

## PRUEBAS GENÉTICAS EN ENFERMEDADES NEUROLÓGICAS: GUÍA PRÁCTICA

CLAUDIA ARBERAS

Sección Genética Médica, Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez, Buenos Aires, Argentina

**Dirección postal:** Claudia Arberas, Sección Genética Médica, Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez, Gallo 1330, 1425 Buenos Aires, Argentina

**E-mail:** carberas@gmail.com

### Resumen

Durante las últimas décadas la medicina genómica ha llevado al ámbito de la consulta médica los conocimientos de la genética molecular. Existe un número de estudios que contribuyen en el diagnóstico, la definición de pronósticos y posibilitan un asesoramiento genético basado en datos científicos certeros. En algunas enfermedades, los avances en la secuenciación genómica, ha promovido la reclasificación de entidades según un criterio etiológico, como las encefalopatías epilépticas, las ataxias, las distonías, entre muchas condiciones médicas. Su implementación requiere, por parte de los médicos, de estrategias tendientes a alcanzar el mejor rédito diagnóstico. Es necesario para ello, una mayor comprensión de las bases moleculares de estas prácticas, así como sus alcances. Permiten reducir los tiempos hasta la concreción de un diagnóstico de certeza y la posibilidad, en algunos casos, de mejorar la calidad de vida de los afectados con la utilización de tratamientos a la medida.

El objetivo de este artículo fue describir las técnicas de laboratorio actuales, sus alcances y enfatizar los algoritmos de estudio de las enfermedades genéticas, haciendo hincapié en aquellas propias de la neuropediatría, a fin de propiciar las buenas prácticas, evitando confusiones, errores, erogaciones innecesarias de dinero y acortando la llamada "odisea diagnóstica".

**Palabras clave:** medicina genómica, cariotipo de alta resolución, análisis cromosómico por matriz, secuenciación de nueva generación, exoma, genoma

### Abstract

*Genetic testing in neurological diseases: practical guide*

During the last decades, genomic medicine has made it possible to bring the knowledge of molecular genetics to the field of medical consultation. There are several studies that contribute to the diagnosis, the definition of prognoses, as well as the possibility of providing genetic counseling based on accurate scientific data. Advances in genomic sequencing have promoted the reclassification of entities according to an etiological criterion. Such is the case of epileptic encephalopathies, ataxias, dystonias, among many other neurological conditions. Its implementation requires strategies aimed at achieving the best diagnostic yield. This requires a greater understanding of the molecular bases of each of these practices, as well as their scope. They allow reducing the time until a certain diagnosis is made and the possibility, in some cases, of improving the quality of life of those affected with the use of tailored treatments.

The objective of this article was to describe current laboratory studies, their scope and emphasize the algorithms for the study of genetic diseases in general, focusing the attention on those specific to neuropediatrics, in order to promote good practices, avoiding confusion, errors, and unnecessary expenditures of money and shortening the so-called "diagnostic odyssey".

**Key words:** genomic medicine, high resolution karyotype, chromosomal microarray analysis, new generation sequence, exome, genome

El estudio de las enfermedades genéticas se ha visto interpelado en las últimas décadas por el crecimiento exponencial del conocimiento científico, así como en avances tecnológicos y bioinformáticos. Estos progresos modificaron profundamente la forma en la que hoy reconocemos a las enfermedades y sus diagnósticos<sup>1</sup>.

Actualmente, condiciones como encefalopatías epilépticas, enfermedades musculares, distonías, cuadros de retraso global del desarrollo asociados a fenotipos específicos, por citar algunos grupos nosológicos, se clasifican por etiologías provenientes de hallazgos moleculares de la secuenciación masiva de genes (NGS) y su aporte en la interpretación causal<sup>1</sup>.

Así han surgido enfermedades agrupadas en familias de defectos vinculados con reacciones químicas encadenadas, como las rasopatías, grupo de afecciones causadas por genes vinculados a la vía de señalización Ras/MAPK<sup>2</sup>.

Otro ejemplo serían las afecciones relacionadas al gen *MECP2*, o *MECP2*patías, donde originariamente se ubicaba al síndrome de Rett, cuyo espectro es ahora mucho más amplio y complejo<sup>3</sup>.

También surgieron entidades relacionadas con estructuras celulares como las cilias, agrupadas como ciliopatías<sup>4</sup>, que abarcan afecciones malformativas primarias en relación a la simetría corporal, como otras entidades tales como amaurosis congénita de Leber, distrofia torácica asfíxica, síndrome de Kartagener, de Alström, de Bardet-Biedl y de Joubert, entre otros.

En ocasiones vemos pacientes con afecciones genéticas, estudiados mediante pruebas sofisticadas y de alto costo, en busca de un diagnóstico, aún antes de contar con una correcta apreciación médica global, un diagnóstico presuntivo, o incluso sin haber agotado los métodos tradicionales de estudio que ofrece la clínica médica. Esto genera situaciones “inesperadas”, ya que no siempre los resultados son extrapolables a los hallazgos clínicos y se generan confusiones “evitables”. Justamente ante la falta de manejo de protocolos racionales que concluyan con un diagnóstico y con la devolución al paciente y/o su familia de resultados confiables, contemplando aspectos vinculados con abordajes terapéuticos, pronósticos posibles y asesoramiento genético integral, es necesario diseñar protocolos que eviten estas situaciones.

El objetivo de este artículo fue describir los estudios de laboratorio en uso en la actualidad, sus alcances y enfatizar los algoritmos de estudio de las enfermedades genéticas en general, haciendo especial hincapié en aquellas propias de la neuropediatría, que deben utilizarse a fin de propiciar las buenas prácticas, evitando confusiones y sobre todo errores, erogaciones innecesarias de dinero y acortando la llamada “odisea diagnóstica”.

Desde la perspectiva de la genética, la mayoría de las enfermedades que poseen componentes genéticos pueden dividirse en tres grupos:

1. Anomalías cromosómicas, en autosomas o cromosomas sexuales, por delección o duplicación de regiones, como los síndromes de Williams, velocardio-facial, cri du chat (5p-), Wolf-Hirschhorn (4p-); por adición de cromosomas enteros trisomía 21 (síndrome de Down), trisomía 13 (síndrome de Patau), trisomía 18 (síndrome de Edwards), 47,XXY (síndrome de Klinefelter) o 47,XYY, o por la falta de cromosomas sexuales como en la monosomía del X (síndrome de Turner)<sup>5</sup>.

2. Enfermedades monogénicas (mendelianas), con cambios en la secuencia de genes ubicados en autosomas o en el cromosoma X (mucopolisacaridosis, atrofia muscular espinal, Duchenne, etc.). Estas pueden ser debidas a modificaciones en la secuencia del ADN, por delecciones o inserciones de nucleótidos, por variantes debido a cambio de sentido (*missense*), corrimiento del marco de lectura, o por variantes sin sentido (*non-sense*).

3. Enfermedades complejas o multifactoriales, resultan de interacciones entre rasgos genéticos de predisposición con factores ambientales<sup>6</sup>.

Los avances en estudios moleculares abrieron nuevos horizontes, tanto en la neurología como en muchas especialidades médicas, promoviendo en algunas enfermedades tratamientos customizados, solo posibles mediante el conocimiento surgido de estudios de secuenciación genómica de última generación, llevando la biología molecular al consultorio, lo que hoy llamamos medicina traslacional o genómica<sup>7</sup>.

## Estudio de las alteraciones cromosómicas

Estas alteraciones son muchas veces “presu- midas” mediante la adecuada evaluación clínica. Por lo tanto, orientaremos el estudio a realizar conforme este diagnóstico<sup>8</sup>.

El estudio más común y utilizado es el cariotipo, que estudia células en el período de me-

tafase, donde hallaremos los cromosomas condensados y duplicados. Usualmente se usan linfocitos de sangre periférica, aunque es posible realizar cultivos de médula ósea, fibroblastos, amniocitos, corion vellosos, etc. Mediante este estudio se reconocen los cromosomas y su patrón de bandas permitiendo determinar su número y tamaño<sup>5</sup>.

A las técnicas de bandedo más usadas como G, R, C, NOR, que facilitan el reconocimiento de partes específicas de cada cromosoma, podemos incorporar otras técnicas como la: hibridación *in situ* fluorescente (FISH), que pone en evidencia regiones cromosómicas mediante el uso de sondas fluorescentes que reconocen regiones específicas del genoma, y otras pruebas con sonda dependiente de ligadura múltiple MLPA y MLPA sensible a la metilación MS-MLPA<sup>5</sup>.

Así podremos reconocer síndromes como velo-cardio-facial, Williams, Prader-Willi /Angelman, Smith-Magenis, Miller-Dieker, entre otros.

Mientras el estudio cromosómico de alta resolución (AR) (+de 500 bandas), posee un nivel de reconocimiento superior a 4-5 MB, la técnica de FISH puede distinguir deleciones o duplicaciones de 40-250 kb.

Hace una década contamos con el cariotipo molecular, o hibridación genómica comparativa por matriz (CGHArray), que detecta cambios en el número de copias (CNV) de segmentos de ADN en el genoma completo del individuo<sup>5</sup>.

Reconoce síndromes de microdelección o duplicación, habiendo incrementado el número de entidades reconocibles de causa cromosómica, que se presentan con retraso global de desarrollo (RGD), discapacidad intelectual (DI), dismorfias y diferente tipo de malformaciones mayores<sup>6,8</sup>.

El nivel de resolución es variable, en general reconoce defectos de 30-40 Kb, superando unas 1000 veces la resolución del cariotipo.

No resulta idóneo para el estudio de mosaicismos cromosómicos de bajo porcentaje o para translocaciones equilibradas que deben estudiarse con cariotipo de AR<sup>9</sup>.

### Estudio de las alteraciones génicas

El progreso del desarrollo de las técnicas de secuenciación de nueva generación (NGS) ha hecho posible reconocer información precisa, transformando la investigación biomédica y clínica,

promoviendo la toma de decisiones diagnósticas y terapéuticas<sup>1</sup>.

Desde el primer borrador del genoma humano en 2005, surgieron nuevos procedimientos que fueron reduciendo costos y tiempos de procesamiento. En paralelo, existen plataformas informáticas de consulta que ofrecen un patrón comparativo para interpretar los hallazgos, que se encuentran en permanente expansión. En el área médica contamos desde hace varios años con estos estudios de secuenciación: secuenciación exómica (WES) y secuenciación exómica clínica (CES). Se incluyen en las denominadas NGS, que permiten reconocer variantes patogénicas en todas las regiones exónicas del ADN, que constituye el 2% del material genético. Estas cubren gran parte del ADN responsable de afecciones mendelianas y se asigna un número de ingreso en el OMIM (CES), o aún más abarcativas como el WES<sup>3</sup>.

Siguiendo las consignas internacionales de buenas prácticas, es necesario el estudio del propósito y ambos padres (trío), a fin de poder categorizar los hallazgos de un modo correcto. Siempre los resultados del paciente se certifican mediante el método Sanger, siendo un método de elección certero y de muy bajo costo.

Esta técnica se usa en los estudios de segregación, a fin de proveer el asesoramiento genético familiar pertinente.

En algunas ocasiones frente a un paciente con orientación diagnóstica precisa podría realizarse únicamente Sanger en entidades causadas por cambios en un único gen, ahorrando costos y tiempo; de allí la importancia de la orientación clínica.

Basado en el estudio de exomas, podremos utilizar también una selección de genes, conformando paneles, que engloban todos aquellos genes reconocidos en la actualidad, potencialmente responsables de un cuadro clínico específico (Ej.: epilepsias, discapacidad intelectual (DI), autismo, genodermatosis, rasopatías, errores congénitos del metabolismo, etc.).

Estos no permiten descartar variantes en regiones con baja cobertura o presentes en otros genes (potencialmente asociados a la enfermedad), si no fueron incluidos en el panel elegido. Tampoco descarta la presencia de grandes deleciones o duplicaciones, o variantes en regiones promotoras o intrónicas alejadas de los exones.

Por último, contamos con la secuenciación del genoma completo (WGS), que cubre la totalidad del material genético, en regiones exónicas y no exónicas, cuyo procesamiento permite reconocer genes nuevos y variantes en promotores y regiones regulatorias e intrónicas, entre otras.

Los estudios basados en técnicas moleculares arrojan resultados variables, conforme a las enfermedades estudiadas. Mientras ciertas afecciones suelen tener un rédito diagnóstico muy alto, como las displasias esqueléticas o las de la retina, otras no poseen igual suerte. El análisis de los resultados y su interpretación requiere de profesionales altamente calificados<sup>3</sup>.

En la confección de los informes se deben respetar las normas internacionales en vigencia, debiendo consignarse sobre el genoma de referencia sobre el cual se establece esta clasificación y en concordancia a los resultados arrojados en las bases de datos ya enunciadas<sup>10</sup>.

Los resultados se encuadran bajo estas categorías: 1. Patogénica, 2. Probablemente patogénica, 3. Benigna, 4. Probablemente benigna y 5. Variantes de significado incierto (VUS). Cada una de las variantes benignas y patogénicas presentan diversas subclasificaciones conforme a las características de las variables.

### Protocolo de estudio de las enfermedades monogénicas

Permiten ordenar los pasos a seguir con una lógica basada en principios científicos y prácticos.

El primer paso es la confección de una historia clínica genética, semejante a la historia médica tradicional, que cuenta con un interrogatorio exhaustivo de antecedentes pre y posnatales, edades de los progenitores al nacimiento, hábitos o estilos de vida, estado de salud o enfermedad física y/o psíquica, logros académicos, eventual exposición a potenciales teratógenos.

Los antecedentes familiares se incluyen en una genealogía detallada de tres generaciones, haciendo hincapié en consanguinidad, homonimia, etnia, antecedentes de salud física, mental y *performance* intelectual de los familiares de 1er y 2º grado, incluyendo desarrollo neuromadurativo, cuadros psiquiátricos, antecedentes de consumo de sustancias, suicidio, etc.

El examen físico incluirá una descripción pormenorizada de reparos anatómicos, que permi-

ten definir una entidad específica. En aquellos parámetros antropométricos como talla, peso, perímetro cefálico, distancia entre ojos, tamaño, forma y ubicación de los pabellones auriculares, etc., se realizará una comparación con los valores de los mismos según edad y sexo, disponibles en tablas de población general<sup>3</sup>. Culminada esta etapa, se establece un diagnóstico presuntivo (DP) y diagnósticos diferenciales, que serán la clave para definir los estudios que deben encararse. En esta etapa se elabora una ficha completa con toda la información médica y estudios de laboratorio o imágenes realizados, incluyendo los datos aportados por todos aquellos profesionales que intervinieron en la evaluación. Se suelen asignar a cada rasgo una denominación tabulada numéricamente, denominada ontología del fenotipo humano o su sigla en inglés HPO (*Human Phenotype Ontology*), de uso universal, que favorece a la unificación de parámetros tanto clínicos, dismorfológicos, funcionales, etc.

El HPO provee un vocabulario estandarizado de posibles anormalidades encontradas en las enfermedades humanas<sup>6</sup>.

Respecto a los estudios a efectuar, el menú de opciones es cada vez más extenso y los resultados de las pruebas alcanzan mejores niveles de precisión, conforme avanzamos en el conocimiento de las variantes en la población “normal o típica” y los datos patogénicos presentes en bases de datos como OMIM, Orphanet, ClinVar, ClinGen, UniProt, GnomAD, dbSNP, ExAC, HGMD, COSMIC, GWAS, DECIPHER, Franklin, 1000 genome, Project, UK Biobank, entre muchas otras de libre acceso o por suscripción<sup>6</sup>.

Entre los estudios disponibles, ya descritos *ut supra*, están: a) Cariotipo de alta resolución, b) Hibridación fluorescente *in situ* (FISH), MLPA y MS-MLPA, c) Análisis de microarray cromosómico (CMA/CGHa) que constituye actualmente el primer estudio de elección para el reconocimiento de defectos cromosómicos en individuos con autismo, DI, retraso global del desarrollo (RGD), con un índice de rédito diagnóstico cercano al 20%, pudiendo ser superior en aquellos pacientes que presentan dismorfias y/o epilepsia, d) Estudio molecular para fragilidad del X, que escapa, al igual que otros síndromes de ampliación progresiva de tripletes, a los estudios moleculares citados y e) Secuenciación exómica (WES)<sup>3</sup>.

Por último, debe citarse la WGS, que cubre la totalidad del material genético, tanto en regiones exónicas como no exónicas, cuyo procesamiento permite reconocer genes nuevos y variantes en promotores y regiones regulatorias e intrónicas, entre otras<sup>11</sup>.

Aun mediando las mejores condiciones, en un porcentaje de pacientes queda sin identificarse su etiología. Es conveniente que se explicita a los padres esta perspectiva, con el objeto de evitar falsas expectativas. En estos casos deberemos informar al estudio como “no informativo”.

## Conclusiones

Establecer el diagnóstico de una enfermedad genética ha sido un desafío durante décadas, el uso de nuevas técnicas como la NGS ha superado estos obstáculos, ofreciendo mayor sensibilidad y aumentando la probabilidad de diagnóstico preciso de enfermedades raras, incluida la detección de diferentes variantes genéticas.

Estos diagnósticos de certeza abren nuevos caminos en la comprensión de la patogenia de enfermedades comunes, como aquellas de baja ocurrencia; ha posibilitado la incorporación y conocimiento de nuevas entidades y crea las bases necesarias para posibles intentos terapéuticos, sustentados sobre bases biológicas,

que generan expectativas alentadoras de cara al futuro<sup>5</sup>.

En los últimos años, los avances exponenciales en la secuenciación, la accesibilidad y la disminución de costes han propiciado el inicio de proyectos a gran escala en medicina personalizada e investigación biomédica traslacional de genómica clínica<sup>12</sup>.

Para alcanzar su máximo potencial, necesitamos ampliar la inversión en ciencias básicas e investigación. La NGS y la edición del genoma ya han producido avances importantes, pero aún queda mucho por hacer en la identificación de cada gen, la función de sus variantes y su papel en el desarrollo de enfermedades<sup>1</sup>.

La NGS enfrenta múltiples obstáculos, como el entorno del laboratorio clínico, el almacenamiento seguro de grandes cantidades de datos generados y la necesidad de validación de plataformas de prueba en poblaciones amplias. Otros desafíos incluyen mejorar el tiempo de entrega de los resultados y la necesidad de educar a los médicos para analizar los datos de manera efectiva y precisa.

En los centros especializados, estas cuestiones pueden zanjarse con protocolos específicos, incluyendo reuniones multidisciplinarias, involucrando a genetistas, neurólogos, epileptólogos, neurofisiólogos, neuropsicólogos, neurorradiólogos, entre otros.

---

**Conflicto de intereses:** Ninguno para declarar

## Bibliografía

- Ishida C, Zubair M, Gupta V. Molecular Genetics Testing. 2023. In: Stat Pearls [Internet]. Treasure Island (FL): Stat Pearls Publishing; 2024. En: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560712/>; consultado junio 2024.
- Rauen KA. The RASopathias. *Ann Rev Genomics Hum Genet* 2013; 14: 355-69.
- Heilstedt H, Shabbazian M, Lee B. Infantil hypotonia as a presentation of Rett syndrome. *Am J Med Genet* 2002, 111; 3: 238-42.
- Ross AJ, May-Simera H, Eichers ER, et al. Disruption of Bardet-Biedl syndrome ciliary proteins perturbs planar cell polarity in vertebrates. *Nature Genet* 2005, 37: 1135-40.
- Wan TSK, Hui EKC, Ng MHL. Chromosome recognition. *Methods Mol Biol* 2017; 1541: 67-74.
- van Rheenen W, Peyrot WJ, Schork AJ, Lee SH, Wray NR. Genetic correlations of polygenic disease traits: from theory to practice. *Nat Rev Genet* 2019; 20:567-81.
- Rehm H, Bale S, Bayrak-Toydemir P, et al. ACMG clinical laboratory standards for next generation sequencing. *Genet Med* 2013, 15: 733-47.
- Ruggieri VL, Arberas CL. Autismo: Importancia de la dismorfología en la identificación de entidades médicas asociadas. *Rev Neurol* 2017; 64: S27-31.
- Arberas C. Genética de los trastornos del neurodesarrollo. Aspectos prácticos. *Medicina (B Aires)* 2022; 82 (Suppl 3): 25-9.
- Walsh N, Cooper A, Dockery A, O'Byrne J. Variant reclassification and clinical implications. *J Med Genet* 2024; 61: 207-11.
- Zarrei M, Burton CL, Engchuan W, et al. A large data resource of genomic copy number variation across neurodevelopmental disorders. *NPJ Genom Med* 2019; 4:26.
- Dugger SA, Platt A, Goldstein DB. Drug development in the era of precision medicine. *Nat Rev Drug Discov* 2018; 17: 183-96.