pesquisajes*

- De recién nacidos.
- Prenatales.
- De adultos: Presintomáticos.  
De portadores.

Los *pesquisajes en recién nacidos* tienen como objetivos:

- Identificar niños con trastornos genéticos.
- Prevenir estos trastornos o disminuir sus consecuencias mediante el tratamiento.

Los principios que deben cumplir los pesquisajes en recién nacidos son:

- Que la enfermedad esté definida con claridad, sea tratable y su incidencia poblacional razonablemente alta.
- Que la prueba a realizar sea rápida, poco costosa, se pueda implementar a gran escala, tenga pocos falsos positivos y si es posible ningún falso negativo.
- Que se pueda hacer un diagnóstico precoz y definitivo, inicio rápido del tratamiento y disponibilidad de Asesoramiento Genético.

Ejemplos:

- Fenilcetonuria.
- Galactosemia.
- Hipotiroidismo congénito.

Los *pesquisaje de portadores* tienen como principios:

- Alta frecuencia de heterocigóticos en la población.
- Prueba adecuada para el estudio masivo.
- Disponibilidad de Asesoramiento Genético.
- Disponibilidad de Diagnóstico Prenatal.
- Enfermedad Autosómica Recessiva con alta incidencia en la población o grupo étnico, ó Enfermedad Recessiva ligada al X relativamente frecuente, ó Enfermedad Autosómica Dominante de comienzo tardío.

En todos los Servicios de Genética y niveles de prevención antes mencionados, está presente el Asesoramiento Genético como proceso central y esencial que guía el curso de acción, ante un problema de causa total o parcialmente genética.

## **ASESORAMIENTO GENÉTICO**

Aunque la mayoría de las personas que trabajan en el campo de la medicina, están familiarizados con los términos Consejo o Asesoramiento Genético, y tienen alguna idea de lo que significa, es raro que lo definan adecuadamente. Hay una amplia variedad en los conceptos que tienen. Algunos lo ven esencialmente como un medio de apoyo psicoterapéutico, o sea en el campo de la medicina social; otros lo ven primariamente relacionado con test diagnósticos especiales para enfermedades hereditarias, y otros, como un complejo proceso matemático para estimar riesgos.

Todos estos puntos de vista, tienen algo de real, pero ninguno refleja lo que es realmente el proceso de Asesoramiento Genético.

### **Evolución del concepto de asesoramiento genético**

A Sheldon Reed se le atribuye la introducción del término Consejo Genético en 1947, sin embargo, la práctica de "aconsejar" a personas con rasgos hereditarios comenzó realmente en 1906, poco después de que Bateson sugiriera que la nueva forma médica y biológica de estudiar la herencia se llamaría Genética, a raíz de lo cual mucha gente, incluyendo genetistas, comienzan a pensar que esta nueva ciencia tal vez podría explicar o identificar factores hereditarios relacionados no sólo con condiciones médicas como el Retraso Mental, sino también con condiciones sociales o del comportamiento, como la pobreza, la criminalidad y las enfermedades mentales.

Así surge el primer modelo de Asesoramiento Genético que es el MODELO EUGENÉSICO (primera mitad del Siglo XX).

Eugenesia es el término sugerido por Galton en 1885 para nombrar a una corriente dentro de las Ciencias Sociales que abogaba por el logro de mejores cualidades físicas y mentales en futuras generaciones. Eugenesia proviene de la palabra griega Eugénico que significa "Bien Nacido".

Con esta idea, surgieron instituciones en Estados Unidos, Inglaterra y otros países, donde los científicos no sólo tomaban datos sobre rasgos humanos, sino que a veces daban información a los familiares de los afectados, casi siempre con la intención de que no se reprodujeran. Los datos coleccionados no tuvieron un uso científico, sino que fueron manejados por programas políticos y sociales.

El movimiento eugenésico llevó a horribles excesos, por ejemplo en Estados Unidos en 1926, fueron esterilizadas involuntariamente más de 6, 000 personas, en Alemania se legalizó la Eutanasia de los "genéticamente imperfectos" en 1939, lo que llevó a la muerte a más de 70, 000 personas. Estos abusos en nombre de la Genética, fueron la base para nuevos enfoques que prevalecen hoy en el Asesoramiento Genético.

### **Modelo médico-preventivo**

Después de estos malos comienzos, por al menos una década, los genetistas se abstuvieron de "aconsejar" a las familias acerca de condiciones potencialmente hereditarias.

A mediados de los años 40, comienzan a funcionar "Clínicas Hereditarias" en Estados Unidos e Inglaterra. En los 50, éstas se incrementan. A medida que la medicina comienza a centrarse en la prevención, se comienza a dar información acerca de los riesgos, basada casi enteramente en observaciones empíricas, para que las familias pudieran evitar la recurrencia de un defecto que ya había aparecido. A pesar de que en esta época se hacen disponibles unas pocas pruebas diagnósticas, y se conoce la estructura del ADN, no era posible la identificación prospectiva de portadores y la base de los síndromes cromosómicos era totalmente desconocida, por lo que aunque los objetivos de este Consejo Genético eran prevenir los trastornos genéticos, éste estaba limitado a ofrecer a las familias, información, simpatía y el "consejo" de evitar la descendencia, ya que para la mayoría de los genetistas era obvio que las familias "racionales" querrían evitar la recurrencia.

## **Modelo basado en la toma de decisiones (años 60)**

Las posibilidades de la Genética cambiaron dramáticamente 10 años más tarde, cuando se conoce el número diploide de cromosomas humanos en 1956, y se dilucidó la citogenética de varios trastornos cromosómicos. También fue posible detectar heterocigóticos para la alfa talasemia, otras hemoglobinopatías, errores congénitos del metabolismo, como la deficiencia de Glucosa - 6- fosfato deshidrogenasa, etc. Se utiliza la Amniocentesis para el Diagnóstico Prenatal Citogenético de enfermedades cromosómicas y ligadas al sexo. En 1967 se hace el primer Diagnóstico Prenatal de un trastorno cromosómico por Jacobson y Barter.

Estos avances les dan a las familias nuevas opciones para un análisis más específico de sus riesgos y la posibilidad de evitar enfermedades así que la tónica del Consejo Genético fue evolucionando a Asesoramiento Genético NO directivo, y a enfatizar en la toma de decisiones autónomas del paciente.

Cambió también el énfasis del Asesoramiento Genético: de informativo, hacia un proceso más interactivo donde el paciente no sólo es educado acerca de los riesgos, sino también ayudado con elementos complejos, a explorar asuntos relacionados con el trastorno específico y a tomar decisiones sobre su reproducción, acordes con sus propias necesidades y valores. Este enfoque está vigente en la actualidad, pero dado el desarrollo creciente de la Genética y sus aplicaciones prácticas, se impone la evaluación de nuevos y complejos elementos por lo que el concepto de Asesoramiento Genético, continúa evolucionando.

## **Modelo psicoterapéutico**

Aunque las familias reciben a través del Asesoramiento Genético alguna información, ellos no pueden procesarla o actuar consecuentemente con lo que han aprendido, hasta que se enfrentan a poderosas reacciones. Por esta razón, explorar las experiencias, respuestas emocionales, objetivos, creencias religiosas, cultura, recursos, dinámica familiar e interpersonal y estilos de enfrentamiento se ha convertido en parte integral del proceso de Asesoramiento Genético.

Dado que casi siempre el problema toma al paciente desprevenido, y aún cuando tenga alguna experiencia con el trastorno o conozca sus riesgos, puede surgir ansiedad, temores y culpa, un asesor hábil tiene que ser capaz de reconocer y manejar estos factores, identificar respuestas normales y patológicas, prepararlos para nuevos problemas y emociones que puedan surgir y ayudarlos a buscar recursos para mejorar su ajuste.

## DEFINICION DE ASESORAMIENTO GENÉTICO

En 1975 un Comité Ad Hoc de la Sociedad Americana de Genética Humana (ASHG) propuso una definición que después fue adoptada por dicha sociedad y que no falta en ningún texto respetable; la misma dice que:

El Asesoramiento Genético es un proceso de comunicación que tiene que ver con los problemas humanos asociados con la ocurrencia o riesgo de recurrencia de un trastorno genético en una familia. Este proceso incluye el intento de una o más personas entrenadas, por ayudar al individuo o familia a:

1. *Comprender* los hechos médicos, incluyendo el diagnóstico, el curso probable de la enfermedad, y el manejo disponible;
2. *Apreciar* la forma en que los factores hereditarios contribuyen a la enfermedad y el riesgo de recurrencia en parientes específicos;
3. *Entender* las alternativas u opciones para manejar el riesgo;
4. *Elegir* un curso de acción que parezca apropiado para ellos, en vista de sus riesgos, objetivos familiares, sus principios éticos, religiosos; y ...
5. *Ajustarse* lo mejor posible a un miembro de la familia afectado y/o al riesgo de recurrencia.

A pesar de lo completa de esta definición, el Asesoramiento Genético ha cambiado desde 1975, fundamentalmente por dos diferentes razones:

1. Mayor número de indicaciones para el Asesoramiento Genético y los servicios de Genética: La anterior definición se focaliza en las implicaciones reproductivas del Asesoramiento Genético. En las últimas dos décadas el Asesoramiento Genético se ha extendido, al incluir condiciones no completamente genéticas y aún no genéticas (exposición a teratógenos o mutágenos, malformaciones congénitas, enfermedades comunes del adulto), y no es inconcebible que en el futuro, los pacientes reciban Asesoramiento Genético sobre polimorfismos que pueden afectar la respuesta a drogas terapéuticas o agentes ambientales y hasta sobre la genética del comportamiento "normal" o los rasgos psíquicos.
2. Cambios en la proyección de los pacientes y los servicios de salud: A medida que los individuos que piden Asesoramiento Genético son más diversos y la tecnología más poderosa y compleja, nuevos elementos han ganado prominencia en el proceso de Asesoramiento Genético. El asesor de hoy, necesita informar a los pacientes

no sólo sobre la naturaleza de los riesgos, los tests y las opciones reproductivas, sino también sobre dilemas éticos que pudieran surgir como resultado de ellos.

## **Objetivos del asesoramiento genético**

Van dirigidos a:

1. El individuo afectado:
  - a) Disminuir el dolor y el sufrimiento por la enfermedad.
  - b) Ofrecerles tratamiento, si es posible.
  - c) Informarles del riesgo para su descendencia y otros familiares.
  - d) Disminuir la ansiedad y la culpa.
  - e) Ayudarlos a manejar el problema.
2. Los padres:
  - a) Ayudarlos a tomar decisiones.
  - b) Brindarles opciones reproductivas.
  - c) Disminuir la ansiedad y la culpa.
  - d) Educarlos.
  - e) Apoyarlos.
3. A la sociedad:
  - a) Prevenir las enfermedades genéticas.
  - b) Eliminar las enfermedades genéticas.
  - c) Disminuir la incidencia de las enfermedades genéticas.
  - d) Disminuir la carga por ellas.
  - e) Disminuir la frecuencia de genes deletéreos.
  - f) Aumentar la conciencia de la gente.
  - g) Influir en la selección de parejas.
4. Otros objetivos:
  - a) Aumentar la autonomía.
  - b) Ofrecer nuevos avances científicos.

## **Principales razones por las que se solicita asesoramiento genético**

- . Edad materna avanzada.
- . Hijos previos con defectos congénitos.
- . Historia familiar de enfermedades genéticas.
- . Exposición a teratógenos.
- . Mismo origen étnico o geográfico de la pareja.
- . Consanguinidad.
- . Fallas reproductivas.
- . Conocimiento de la presencia de genes deletéreos determinísticos o predisponentes en la familia.
- . Conciencia de que existen riesgos generales, y deseo de disminuirlos al máximo.

## **Principios del asesoramiento genético**

Se refieren a todos los elementos que conforman este proceso, es decir, sus componentes básicos, los aspectos prácticos, los aspectos psicológicos y los aspectos éticos del Asesoramiento Genético.

## **Componentes básicos del asesoramiento genético**

- . Diagnóstico
- . Estimación del riesgo
- . Comunicación
- . Soporte o Basamento

### *Diagnóstico*

En él se fundamenta el Asesoramiento Genético, sin un diagnóstico preciso es muy difícil y aún imposible el proceso, por lo tanto es la parte inicial del mismo.

El diagnóstico se basa en:

- 1.El Interrogatorio, que incluye el Motivo de consulta, la Historia natural de la enfermedad, la Historia familiar y otros Antecedentes.

- 2.La confección del Árbol Genealógico.
- 3.El Examen físico al paciente y familiares.
- 4.La Confección de la Historia Clínica Genética y revisión de la Historia anterior del paciente y familiares donde podemos encontrar: Fotos, resultados de estudios, resultados de necropsias y otros datos que contribuyan al diagnóstico.
- 5.La indicación de Exámenes complementarios que pueden ser de rutina como: Sangre, Rx, etc. ó especiales como: Citogenéticos, Bioquímicos, Moleculares, etc.
- 6.Revisión de la literatura actualizada
- 7.Consultas con otras especialidades.

Existen factores que dificultan el establecimiento de un diagnóstico preciso, por ejemplo:

- 1.Heterogeneidad genética: Fenómeno que explica que ciertos trastornos que superficialmente se recuerdan unos a otros al nivel clínico; son el resultado de defectos genéticos diferentes, o sea causados por mutaciones diferentes del mismo locus (Heterogeneidad alélica) o en diferentes loci (Heterogeneidad de locus), por lo tanto pueden tener diferente evolución y aún diferente tipo de herencia. Algunos trastornos pueden tener heterogeneidad tanto clínica como genética. Ej.: las sorderas, las mucopolisacaridosis, la enfermedad de Alzheimer, las distrofias musculares, las atrofas musculares espinales, la fibrosis quística.
- 2.Fenocopias: Condiciones que semejan enfermedades genéticas y son causadas por factores ambientales. Ej.: microcefalia.
- 3.Ilegitimidad: Tergiversa la historia familiar. No se puede interpretar adecuadamente el árbol genealógico y por ende el patrón de herencia.
- 4.Los casos esporádicos: El tamaño relativamente pequeño de las familias actuales, hace más frecuente este problema. Muchas situaciones pueden conducir a la presencia de un caso esporádico y todas tienen que ser tomadas en cuenta.
  - a) Que el trastorno no sea genético o sólo parcialmente genético.
  - b) Que sea multifactorial, con bajo riesgo de recurrencia.
  - c) Que represente una nueva mutación dominante.
  - d) Que sea cromosómico.
  - e) Que sea el primer afectado de una condición Autosómica Recesiva.
  - f) Que sea el primer varón afectado de una condición Recesiva Ligada al X.
- 5.Otros problemas:
  - a) Que el individuo afectado haya vivido en una época remota cuando no existían investigaciones relevantes para el diagnóstico. En estos casos el interrogatorio puede ser de gran valor, por Ej.: Se sospecha que un individuo de la familia padeció

- Distrofia muscular y se sabe por el interrogatorio que murió a los 40 años, debió ser del tipo Becker y no Duchenne.
- b) Que el individuo haya muerto sin realizarse investigaciones esenciales para el diagnóstico (aún estando disponibles), o sin realizarle necropsia, y no se guardaron muestras de células, tejidos, ADN, etc.
  - c) Que el diagnóstico no se haya podido o no se pueda hacer aún estando el individuo vivo. El conocimiento sobre los trastornos genéticos es incompleto, pero puede obtenerse una considerable ayuda contactando a colegas en otras partes del mundo y guardando muestras para futuras investigaciones. No obstante, las personas que practican el Asesoramiento Genético, tienen que estar conscientes de que hay situaciones donde no es posible llegar al diagnóstico y el Asesoramiento Genético no es preciso.
  - d) Que el diagnóstico sea erróneo. Esta es una situación mucho más peligrosa.

Es importante que el que practica el Asesoramiento Genético tenga un amplio rango de habilidades diagnósticas, conozca sus limitaciones y las de sus colegas y desarrolle un escepticismo saludable en materia de diagnóstico y de sensibilidad al error. Por todo esto el Asesor tiene que asegurarse de que la información diagnóstica sea lo más completa y precisa posible.

¿Cómo?

- Tratar de ver a o a los individuos afectados, aunque ya hayan sido investigados.
- Examinar siempre a individuos asintomáticos para excluir casos moderados o comenzantes.
- Explicar a la familia la importancia de dar toda la información posible y que el proceso es largo.
- Estar preparados para entrevistar a todo tipo de personas.
- Dar tiempo entre las sesiones del Asesoramiento Genético.
- Mantener buenas relaciones interdisciplinarias.

## **ESTIMACIÓN DEL RIESGO**

Es el segundo elemento básico del Asesoramiento Genético. El Riesgo Genético se define como la probabilidad de que un trastorno genético aparezca en una familia (Riesgo de ocurrencia) o que, estando presente, recurra en otro miembro (Riesgo de recurrencia). Puede ser estimado sobre la base del conocimiento del mecanismo causal del trastorno, o de la experiencia.

Una vez que el diagnóstico es seguro y se han obtenido los detalles familiares precisos, el riesgo puede ser estimado y se estará en posición de intentar responder las preguntas que seguramente han dado lugar a la solicitud de Asesoramiento Genético, o sea comunicar a la familia los riesgos de desarrollar o transmitir la enfermedad a los familiares específicos, nacidos o no.

En Genética se casi siempre piensa y trabaja en términos de probabilidades o proporciones. Las cifras de riesgo en el Asesoramiento Genético pueden darse en forma de proporciones o porcentajes según el criterio del asesor. La siguiente tabla ilustra un intercambio práctico entre los dos enfoques.

Proporciones	%
1 en 2	50
1 en 4	25
1 en 10	10
1 en 1000	0.1

También, se pueden usar otros recursos didácticos como esquemas, láminas, bolsas con bolas, etc. En cualquier método que sea usado puede haber confusiones en la interpretación, aclararlos, requiere mucha paciencia. Por ejemplo:

- a) Las probabilidades se refieren al futuro, no al pasado. Así, en una situación de riesgo de 1 en 4 ó 25%, el hecho de que un niño previo esté afectado, no significa ni garantiza que los próximos tres serán normales, ni 2 afectados sucesivamente hace más o menos probable que el próximo también lo será. La probabilidad no tiene memoria.
- b) Los pacientes pueden invertir las probabilidades, así un padre de un niño con espina bífida, al que se le explique que el riesgo de recurrencia es de 1 en 20 ó 4%, puede interpretar que esa es la probabilidad de tener un hijo sano y encontrarla muy baja.
- c) La gente tiene diferente percepción de lo que constituye un riesgo alto o bajo. Algunos consideran demasiado alto para ser aceptable, un riesgo realmente bajo de 1 en 200 (0.5%), mientras otros aceptan con agrado un riesgo del 25%. Por supuesto que en este punto influyen muchos factores, entre ellos la propia naturaleza del trastorno. En este sentido es útil darles algún punto de comparación como por ejemplo el riesgo para la población general.

## Clasificación del riesgo genético

Se puede clasificar de dos formas:

- De acuerdo con la fuente de información en que se basa el estimado.
- De acuerdo con la magnitud en cifras.

De acuerdo con la fuente, pueden ser:

- a) *Riesgos Mendelianos*: El estimado se basa en predicciones teóricas y sólo pueden ser dados, cuando se reconozca claramente la herencia mendeliana. Son riesgos que se establecen "a priori". Es quizá la forma más satisfactoria de estimar el riesgo, porque comúnmente permite una clara diferenciación en categorías desde un riesgo despreciable (descendencia de los hermanos sanos de un individuo con una enfermedad Autosómica Recesiva rara), hasta un alto riesgo (descendencia de un individuo afectado, con una enfermedad Autosómica Dominante con penetrancia completa), ejemplo figura 18.1.

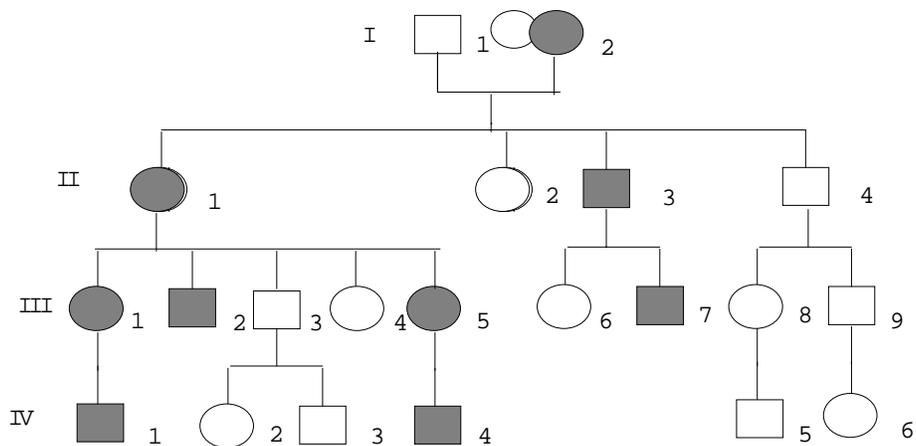


Figura 18.1. Herencia autosómica dominante con penetrancia completa.

b) *Riesgos Empíricos*: El estimado se basa en datos observados. Es el riesgo disponible para la mayoría de los trastornos genéticos no mendelianos. Esta información es confiable si se ha obtenido por métodos estadísticos seguros y si el individuo que se está asesorando proviene de una población comparable a aquella donde fueron obtenidos los datos. Es el riesgo estimado en la mayoría de los trastornos cromosómicos, multifactoriales o con heterogeneidad causal (Tablas 18.1, 18.2 y 18.3)..

Hay que recordar que estas cifras no son universales en su aplicación como las mendelianas ya que:

- Los datos recogidos en una población pueden no ser aplicables a otras donde la incidencia, y quizás la etiología del trastorno sea diferente.
- La mejoría en el conocimiento de los trastornos, en particular la solución de la heterogeneidad o la identificación de factores causales específicos, puede requerir la revisión radical de los riesgos estimados previamente.
- Los riesgos pueden depender no sólo del diagnóstico sino de factores individuales tales como el sexo, la severidad de la enfermedad y el número de miembros de la familia afectados.

**Tabla 18.1**

## Herencia Multifactorial

Ejemplo	Incidencia %	Riesgo para padres normales de 2do hijo afectado(%)	Riesgo para un padre afectado de un hijo afectado (%)
Anencefalia	0.20	5	-
Labio Leporino/ Paladar Hendido(LL/P H)	0.10	4	4

**Tabla 18.2. Enfermedades Cromosómicas**

(Riesgo de síndrome Down)

Edad Materna	No de casos por 1000 NV	Riesgo al nacimiento
35	3.09	1/324
37	2.94	1/340
40	10.50	1/95
43	15.72	1/64
45	33.64	1/30

**Tabla 18.3. Trastornos con heterogeneidad causal**

Enfermedad	Incidencia (x 1000)	Relación de sexo (M/F)	Riesgo para padres sanos de 2do hijo afectado(%)	Riesgo para un padre afectado de un hijo afectado (%)
Autismo	0.2	3:1	2	-
Epilepsia (idiopática)	5	1:1	5	5
Hidrocefalia	0.5	1:1	3	-
Retraso Mental (Idiopático)	3	1:1	3-5	10

- c) *Riesgos estimados a partir de evidencias adicionales*: Cuando pueden utilizarse resultados relevantes de investigaciones, los cuales pueden cambiar drásticamente los estimados iniciales (mendelianos o empíricos).

Ejemplos:

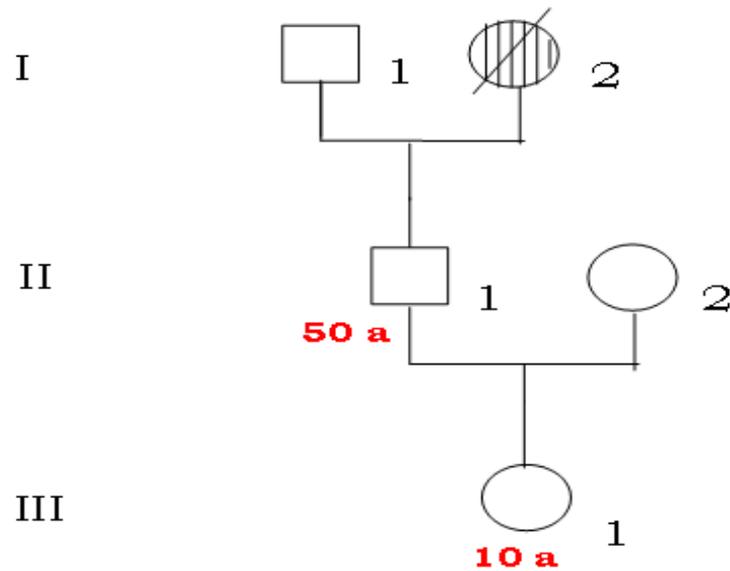
- AFP en Líquido amniótico en embarazo con riesgo para Defectos del Tubo Neural.
  - Detección de portadores y Diagnóstico Presintomático en enfermedades de comienzo tardío, en un número cada vez mayor de trastornos mendelianos, mediante el análisis del ligamiento con marcadores de ADN o análisis directo de mutaciones.
- Los resultados de estas investigaciones sólo pueden utilizarse aisladamente, o sea en casos específicos, no masivamente y no son 100% concluyentes, por lo que deben usarse en combinación con otros métodos, especialmente si son usadas dentro de un programa de pesquiasaje poblacional.

- d) *Riesgos Modificados*: Cuando el riesgo genético "a priori" o Probabilidad Inicial, casi siempre basado en la herencia mendeliana (Información anterior o Ancestral), puede ser modificado por alguna información condicional (Información Posterior), que puede ser genética o de otro tipo, como la edad de comienzo, en enfermedades AD de comienzo tardío. Estos riesgos se estiman a través de métodos matemáticos, fundamentalmente el Teorema de Bayes, que nos permite con estas informaciones, obtener una probabilidad condicional que nos lleva a través de la Probabilidad Conjunta o de la Unión con la Inicial, a una Probabilidad Relativa o Final, que es el Riesgo Modificado. Por ejemplo: El riesgo de desarrollar la Enfermedad de Huntington (EH) para un hombre de 50 años cuyo abuelo fue afectado, no es su riesgo "a priori" de 1 en 4, éste se reduce por su propia edad, y por el hecho de que su progenitor involucrado estuviera o no afectado. También puede reducirse de acuerdo al número de hermanos no afectados que hayan alcanzado cierta edad (Figura 18.2).

¿A qué edad uno puede considerar que la persona en riesgo es genéticamente normal?

¿Cuál es el riesgo para los hijos aún pequeños de la persona afectada que solicita Asesoramiento Genético?

Nos podemos auxiliar de evidencias adicionales o de la Tabla de Vida para calcular un riesgo modificado, si están disponibles.



PROBABILIDAD	QUE II 1 SEA HETEROCIGOTICO	QUE II 1 NO SEA HETEROCIGOTICO
"A Priori"	1/2	1/2
Condicional	1/2	1
Conjunta	1/4	1/2
Relativa o Final	$\frac{1/4}{1/4 + 1/2} = 1/3$	$\frac{1/2}{1/4 + 1/2} = 2/3$

Probabilidad de que III 1 haya heredado el gen:  $1/3 * 1/2 = 1/6$

Figura 18.2. Modo de aplicación del teorema de Bayes. Enfermedad de Huntington.

El mejor enfoque es la Tabla de Vida. Desafortunadamente para muchas enfermedades no hay suficiente información. La tabla (Tabla 18.4) de vida para la Enfermedad de Huntington se hizo en una población específica, pero puede ser de uso general.

**Tabla 18.4**

Individuos sanos (Edad en Años)	Riesgo de portar el gen (%)
20	49.6
22.5	49.3
25	49
27.5	48.4
30	47.6
32.5	46.6
35	45.5
37.5	44.2
40	42.5
42.5	40.3
45	37.8
47.5	34.8
50	31.5
52.5	27.8
55	24.8
57.5	22.1
60	18.7
62.5	15.2
65	12.8
67.5	10.8
70	6.2
72.5	4.6

d) Riesgos Compuestos: Esta definición se reserva para situaciones heterogéneas donde aún no se han encontrado evidencias satisfactorias Ej.: heterogeneidad de locus, sin evidencias adicionales.

Ejemplo.: En la Osteogénesis Imperfecta Neonatal existen casos producidos por nuevas mutaciones dominantes con bajo riesgo de recurrencia, y casos con Herencia Autosómica Recesiva, con riesgo de recurrencia de 1 en 4, ambos son clínicamente indistinguibles. Cuando en una familia aparece el primer caso, puede representar uno u otro de estos dos tipos, cuando no contamos con evidencias

adicionales, la solución actual es darles un riesgo intermedio de 1 en 8, que es el Riesgo Compuesto. Esta solución es temporal e insatisfactoria, los nuevos avances tecnológicos están contribuyendo a resolver este problema que nos plantea la heterogeneidad genética.

De acuerdo con la magnitud en cifras, los riesgos estimados pueden ser:

- a) Altos .....mayor o igual al 15%
- b) Moderados.....entre 15 y 5%
- c) Bajos.....menor o igual al 5%

## **Comunicación**

Refleja el elemento "Aconsejarte o Asesorador" del Asesoramiento Genético y no es menos importante que los dos elementos anteriores, sin embargo, es probable que sea el más olvidado por los asesores y del que más se quejan los pacientes, estas quejas a veces tienen que ver con la falta de comunicación verdadera y no con errores en la información dada. El Asesoramiento Genético no termina cuando se dan los riesgos sino que incluye una amplia variación de otras acciones para que sea completamente efectivo. Tiene que asegurarse que el individuo haya comprendido lo que se le dijo, no sólo el riesgo, sino también la naturaleza del trastorno, las medidas disponibles para la prevención o el tratamiento. Las enfermeras preparadas, los trabajadores sociales, los asesores genéticos u otro personal entrenado pueden jugar un importante papel en este aspecto. Un sistema de seguimiento sistemático puede contribuir también y es recomendable escribir una información resumida para entregar al paciente y familia.

En resumen, la Comunicación consiste en:

- . No sólo informar, sino también:
  - . Comprensión.
  - . Manejo individualizado.
  - . Evaluación psicosocial donde se tenga en cuenta.
    - Religión.
    - Percepción.
    - Nivel educacional.
    - Historia familiar.
    - Razones por las que solicita el Asesoramiento Genético.
    - Preparación para el Asesoramiento Genético.
  - . Seguimiento y apoyo.
  - . Material escrito.

## Soporte o basamento del asesoramiento genético

Es la base en la que se sustenta el Asesoramiento Genético, el elemento que ha determinado la evolución en el enfoque y proyecciones del proceso.

El Asesoramiento Genético tiene que incluir una clara explicación de lo que puede hacerse en materia de tratamiento, prevención o modificación de los riesgos o la enfermedad, es decir la disponibilidad de recursos existentes, de acuerdo con las características específicas de cada trastorno y las características familiares. Es un acompañamiento especial del Asesoramiento Genético ya que el paciente debe tener un conocimiento detallado de las medidas que están disponibles, por ejemplo:

- Diagnóstico Presintomático: Que tiene un valor predictivo y utilidad clínica, en la prevención de enfermedades de comienzo tardío. El paciente debe conocer los beneficios y perjuicios, el estado de la tecnología, y dar su Consentimiento.
- Tratamiento: El tratamiento curativo, para la mayoría de las enfermedades genéticas no está disponible, pero existen, en los diferentes niveles de intervención, estrategias terapéuticas aplicables (Tabla 18.5).

**Tabla 18.5**

NIVELES DE INTERVENCIÓN:	ESTRATEGIAS TERAPEUTICAS:
Gen Mutante	Modificación del fenotipo somático (transplante)
	Terapia de transferencia Génica.
	Modulación farmacológica de la expresión génica.
RNA m Mutante	Transferencia de genes ribosomales para degradar el RNAm mutante (experimental)
Proteína Mutante	Sustitución proteica
	Aumentar la función proteica residual.
Disfunción Metabólica, Bioquímica o de otro tipo.	Compensación específica (dietario o farmacológica)
Fenotipo Clínico	Intervención Médica o quirúrgica.
	Educación del enfermo
Familia	Asesoramiento Genético.

- Detección de portadores.
- Opciones reproductivas como:
  - Contracepción
  - Esterilización
  - Adopción
  - Donantes de gametos.
  - Diagnóstico Prenatal.

El *diagnóstico prenatal*, como opción reproductiva más ampliamente difundida en la actualidad en todo el mundo, por su papel en el desarrollo de la Genética dentro de la Salud Pública y en la evolución del concepto de Asesoramiento Genético, merece un tratamiento aparte.

*Concepto:* Métodos para investigar la salud del feto en desarrollo.

*Objetivos:*

- Detectar anomalías en la vida fetal y permitir la interrupción del embarazo, cuando se encuentren.
- Proporcionar información a la familia.
- Ayudar a prepararse para un parto difícil.
- Tranquilizar y disminuir la ansiedad a los grupos de alto riesgo.
- Asegurar que tengan un hijo sano.

### **Métodos de acceso al feto**

Pueden ser Invasivos, cuando implican algún riesgo para la integridad materno - fetal, siempre menor que el riesgo genético, lo que justifica su uso; o No invasivos.

*Métodos invasivos*

Procesamiento para obtener

- 1- Amniocentesis Tradicional: Edad gestacional, entre 15 y 17 semanas (Figura 18.3).
  - Ultrasonido previo.
  - Inserción transbdominal de aguja calibre 20 en el fondo.
  - Descartar las primeras gotas.
  - Extracción de Líquido Amniótico.

Riesgos:

Maternos:

- Extracción de sangre.
- Extracción de orina.
- Sangramiento transitorio (1%).
- Pérdida de LA.
- Hemorragia.
- Amnioítis (1 x 1000).
- Morbilidad emocional.
- Mortalidad Materna (1 x 20,000 a 1 x 100,000).

Fetales:

- Pérdida fetal (0,5%).
- Aborto (1,7%).
- Distress respiratoria (2,1 x).
- Neumonía.
- Deformidades (pie varo, luxación de cadera).
- Punción de órganos.
- Inmunización Rh.
- Inmunización ABO.

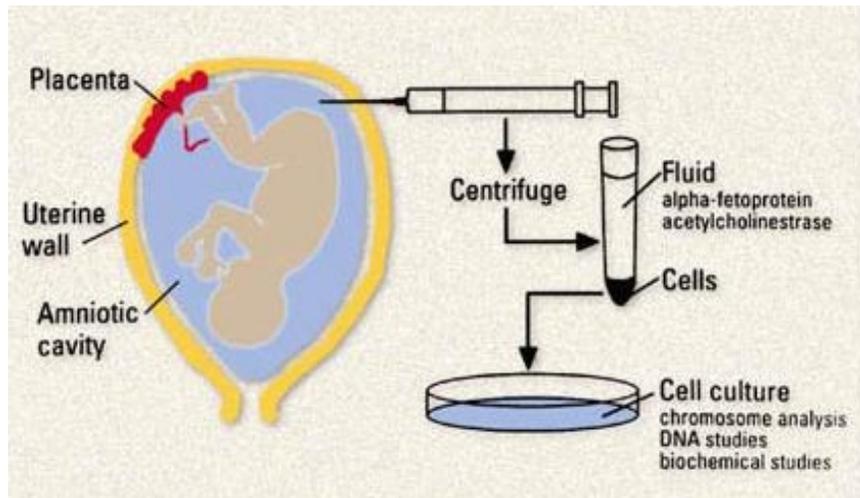


Figura 18.3. Esquema de la amniocentesis.

2- Amniocentesis Precoz:

Edad gestacional, entre 12 y 14 semanas.

Técnica - Igual que la tradicional, se extrae menos Líquido Amniótico.

Riesgo - Pérdida fetal (3 - 4 %).

Ventajas - Más temprano.

Desventajas - Fallo en obtener LA.

Baja concentración de células.

3- Biopsia de Vellosidades Coriales (Transabdominal, transcervical, transvaginal) (Figura 18.4):

Edad gestacional, entre 10 y 12 semanas.

Técnica - US previo.

- Anestesia local.

- Inserción de aguja espinal calibre 19 guiada por US.

- Toma de muestra.

Riesgos - Pérdida de embarazo (0,6 - 0,8%)

- CIUR.

- Ruptura de la placenta.

- Parto pretérmino.

- Defectos por reducción de miembros (1,7%).

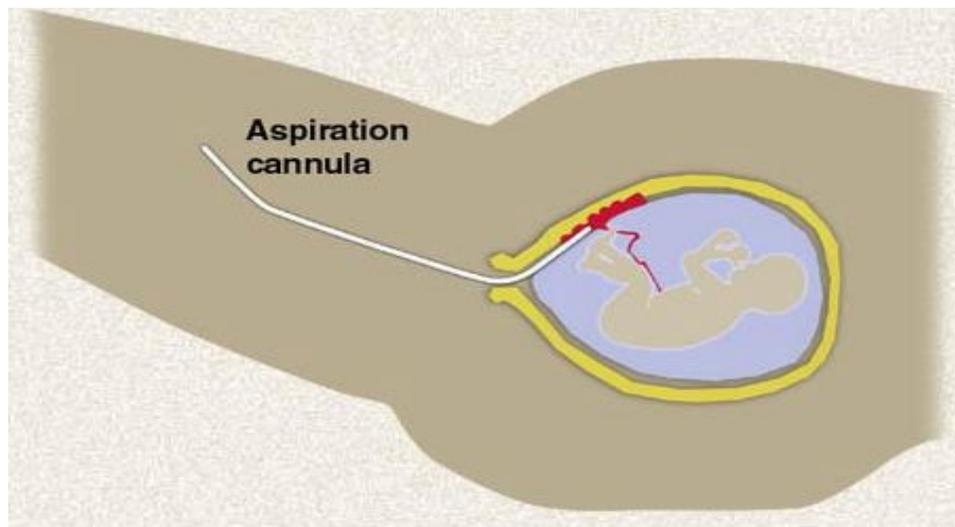


Figura 18.4. Esquema de toma de biopsia de vellosidades coriales transcervical.

4- Cordocentesis (Funipuntura o funiculocentesis): Obtención de sangre fetal por punción del cordón umbilical (Figura 18.5).

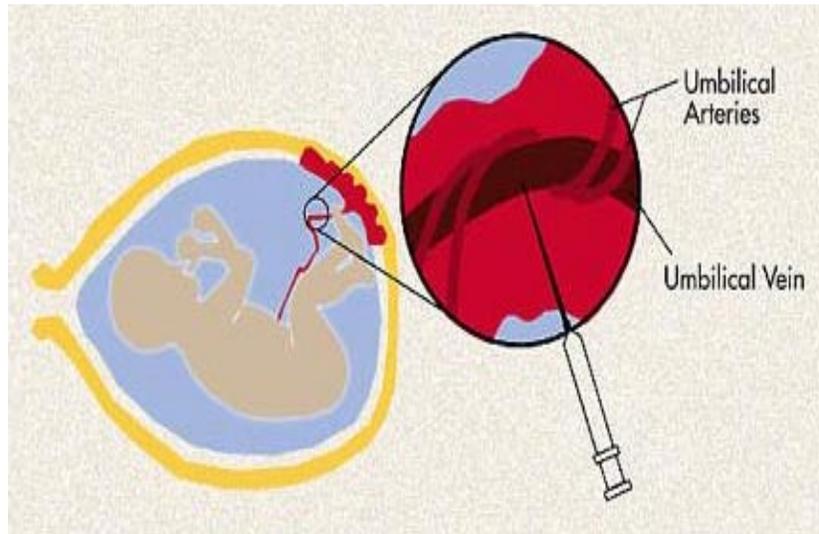


Figura 18.5. Esquema de toma de sangre por punción del cordón umbilical.

- 5- Biopsias de tejidos fetales: Hígado, piel, etc.
- 6- Fetoscopia.

#### *Métodos no invasivos*

- 1- Imagenológicas (Ultrasonografía, Ecografía)
- 2- Nuevos Enfoques: Diagnóstico Preimplantacional.  
Obtención de células fetales en la circulación materna.

#### *Técnicas diagnósticas*

- 1. Citogenéticas (Cariotipo, FISH).
- 2. Bioquímicas (Estudios metabólicos).
- 3. Moleculares (Estudios directos e indirectos del ADN).

- Apoyo: Muchas parejas que vienen al Asesoramiento Genético necesitan una u otra forma de apoyo. La información que se da puede tener consecuencias tan graves que los individuos requieren apoyo psicológico y social. Esto lo puede realizar el médico que elija la familia o un trabajador social, a veces se necesita ayuda psicoterapéutica especializada. También se puede requerir ayuda médica especializada o general, según el trastorno, o ayuda social (sillas de ruedas), así que el Apoyo en el Asesoramiento Genético, es parte integral del manejo de un paciente y su familia.

## ASPECTOS PRÁCTICOS DEL ASESORAMIENTO GENÉTICO

- Contenido
- Tiempo y Seguimiento
- Momento
- Enfoque
- Local
- Equipamiento
- Personal
- Fuentes de Información
- Efectividad
- *CONTENIDO*: Debe haber una completa discusión de, al menos, el diagnóstico y pronóstico de la enfermedad, los riesgos para el individuo que consulta, y las opciones y curso de acción disponibles.
- *TIEMPO*: El tiempo adecuado es esencial, el primer deber del médico interesado en los problemas del paciente, es asegurarse de que le dedicó el tiempo suficiente y necesario.
- *MOMENTO*: El Asesoramiento Genético en el embarazo es considerablemente mejor que después del nacimiento de un niño afectado, sin embargo el momento ideal es antes del matrimonio o la concepción. Inmediatamente antes o después del nacimiento de un niño enfermo el Asesoramiento Genético es muy necesario, pero el proceso de comunicación se hace difícil por la carga emocional que viven los padres. Debemos prepararnos para cada situación.

Diferentes momentos:

- Antes del matrimonio.
- Antes de la concepción.

- . Antes de la interrupción del embarazo o del nacimiento de un niño afectado.
  - . Después del nacimiento de un niño afectado.
  - . Después de la muerte de un niño afectado.
- *ENFOQUE*: El enfoque es la forma en que se proyecta el asesor. Habitualmente se reconocen dos enfoques del Asesoramiento Genético: El enfoque puede ser Directivo o No Directivo. El enfoque directivo surge debido a que los consejeros genéticos en la mayoría de los servicios, han sido o son médicos, los médicos acostumbran a dar directivas terapéuticas a sus pacientes y también los pacientes son dependientes de tales directivas. El peligro implícito de este enfoque es la oportunidad aún inconsciente del médico, de insinuar sus propias ideas religiosas, raciales, políticas o eugenésicas y que esto influya en la toma de decisiones. El enfoque No directivo consiste en dar toda la información disponible y ayudar al paciente, permaneciendo imparcial y objetivo en la toma de decisiones, este último es el más aceptado universalmente (Figura 18.6).

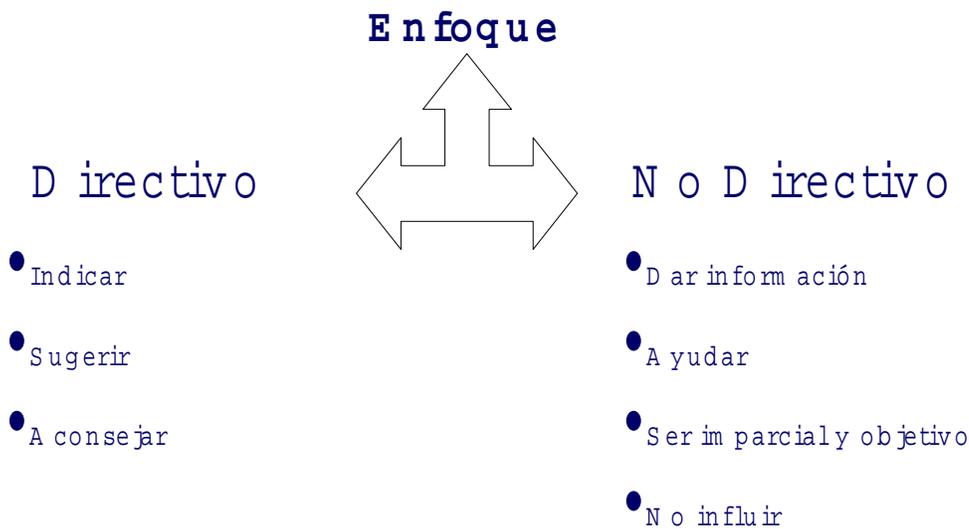


Figura 18.6. Enfoque directivo y no directivo del Asesoramiento Genético.

- *LOCAL*: Dadas las características de este proceso de comunicación, donde se discuten cuestiones de alta sensibilidad, cualquiera que sea el lugar que se utilice para realizarlo, debe tener en cuenta varias necesidades:
  - . ambiente tranquilo.
  - . libre de disturbios.
  - . no teléfono.
  - . no entrada y salida de enfermeras u otro personal.
  - . no muchas personas.
  - . facilidades para examinar adultos.
  
- *EQUIPAMIENTO*: Se necesita muy poco:
  - . Sala para entrevista.
  - . Set para examinar al paciente.
  - . Área para ilustraciones o proyecciones.
  - . Área para toma de muestras y materiales para ello.
  - . Computadora.
  - . Libros.
  - . Archivo ordenado y asequible.
  
- *PERSONAL*: Debe participar un genetista clínico, pero cada vez más lo hacen los médicos generales. La remisión a otras especialidades se hará de acuerdo con la organización de los servicios en cada lugar. Algunos autores piensan que debe estar siempre presente un médico por los problemas del diagnóstico, pero considerando también que el staff de no- médicos entrenados, representan un gran apoyo al servicio, por ejemplo los asesores genéticos entrenados en genética y aspectos psicológicos y las enfermeras entrenadas en genética y Asesoramiento Genético que complementan el trabajo del genetista clínico; y los trabajadores sociales que garantizan el apoyo social con visitas a la casa, apoyo específico, familiarización, seguimiento e información adicional.
  
- *FUENTES DE INFORMACION*: Deben estar disponibles:
  - . Libros.
  - . Bases de datos.
  - . Registros genéticos.
  - . Programas para la estimación del riesgo.
  - . Programas para la confección de árboles genealógicos.
  - . Directorios de laboratorios y servicios.
  - . Acceso a Internet.

- *EFECTIVIDAD DEL ASESORAMIENTO GENÉTICO*: Debe haber un método que permita medir este aspecto práctico, dicho método debe contemplar el logro de una comprensión completa por parte del paciente que lo lleve a tomar la decisión más racional, pero, otras decisiones no deben verse como fallos del Asesoramiento Genético, ya que mientras el objetivo del médico es prevenir la enfermedad, el de los pacientes puede ser otro bien diferente.

Factores que intervienen en la toma de decisiones:

- . Religión.
- . Negación.
- . Percepción del problema.
- . Nivel educacional.
- . Falta de conocimientos.
- . Historia familiar.
- . Razones por las que se solicita el Asesoramiento Genético.
- . Preparación para el Asesoramiento Genético.
- . La propia sesión de Asesoramiento Genético.
- . El seguimiento y el apoyo psicológico.

Por lo tanto el Asesoramiento Genético debe evaluarse por:

- . El grado de conocimientos adquiridos.
- . Racionalidad de la decisión tomada.
- . Habilidad para enfrentar el problema.
- . Repercusión a largo plazo de la decisión tomada.

## **ASPECTOS PSICOLÓGICOS DEL ASESORAMIENTO GENÉTICO**

Debido a que el paciente que acude a los servicios de Genética, se enfrenta a muchos estímulos nuevos y complejos en un corto período de tiempo, además, éstos tienen que ver con una esfera de la vida social llena de grandes emociones y carga sentimental, que es la reproducción y la familia, debemos tener en cuenta que se generará una situación de estrés. Lo más llamativo de esta situación es que entre el momento de la comunicación del diagnóstico o riesgo y la toma de decisiones, la pareja o familia pasa por una secuencia de manifestaciones psicológicas que se conoce como "Reacción de Enfrentamiento", esta reacción es similar a la que se produce ante cualquier otro tipo de evento estresante mayor. Consta de cinco fases o etapas:

- *SHOCK Y NEGACIÓN*: Éste reduce el impacto del trauma, ya que el paciente sale de la realidad y no es capaz de asimilar la información, ésto los prepara para la aceptación cognoscitiva de la nueva situación. Generalmente es un período corto de tiempo.
- *ANSIEDAD*: Se incorporan un poco a la realidad e intentan aceptar la nueva situación, lo que se manifiesta tratando de conocer e investigan ansiosamente sobre el problema.
- *IRA Y SENTIMIENTOS DE CULPA*: Indica cierta aceptación del problema, pero dada la incapacidad de manejarlo emocionalmente surge la angustia y la frustración que se manifiesta hacia afuera con cierto grado de agresividad y hostilidad, y hacia adentro con culpa.
- *DEPRESIÓN*: Es la reacción ante la "pérdida". Demuestra mayor grado de aceptación del problema.
- *HOMEOSTASIS PSICOLÓGICA*: "Se desarrolla el duelo". Se acepta la situación y se hacen ajustes para una nueva vida. El tiempo que demora en alcanzarse varía de un caso a otro.

Es importante conocer la existencia de esta reacción, reconocer las etapas y los requerimientos de los individuos en cada una de ellas, para brindarles el apoyo necesario o la ayuda especializada.

## **ASPECTOS ETICOS DEL ASESORAMIENTO GENÉTICO Y DE LA GENÉTICA MÉDICA**

La consideración de los aspectos éticos en la práctica de la Genética Médica es una temática relativamente reciente y ha estado influenciada por el desarrollo creciente de la disciplina de la Bioética y los adelantos en el conocimiento del Genoma Humano y sus aplicaciones prácticas. El término Bioética, fue propuesto por el oncólogo norteamericano V. R. Polter en 1970, proponiendo una disciplina que enlazara la biología con las humanidades en una ciencia de la supervivencia.

El acelerado paso en el descubrimiento de genes y la medicina molecular potencian un futuro en el que la información sobre la plétora de genes que causan enfermedades podrá obtenerse, las investigaciones podrán determinar la prevención efectiva y estrategias de tratamiento, y además han resultado en la expansión en el número y rango de tests genéticos.

Esta emergencia de la tecnología genética, se acompaña de creciente preocupación respecto al mal uso de la información genética en la sociedad. En muchas circunstancias el conocimiento de esta información puede ser beneficioso, pero crea una base para la discriminación genética, lo cual puede limitar o anular los beneficios anticipados de la investigación, además de las reales y potencialmente devastadoras consecuencias de la discriminación y otros efectos indeseables que, como ha ocurrido ya antes en la historia, puede traer un número de problemas sociales.

Como los problemas éticos, se refieren a dilemas y cuestiones morales, es fácil darse cuenta de que para muchos de ellos no existen respuestas correctas o incorrectas, generalmente se manejan en forma de un grupo de principios que resumen el pensamiento filosófico de personas de la sociedad que son pensadores, están instruidos y son respetados, de donde surge un código de trabajo que constituye la base de las directrices profesionales.

En este sentido, algunos estudiosos han promovido la discusión entre los genetistas del mundo, sobre los principales dilemas éticos en la práctica de la Genética Médica y la provisión de Servicios de Genética. Estas discusiones han servido de base para el establecimiento por parte de expertos convocados por la Organización Mundial de la Salud (OMS), de una propuesta de normativas internacionales sobre estos temas; diseñadas para asistir a los que toman decisiones a niveles regionales y nacionales, en la protección a las familias con enfermedades genéticas; para reconocer los importantes avances de la Genética Médica en la Salud Pública; y para desarrollar políticas que aseguren que estas aplicaciones sean accesibles a todos y aplicadas con el debido respeto a la ética y la justicia en todo el mundo.

En dichas normativas se establece, que la aplicación del conocimiento genético se tiene que llevar a cabo respetando los PRINCIPIOS GENERALES DE LA ÉTICA MÉDICA: la Autonomía, la Beneficencia, la No Maleficencia, la Proporcionalidad y la Justicia; y se identifican los principales problemas éticos en la práctica de la Genética Médica, como:

- Acceso a los servicios.
- Servicios voluntarios vs. Servicios obligatorios.
- Protección de opciones.
- Amplia discusión con los pacientes.
- Confidencialidad vs. deber de informar del riesgo a los familiares.
- Privacidad de la información genética respecto a terceras partes institucionales.
- Diagnóstico Prenatal y Aborto Selectivo.
- Asesoramiento Genético directivo vs. No directivo.

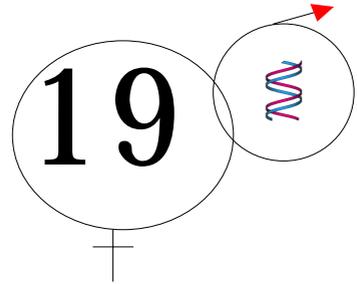
- Diagnóstico Presintomático y Pruebas de susceptibilidad, incluyendo las Pruebas Genéticas en Menores.
- Pesquisajes poblacionales.
- Temas de investigación.
- Terapia génica experimental en humanos.

Y recomiendan a modo de Normativas, que:

- Los servicios de Genética deben estar disponibles para todos, independientemente de las posibilidades económicas, priorizando a aquellos que más los necesiten.
- El Asesoramiento Genético debe ser no directivo en todo lo posible.
- Los servicios genéticos deben ser voluntarios. No se debe compulsar a los individuos a que los usen y deben estar precedidos de información.
- Se debe discutir con el paciente toda la información clínicamente relevante.
- Se debe mantener confidencialidad de la información genética, excepto cuando haya un alto riesgo para otros familiares.
- La privacidad individual debe ser protegida.
- El diagnóstico prenatal debe ser hecho sólo por razones relevantes a la salud del feto y no debe estar condicionado a la decisión de continuar o interrumpir el embarazo si el feto resulta afectado.
- Las opciones relacionadas con los servicios genéticos deben ser voluntarias.
- Las Pruebas Genéticas a menores sólo deben realizarse para mejorar su atención de salud.
- Los hijos adoptivos deben ser tratados bajo iguales normas que los hijos biológicos.
- Los protocolos de investigación deben seguir los procedimientos establecidos para su aprobación, incluyendo el consentimiento informado.
- Los protocolos para terapia génica experimental en humanos deben recibir aprobación nacional, por lo que representan para el tratamiento futuro de las enfermedades genéticas.

Numerosos estudios han demostrado que estos postulados, no dan respuestas a todos los problemas, en todas partes, por lo que el debate continúa.

# ANEMIA DE CÉLULAS FALCIFORMES: UN PROGRAMA DE NIVEL PRIMARIO DE ATENCIÓN



Marcos Martín Ruíz

*La enfermedad genética más frecuente en Cuba es la anemia falciforme, nombrada también "sickleemia". Hay establecido desde la década del 80, un programa de atención a las "parejas de riesgo". Sobre esta enfermedad, sus características epidemiológicas y la acción del Médico General Integral en la atención primaria, nos habla este capítulo. Es un ejemplo de cómo dirigir la prevención a través de diferentes aristas del asesoramiento genético de una enfermedad con una población de tan alta frecuencia de portadores.*

## ANEMIA A HEMATÍES FALCIFORMES

El término Anemia Falciforme (AF) se refieren a un grupo de trastornos genéticos que tienen en común la presencia de la hemoglobina S (HbS), que es una variante de la hemoglobina normal del adulto (HbA). La molécula de HbA está formada, además de los grupos hem, por dos cadenas polipeptídicas  $\alpha$  y dos  $\beta$ , determinadas ambas por dos genes  $\alpha$ -globina y un gen  $\beta$ -globina, pero esta última con una mutación en la posición 6 en que el aminoácido valina sustituye al ácido glutámico presente en la HbA.

La HbS en condiciones de baja tensión de oxígeno es menos soluble que la HbA y forma agregados al unirse entre sí, de esta forma afecta la capacidad de transportación de oxígeno y deforman la estructura de la membrana citoplasmática, normalmente muy flexible. Este hematíe deformado o "falciformado" obstruye el flujo sanguíneo en los vasos capilares, causando infarto de los tejidos que debían ser irrigados, con crisis de dolor que pueden ser intensas. En general, son bien conocidas las condiciones que llevan a estas crisis de dolor, pero no las abordaremos en este material. La anemia hemolítica presente crónicamente en este grupo de trastornos, se debe a la destrucción aumentada de los hematíes falciformados por acción del bazo y otros órganos del sistema retículo-endotelial.

Sinónimos de Anemia Falciforme:

- Anemia de Células Falciformes.

- Anemia de Hematíes Falciformes.
- Hemoglobinopatías S.
- Sickle Cell Disease (en inglés).

El gen  $\beta$ -globina se encuentra en el brazo corto del cromosoma 11 y presenta cientos de alelos pero no todos causan enfermedades. Entre los que causan enfermedad, los más frecuentes son: la HbS ya mencionada y la hemoglobina C (HbC). La HbC tiene dos cadenas  $\beta$ -globinas C, determinadas por el alelo  $\beta^C$ . Existen otros alelos que afectan cuantitativamente la síntesis de cadenas  $\beta$ -globina, bien por la disminución de éstas [ $\beta^+$  talasemia] o bien por su ausencia total [ $\beta^0$  talasemia].

Los tipos más frecuentes de AF o Hemoglobinopatías S son la Hemoglobinopatía SS (HbSS), la Hemoglobinopatía SC (HbSC) y la Hemoglobinopatía S/ $\beta$ -talasemia HbS/ $\beta$ -talasemia. Las características clínicas de las mismas pueden ser consultadas en los diferentes textos médicos.

La HbSS es la forma más frecuente y también la más severa. Presenta anemia crónica severa, crisis dolorosas y hemolíticas, y en ausencia de atención médica adecuada llevan a la muerte en edades tempranas de la vida en la mayoría de los casos. Tiene lugar cuando se ha heredado un gen  $\beta^S$  de cada padre. Esta forma de AF es denominada por diferentes autores como Sicklemia (en inglés), siclemia (anglicismo), drepanocitemia o anemia drepanocítica. A veces estos dos últimos términos los utilizan también como sinónimo de Anemia Falciforme.

La HbSC es menos severa que la anterior, es variable en su expresión y una tercera parte de los casos se comporta en forma benigna, pero no por ello exenta de complicaciones que podrían ser fatales. Tiene lugar cuando se ha heredado de uno de los padres el gen  $\beta^S$  y del otro el gen  $\beta^C$ .

La HbS/ $\beta^0$ -talasemia es la combinación heterocigótica de un alelo S y un alelo  $\beta$ -talasémico. La ausencia del alelo  $\beta$ -talasémico implica que sólo la HbS se expresa fenotípicamente, comportándose como si fuera HbSS. Tiene lugar cuando se hereda de uno de los padres el gen  $\beta^S$  y del otro el gen  $\beta$ -talasémico.

Los individuos heterocigóticos AS (HbAS) y AC (HbAC) se comportan como personas sanas en condiciones normales.

En Cuba, las tres formas de hemoglobinopatías S referidas están presentes dado la frecuencia de los alelos  $\beta^S$  (3% de heterocigotos),  $\beta^C$  (0.7% de heterocigotos) y  $\beta$ -talasemia (0.5%) en nuestra población.

Sin embargo, las frecuencias antes señaladas no tienen igual distribución en todas las provincias y municipios del país, dado fundamentalmente porque los alelos  $\beta^S$  y  $\beta^C$ , en lo esencial llegan a Cuba en los esclavos africanos forzosamente traídos al país por los

colonialistas españoles hasta el siglo XIX. También están presentes algunos casos que llegaron a Cuba a través de inmigrantes de países árabes como Líbano y Siria. En las provincias orientales la prevalencia de heterocigotos con HbAS tienen una prevalencia entre 5 y 7%. En algunas zonas específicas del país pueden ser más altas. Aunque se ha calculado que de acuerdo con las frecuencias de portadores, podrían nacer anualmente en Cuba aproximadamente 100 niños con la enfermedad, sin embargo, el efecto de concentración de heterocigotos en zonas determinadas y la tendencia a matrimonios intra-étnicos hace que el número de parejas de en que ambos tiene HbAS o HbAC (Hemoglobinas A y C), que tienen alto riesgo (25%), sea más alto que lo estadísticamente esperado si todos los matrimonios fueran al azar y la distribución fuera uniforme en el país.

El Sistema Cubano de Salud (SNS) tiene establecido un programa para detectar tempranamente las parejas y brindarles la posibilidad de un diagnóstico prenatal, de tal forma que ellas podrían tomar decisiones respecto a la continuación o interrupción del embarazo si el diagnóstico fetal fuera positivo.

A partir de las decisiones de las parejas de interrumpir el embarazo en unos casos y en otros por la disminución del número de hijos que en estas condiciones deciden tener, ha sido menor en las últimas dos décadas el número de nacimientos de niños afectados.

En este programa, el médico de la atención primaria debe indicarle a la gestante un análisis para determinar el tipo de hemoglobina que ella posee. Si resulta tener HbAS o HbAC, u otra combinación que no sea la hemoglobina normal en forma homocigótica (HBAA), debe brindarse el mismo estudio al cónyuge. Así, es posible detectar las parejas de alto riesgo. El análisis debe hacerse lo más temprano posible para que pueda realizarse el diagnóstico prenatal en momento apropiado si ésta fuera la opción de la pareja, por tanto se indica al momento del diagnóstico del embarazo. En muchas ocasiones, ya la gestante, su esposo o ambos conocen su condición, lo cual es deseable y permite mayor rapidez. El estudio preconcepcional es posible y deseable, siempre que se decida por las personas y se indica por los médicos de la atención primaria u otros.

Los niños que nazcan con la afección por haber decidido sus padres continuar el embarazo o por cualquier otro motivo, son dispensarizados y reciben una atención médico especializada. El Instituto de Hematología e Inmunología y los servicios hematológicos en Cuba, han trabajado desde la década de los años 80 en la atención precoz y está totalmente demostrado que este diagnóstico precoz de la afección permite acciones de prevención secundaria, evitando en lo posible las complicaciones, resultando en una mayor calidad y esperanza de vida a los mismos.

En todo el programa se respeta la autonomía de las personas, que tienen la opción de aceptar o rechazar cualquiera de las acciones de salud, como son: la determinación del tipo de hemoglobina, el diagnóstico prenatal o la interrupción del embarazo.

La ejecución de programas de pesquiasaje masivo como el que describimos, es recomendable en las enfermedades con patrón de herencia autosómico recesivo, cuando la prevalencia del gen mutado causante de la enfermedad es alta en la población y existen técnicas de laboratorio que permitan detectar a los heterocigotos. Requieren además de recursos humanos, técnicos y organizativos, generalmente aportados por las agencias gubernamentales. En nuestro país es garantizado por el sistema nacional de salud.

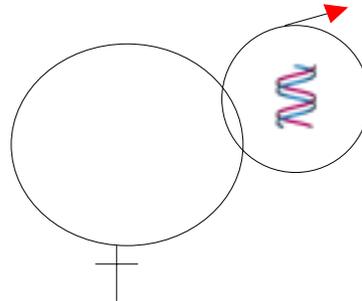
Los actores de este programa son los ciudadanos que deseen participar, los médicos de la atención primaria, y el resto de los profesionales de la salud que ejecutan las distintas acciones. No obstante queremos resaltar el papel del médico de la atención primaria.

El médico de la atención primaria asegura a sus pacientes la información relacionada con el programa, la descripción de la enfermedad y sus complicaciones, el estudio preconcepcional o en el momento de la gestación a las embarazadas, la realización de los análisis correspondientes en el momento más adecuado, y el seguimiento hasta conocer el riesgo de una persona o una pareja en particular, así como mantenerle informado del curso de los estudios de los mismos.

## **RESUMEN**

- Toda persona debiera conocer cual es el tipo de hemoglobina que posee.
- Las personas que tienen HBAA no tienen ningún riesgo de tener hijos con HbSS o HbSC.
- Las personas que tienen HbAS, HbAC, u otra distinta de HbAA, deberían conocerlo preconcepcionalmente, de modo que al planear tener hijos, su cónyuge también se estudie si no lo ha hecho ya.
- Especialmente deberían hacer el estudio anterior, aquellos que ya tienen antecedentes de algún familiar con dichas características.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS



### Capítulo 1

Motulsky V. Human Genetics. Problems and Approaches. New York: Springer -Verlag: 1979:1-17

Rimon DL, Connor JM, Pyeritz RE, Korf BR. Principles and Practice of Medical Genetics 4 Ed.

New York: Churchill Livingstone; 2002: 3-36.

Judson HF. El AND: clave de la vida. México DF: Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.

Anuario anual del MINSAP, 2002

### Capítulo 2

Dutta A, Bell SP. Initiation of DNA replication in eukaryotic cells.

Ann Rev Cell Dev Bion 1997;13:293-332.

Waga S, Stillman B. The DNA replication fork in eukaryotic cells.

Ann Rev Biochem 1998;67:721-51.

Kelly TJ, Brown GW. Regulation of chromosome replication.

Ann Rev Biochem 2000;69:829-80.

Wilkinson MG, Millar JBA. Control of the eukaryotic cell cycle by map kinase signaling pathways. FASEB J., 2000;14:2147-57.

Spector DL. Nuclear domains. J Cell Sci, 2001;114:2891-2893 .

Roland Foisner R. Inner nuclear membrane proteins and the nuclear lamina

J Cell Sci, 2001;114:3791-792.

Karsten Weis K. Nucleocytoplasmic transport: cargo trafficking across the border

Curr Opin Cell Biol 2002, 14:328-35.

Pai, Ch-Y, Corces VG. The nuclear pore complex and chromatin boundaries. TICB, 2002; 12:452-5.

### Capítulo 3

Sancar A. DNA Excision Repair. Ann Rev Biochem 1996;65:43-81.

Modrich P, Lahue R. Mismatch repair in replication fidelity, genetic recombination, and cancer biology. Ann Rev Biochem 1996;65:101-33.

Friedberg EC. Relationships between DNA repair and transcription. Ann Rev Biochem 1996; 65:15-42.

Wood RD. DNA repair in eukaryotes. Ann Rev Biochem 1996;65:135-67.

Grann R, Noller HF. Ribosomes and translation. Ann Rev Biochem 1997;66:679-716.

Lemon B, Tjian R. Orchestrated response: a symphony of transcription factors for gene control.

Genes Devel 2000;14:2551-69.

- Douglas L, Black D.L. Orchestrated response: a symphony of transcription factors for gene control. *Annu Rev Biochem* 2003;72:291-336.
- Smale ST. Core promoters: Active contributors to combinatorial gene regulation. *Genes Devel* 2001;15:2503-8.
- Kobor MS, Greenblatt J. Regulation of transcription elongation by phosphorylation. *Biochim Biophys Acta* 2002;1577:261- 75.
- Spirin AS. Ribosome as a molecular machine. *FEBS Letters* 2002;514:2-10.

#### **Capítulo 4**

- Saddler TW. *Langman Embriología Médica*. 7ª Ed Madrid: Editorial Médica Panamericana; 1999.
- Larsen W. *Embriología Humana*. 2 da. Ed. New York: Churchill Livingstone; 1997.
- Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD. *Molecular biology of the cell*. 3th ed. New York: Garland Publishing, 1999.

#### **Capítulo 5**

- Strikberger MW. *Genetics*. La Habana Instituto del Libro; 1968. (Edición Revolucionaria)
- Jenkins JB. *Genética*. La Habana Editorial Científico-Técnica; 1982. (Edición Revolucionaria)
- Adrian M, Owen RD, Edgar RS. *Genética General*. 3ra. Ed. Barcelona: Ediciones Omega S:A; 1974.

#### **Capítulo 6**

- Dubin NP *Genética General*. Tomo I . Moscú: Editorial MIR; 1981.
- De Grouchy J, Turleau C. Bagura Candela R. *Atlas de las Enfermedades cromosómicas*. México DF: Editorial Marín S:A; 1978.
- Barch Raven MJ *The act cytogenetics laboratory manual*. 2nd ed. New York: Press, 1991.
- Verna R, Babu A. *Human Chromosomes Especialized Techniques*. New York: Pergamon Press; 1989.

#### **Capítulo 7**

- Pardue ML, Gall JG. Molecular hibridization of radioactive DNA of cytological preparations. *Proc Natl Acad Sci USA* 1969;64:600-4.
- John H, Birnstiel M, Jones K. RNA:DNA hybrids at the cytological level. *Nature* 1969;223:582-7.
- Rudkin GT, Stollar BD. High resolution detection of DNA - RNA hybrids in situ by indirect immunofluorescence. *Nature* 1977;265:472-3.
- Pinkel D, Straume T, Gray JW. Cytogenetics analysis using quantitative, high sensivity, fluorescence hybridization. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986;83:2934-8.
- Swanitz G, Schubert R. *Diagnostic Cytogenetics*. Rolf-Dieter Wegner (ed.) Berlin: Springer-Verlag 1999.
- Garini Y, Macville M, du Manoir S, Buckwald RA, Lavi M, Katzir N, et al. Spectral karyotyping. *Bioimaging* 1996a;4:65-72.
- Meltzer PS, Guan XY, Burgess A, Trent JM. Rapid generation of region specific probes by chromosome microdissection and their applicaion. *Nature Genet* 1992;1:24-8.
- Kallioniemi OP, Kallioniemi A, Piper J, Isola J, Waldman FM, Gray JW, et al. Optimizing comparative genomic hibridization for analysis of DNA sequence copy number changes in solid tumors. *Genes Chrom Cancer* 1994;10:231.

- Al-Mulla, Al-Maghrebi M, Varadharaj G. Expressive genomic hybridization: gene expression profiling at the cytogenetic level. *Mol Pathol* 2003;56:210-7.
- Gisselbrecht S. Oncogenes and leukemias: history and perspectives. *Med Sci (Paris)* 2003;19:201-10.

### **Capítulo 8**

- De Grouchy J, Turleau C, Bagura Candela R. Atlas de las Enfermedades Cromosómicas. México DF: Editorial Marín S:A: 1978.
- Jones KL. Smith's Recognizable Patterns of Human Malformation. 5th Ed Montreal: W.S Saunders Company; 1997.
- Schinzel A. Catalogue of Unbalanced Chromosome Aberrations in Man. 2da ed New York: Walter de Gruyter. 2001.
- Stevenson RE, May JG, Goodman RM. Human Malformations and Related Anomalies. Oxford University Press; 1993.

### **Capítulo 9**

- Vogel F, Motulsky V. Human Genetics. Problems and Approaches. New York: Springer-Verlag; 1979
- Rimon DL, Connor JM, Pyeritz RE, Korf BR. Principles and Practice of Medical Genetics 4th Ed New York: Churchill Livingstone; 2002:3-36.
- MacKusick VA. Mendelian Inheritance in Man: Catalog of Human Genes and Genetic Disorders, 12th Ed. Baltimore: Johns Hopkins University Press; 1998.

### **Capítulo 10**

- Verona RI, Mann MR, Bartolomei MS. Genomic imprinting: intricacies of epigenetic regulation in clusters. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2003;19:237-59.
- Hernández L, Kozlov S, Piras G, Stewart CL. Paternal and maternal genomes confer opposite effects on proliferation, cell-cycle length, senescence, and tumor formation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003 Nov 11;100(23):13344-9.
- Kotzot D. Complex and segmental uniparental disomy (UPD): review and lessons from rare chromosomal complements. *Med Genet* 2001 Aug;38(8):497-507.
- Strachan T, Read AP. Human Molecular Genetics. BIOS Scientific 2da ed. New York: Publishers Ltd; 1999.

### **Capítulo 11**

- Cardella L, Hernández R. Bioquímica Médica. Tomo IV. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 1999
- Rimon DL, Connor JM, Pyeritz RE, Korf BR, Emery and Rimoin's. Principles and Practice of Medical Genetics 4th Ed New York: Churchill Livingstone; 2002:3-36.
- Scriver CR, Beaudert AL, Sly WS, Valle D. The metabolic and molecular bases of Inherited Disease. 8th Ed. New York: Mc Graw-Hill, 2000.
- OMIM on line [Http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/).

## **Capítulo 12**

Orozco L. Biología molecular aplicada al estudio de las enfermedades hereditarias En: Carnevale A y Sanchez Torres G: Genética y Biología Molecular en Cardiología. México DF Sociedad Mexicana de Cardiología, 1993.p.87-104.

Mueller RF, Young ID. Genética Médica. 10ma ed. editorial Marban.

Thompson MW, McInnes RR, Willard HF. Genetics in Medicina 5th ed. W.B. Londres Saunders Company; 1991.

## **Capítulo 13**

Thompson,MW, McInnes RR, Willard HF. Genetics in Medicine 5th ed. Londres: eds WB Saunders Co; 1991:167-200.

Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Genetics in Medicine. 5th ed. Londres: WB Saunders Co; 2001:111 - 134.

Mueller RF, Young MD. Genética Médica 10ma ed ed. Marban Libros S.L; pags 2001:122-4.

## **Capítulo 14**

Vogel F, Motulsky V. Human Genetics. Problems and Approaches. New York: Springer -Verlag; 1979.

Rimon DL, Connor JM, Pyeritz RE, Korf BR. Emery and Rimoin´s. Principles and Practice of Medical Genetics 4 th Ed. New York: Churchill Livingstone, 2002:3-36.

## **Capítulo 15**

Falconer DS. Introducción a la Genética Cuantitativa 3ª impresión. México DF. Editorial Continental 1972.

Vogel F, Motulsky V. Human Genetics. Problems and Approaches. New York: Springer -Verlag. 1979

Nusshaum RL, McInnes RR, Willard HF, Willard HF. Genetics in Medicine. 6th ed. New York: W.B. Saunders Compay 2001.

## **Capítulo 16**

Adrian M, Owen RD, Genética General. Edgar RS 3ra. Ed. Barcelona: Ediciones Omega S:A; 1974.

Rimon DL, Connor JM, Pyeritz RE, Korf BR. Emery and Rimoin´s. Principles and Practice of Medical Genetics 4 th Ed. New York: Churchill Livingstone; 2002:3-36.

King RA , Rotter JI, MotulskiAG. The Genetics Basis Of Common Diseases. Oxford: University Press, Oxford; 1992.

## **Capítulo 17**

Rimon DL, Connor JM, Pyeritz RE, Korf BR. Emery and Rimoin´s. Principles and Practice of Medical Genetics 4 th Edition. New York: Churchill Livingstone; 2002:3-36.

Stevenson RE, May JG, Goodman RM. Human Malformations and Related Anomalies. Oxford: Oxford University Press. 1993.

Jones KL. Smith's Recognizable Patterns of Human Malformation. 5th Ed Montreal: W.S Saunders Company, 1997.

Larsen W. Embriología Humana. 2da. Edición. New York: Churchill Livingstone; 1997.

Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD. Molecular biology of the cell .3th ed. New York: Garland Publishing; Inc. 1999.

### **Capítulo 18**

Baker DL, Shuette JL, Uhlman WR. A guide to Genetic Counseling. Wiley - Liss; 1998.

Harper PS. Practical Genetic Counselling. 5th ed. Butterworth Heinemann; 1998.

Thompson MW, Mc Innes RR, Willard HF. Genética Médica. 4ta ed. MASSON; 1996.

Emery s Genética Médica. RF Mueller, ID Young. 10ª ed. MARBAN, 2001.

Penshaszadeh VP, Punhales-Morejon D. Dimensiones psicosociales de los problemas Genéticos. Curso patrocinado por la Sociedad Argentina de Pediatría; 2000.

Penchaszadeh VB. Bioética y Genética en América Latina. Braz J Genet 1997;20(1)163-70.

Report of WHO Meeting on Ethical Issues in Medical Genetics; 1997.

International Guidelines on Ethical Issues in Medical Genetics and Genetic Services. Report of a WHO Meeting; 1998.

Statements of the WHO Expert Consultation on New Developments in Human Genetics; 2000.