



CRITERIOS PARA LA SOLICITUD DE ESTUDIOS GENÉTICOS EN ENFERMEDADES HEREDITARIAS.

Josep Oriola Ambrós.

Servei de Bioquímica i Genètica Molecular. CDB. Hospital Clínic. Barcelona.

Departament de Ciències Fisiològiques I. Facultat de Medicina. Universitat de Barcelona.

INTRODUCCIÓN

Cada año hay mas enfermedades hereditarias (mayoritariamente monogénicas) de las que se conocen las causas genéticas. Además, también se van encontrando variantes genéticas asociadas a determinadas enfermedades o que se pueden utilizar como valor predictivo (ej: farmacogenética). Es por ello que el número de peticiones para realizar estudios genéticos aumenta día a día así como su diversidad.

Estos avances también tienen su vertiente negativa ya que pueden propiciar que cada vez se pidan más estudios genéticos, a menudo sin utilizar criterios diagnósticos apropiados o simplemente por la misma presión de los pacientes que lo solicitan. Entonces, lo mas probable es que no encontremos ninguna mutación causante de la enfermedad, indicando que, o no eran necesarios o que la persona estudiada no era la mas adecuada dentro del contexto familiar, lo que conlleva gasto de tiempo y dinero. Además, como las metodologías se van simplificando, se pueden realizar de una forma cada vez más rápida y con un menor coste económico, surge la tendencia de que un laboratorio ofrezca el estudio genético de casi cualquier enfermedad hereditaria sin poner especial cuidado en la interpretación de los resultados sino más bien como una mera validación técnica. Es por todo ello que los estudios genéticos deben racionalizarse en aras a aumentar la eficacia de estos diagnósticos y los informes deben incluir la interpretación de los hallazgos genéticos con la finalidad de poder ofrecer un asesoramiento genético adecuado en cada miembro de la familia afectada.

¿CUANDO DEBE SOLICITARSE UN ESTUDIO GENÉTICO?

Para saber si se debe realizar un estudio genético o no, deben consultarse las guías diagnósticas que haya para la enfermedad que se quiere estudiar y al mismo tiempo consultar la literatura reciente. De esta forma se obtiene la máxima eficacia solicitud-análisis-resultado-paciente. Pero no siempre está claro, como por ejemplo: a) mujer diagnosticada de cáncer de mama a los 48 años con el antecedente familiar de que su madre fue diagnosticada también de cáncer de

mama a los 58 años, ¿debe realizarse un estudio genético de los genes *BRCA1* y *BRCA2*?, b) mujer de 48 años con un prolactinoma, ¿debe realizarse un estudio del gen *MEN1*?, c) mujer de 25 años con hirsutismo, una 17-hidroxiprogesterona basal de 350ng/dl y post-estímulo con ACTH, de 1.000ng/dl, ¿debe realizarse un estudio genético de Hiperplasia Suprarenal Congénita por déficit de 21-hidroxilasa?. En estos casos, una evaluación conjunta entre el médico que solicita el análisis y el facultativo del laboratorio que lo realiza, puede ser de gran ayuda.

CRITERIOS A TENER EN CUENTA ANTES DE SOLICITAR UN ESTUDIO GENÉTICO

La historia clínica, el examen físico y los antecedentes familiares son en este contexto especialmente relevantes. En la historia clínica y el examen físico deben tenerse en cuenta la presencia de patologías que a primera vista pueden no parecer relacionadas con la enfermedad por la que se consulta (ej: diabetes y quistes renales, alteraciones en la visión y feocromocitoma, cáncer de colon y de útero en dos familiares de primer grado, etc). En los antecedentes familiares, no se debe limitar el cuestionario a la enfermedad por la que se consulta y tampoco se deben dar por supuesto transmisiones hereditarias (ej: los hombres también pueden ser transmisores de mutaciones que dan lugar al cáncer de mama hereditario). En los casos de enfermedades recesivas, sobretudo las raras, se ha de valorar por la posibilidad de consanguinidad (ej: primos-hermanos), o si pertenecen a un determinado grupo étnico, situación que cada vez es mas frecuente.

Para valorar si debe realizarse un estudio genético, puede ser necesario primero la evaluación de datos bioquímicos, de imagen y/o anatomopatológicos que nos puedan ayudar a definir el gen o genes a estudiar. Veamos los puntos más importantes a tener en cuenta antes de pedir y a quién, un estudio genético.

Edad al diagnóstico: Es importante recordar que cuanto mas joven aparece una enfermedad en un paciente, más probable es que sea hereditaria. Así pues, la persona a la que debe realizarse el estudio genético ha de ser la que presentó la patología a edad más precoz. Es decir, si en una familia con cáncer de mama hay dos casos con edades al diagnóstico de 40 y 50 años, escogeremos para el estudio genético a la persona que se le diagnosticó a los 40 años.

Multifocalidad y/o bilateralidad: Si en una glándula hay múltiples focos (ej: carcinoma medular de tiroides) o la afectación es bilateral (ej: cáncer de mama bilateral, adenomas en ambas adrenales), también es altamente sospechoso de ser hereditario.

Contexto sindrómico: A menudo las enfermedades hereditarias son sindrómicas. Esto es, presentan diferentes alteraciones que si fuese simplemente por azar, raramente se presentarían juntas, más aún cuando se trata de patologías infrecuentes (ej: somatotropinoma y hiperparatiroidismo primario en el MEN1, o la presencia de cáncer de mama y ovario en la misma persona). En este contexto es necesario resaltar la importancia que tiene la relación entre diferentes Servicios ya que muchas veces con la información de uno sólo no se podría llegar al diagnóstico o quizás se realizaría demasiado tarde.

Posibilidad de Fenocopias: Cuando en un mismo paciente o en una misma familia nos encontramos con dos o más patologías que pueden formar parte de una síndrome, debe valorarse si puede ser simplemente por azar, sobretodo si alguna de las patologías es bastante frecuente (ej: cáncer de mama) o no. También puede ocurrir que se presenten dos patologías infrecuentes por casualidad en un mismo individuo y que su presencia nos haga pensar en otra síndrome (ej: paciente con Hiperparatiroidismo primario y tumor neuroendocrino pensaremos en un contexto de MEN1, cuando podría ser que el tumor neuroendocrino fuese esporádico y se tratase en realidad de un caso de Hipercalcemia hipocalciuria familiar).

Bioquímica, Anatomía Patológica, Técnicas de Imagen: Según la enfermedad que estudiemos es posible que necesitemos realizar previamente un estudio bioquímico, especialmente en los casos en los que puede haber una ruta bioquímica (ej: eje hipotálamo-hipofisario en estudios de retraso de crecimiento). Muchas enfermedades metabólicas hereditarias se diagnostican a través de la valoración de metabolitos intermediarios y sólo después puede realizarse el estudio genético. Estos estudios previos nos permite descartar diferentes genes y así nos podemos concentrar en el estudio de uno o pocos gen/es candidatos. En otros casos el resultado anatomopatológico es fundamental (ej: en un cáncer de tiroides si es un medular o no; la inmunohistoquímica de diferentes proteínas como MLH1, MSH2, etc, en el contexto de un posible cáncer de colon no polipósico hereditario). Las técnicas de imagen también son de gran ayuda sobretodo en la localización de la alteración (ej: feocromocitoma adrenal vs paraganglioma).

CARACTERÍSTICAS DE LOS ESTUDIOS GENÉTICOS: ASPECTOS COMUNES Y DIFERENCIALES

En toda solicitud de estudio genético deben constar el nombre y los dos apellidos de la persona a estudiar, la fecha de nacimiento (es importante pues hay apellidos muy comunes), el sexo, el motivo de la solicitud (una breve descripción clínica), el estudio genético que se propone, el médico que solicita el estudio, así como el Servicio y el Hospital de procedencia, pues como los estudios genéticos no se realizan en todos los hospitales, es frecuente que sean externos. La solicitud debe acompañarse de un consentimiento informado.

La mayoría de estudios genéticos se realizan en sangre. No se necesitan condiciones especiales de conservación de la muestra. En general son necesarios unos 2-5ml de sangre total recogida en EDTA-K (tubo de hemograma) y se puede enviar a temperatura ambiente sin ningún problema aunque el viaje dure 2-3 días.

El DNA se extrae de los leucocitos. Existen multitud de productos comerciales para aislar el DNA a partir de diferentes muestras biológicas. Una vez obtenido el DNA, su estudio depende de las alteraciones genéticas que presente el gen que queramos estudiar. Para el estudio de mutaciones puntuales se utiliza la PCR y generalmente a continuación se secuencian. Si se quieren detectar deleciones o duplicaciones de centenares o miles de nucleótidos, se utilizan

métodos como la PCR cuantitativa, el MLPA (Multiplex ligation-dependent probe amplification) o el Southern. Para enfermedades en las que hay expansión de tripletes puede utilizarse el Southern o la TP-PCR (Tripled repeat primed PCR).

Ya se utilizan cada vez más las nuevas metodologías de análisis genético como la secuenciación masiva (Next Generation Sequencing) y con fines más aplicados al diagnóstico empiezan a aparecer productos comerciales que buscan un punto intermedio, es decir, paneles que permiten el estudio de varios genes a la vez o de genes con muchos exones (ej: BRCA1 y 2, cáncer de colon hereditario).

Los análisis genéticos de enfermedades hereditarias se diferencian mayoritariamente de los análisis bioquímicos (con pocas excepciones) en que: 1) los resultados son cualitativos, es decir, se observa la alteración genética en heterocigosis u homocigosis o no se observa, 2) los análisis genéticos no se repiten ya que su resultado no va a modificarse, 3) la detección de la alteración genética es diagnóstica de la enfermedad, pero no al revés pues los métodos no detectan el 100% de las mutaciones, 4) si se detecta la alteración genética, este resultado tiene implicación en el resto de la familia.

De lo anterior se desprende que cualquier error en las muestras tiene graves consecuencias. Por ejemplo, en un estudio familiar, un intercambio de muestras puede implicar que una persona con alteración genética se valore como no portadora y viceversa. La gravedad de este error es evidente. Además, este error repercutirá en el resto de la familia pues serán estudiados miembros de la familia que no deberían ser estudiados y viceversa.

RESULTADOS DE LOS ESTUDIOS GENÉTICOS: DIAGNÓSTICO, PRONÓSTICO Y PREDICTIVO.

Los estudios genéticos permiten muchas veces confirmar la enfermedad que sospechábamos (diagnóstico). En el caso de no detectarse ninguna alteración genética en el gen o genes estudiado/s deben sopesarse diferentes posibilidades: a) ¿qué porcentaje de mutaciones cubre el estudio realizado? (ej: ¿se han estudiado posibles deleciones, la región promotora?); b) ¿se han estudiado todos los genes que se conocen implicados en la patología que estamos estudiando?; c) reevaluar el caso para ver si puede tratarse de otra enfermedad hereditaria o no.

Si hemos detectado la alteración genética en el caso afecto, podemos informar sobre la evolución de la enfermedad (pronóstico) y la posibilidad de que este paciente desarrolle otras alteraciones asociadas al síndrome, por lo que su médico debe realizar un seguimiento ante esta posibilidad. A continuación deben estudiarse los parientes de primer grado: padres, hermanos e hijos. Si la enfermedad es dominante, una vez se detecte la alteración en uno de los dos padres, se seguirá su estudio por la rama familiar de la que proceda la alteración genética. Si es recesiva, deberán estudiarse las dos ramas paterna y materna. Si es recesiva ligada al X, se estudiará a la madre, la abuela materna, hermanas e hijas. En todos los casos puede

informarse del riesgo de recurrencia. En los familiares asintomáticos en los que se detecte la mutación (o las dos mutaciones en las recesivas) se les debe informar del riesgo que tienen de desarrollar la enfermedad en función de la penetrancia (predictivo) y también de la posibilidad de realizar un estudio prenatal en caso de embarazo.

Por último debemos contemplar la posibilidad de que en el análisis encontremos un cambio genético pero que no quede claro si es el causante de la enfermedad. Es lo que llamamos una variante de significado incierto. En estos casos, en la práctica es como si no hubiésemos encontrado nada ya que no podemos utilizar este cambio para dar un diagnóstico, un pronóstico o un estudio predictivo en los familiares.

CONTROL DE CALIDAD EN LOS ESTUDIOS GENETICOS

Tal como se señalaba al principio, dada la facilidad de realizar técnicamente la mayoría de estudios genéticos, uno de los problemas que puede aparecer es que haya laboratorios que oferten cualquier tipo de estudio genético.

En un informe genético hay esencialmente dos partes: una es la descripción de la alteración genética y la otra es la interpretación del resultado. La descripción de la alteración genética debe escribirse según la nomenclatura de la HGVS (Human Genome Variation Society). Hasta hace poco no había unas normas definidas de cómo describir a una alteración genética y esto podía dar lugar a equívocos. Por ello se tiene que tener especial cuidado cuando se consultan listados de alteraciones genéticas publicadas anteriormente a esta nomenclatura pues mutaciones que podemos pensar que no están descritas, realmente lo estén pero escritas en otro formato. También se debe prestar atención cuando se buscan alteraciones genéticas en familiares de un caso índice en el que el informe está descrito en una nomenclatura diferente a la de la HGVS.

El otro punto importante es la interpretación del resultado. El significado del resultado debe estar presente en cualquier estudio genético, se haya o no encontrado alteración genética. Para poder realizar la interpretación a menudo tienen que consultarse bases de datos como por ejemplo las de HGMD (Human Gene Mutation Database) o las de LOVD (Leiden Open Variation Database), además de realizar una búsqueda de publicaciones recientes por si hubiese mas información de la mutación encontrada (nuevas asociaciones genotipo-fenotipo). Esto quiere decir que el facultativo que realiza el informe debe tener revisada la literatura reciente y esto implica que no puede estar al día de muchas y diferentes enfermedades hereditarias a la vez. Tiene que haber necesariamente una especialización o al menos un área de conocimientos por facultativo.

Por todo ello, lo correcto es participar en controles externos como puede ser el EMQN (European Molecular Genetics Quality Network), para comprobar si uno realiza correctamente los análisis y las interpretaciones de los resultados, y los médicos deben pedir a los centros

donde realizan estudios genéticos la participación en estos controles externos como forma de garantía de calidad.

BIBLIOGRAFIA

Berwouts S, Fanning K, Morris MA, Barton DE, Dequeker E. Quality assurance practices in Europe: a survey of molecular genetic testing laboratories. *Eur J Hum Genet.* 2012;20:1118-26.

Feliubadaló L, Lopez-Doriga A, Castellsagué E, Del Valle J, Menéndez M, Tornero E, Montes E, Cuesta R, Gómez C, Campos O, Pineda M, González S, Moreno V, Brunet J, Blanco I, Serra E, Capellá G, Lázaro C. Next-generation sequencing meets genetic diagnostics: development of a comprehensive workflow for the analysis of BRCA1 and BRCA2 genes. *Eur J Hum Genet.* 2012. Epub ahead of print] PubMed PMID: 23249957.

Goodall R. Molecular testing in biochemistry laboratories-the quality issues. 2005. *Clinical Laboratory International* may issue.pp10-13

Guttmacher AE, Collins FS, Carmona RH. The family history--more important than ever. *N Engl J Med.* 2004;351:2333-6.

Hastings RJ, Howell RT. The importance and value of EQA for diagnostic genetic laboratories. *J Community Genet.* 2010;1:11-7.

Khoury MJ, McCabe LL, McCabe ER. Population screening in the age of genomic medicine. *N Engl J Med.* 2003;348:50-8.

Perera M. Warfarin: a case for pharmacogenomics testing. 2012. *Clinical Laboratory International* November issue.pp20-22.

Severin F, Schmidtke J, Mühlbacher A, Rogowski WH. Eliciting preferences for priority setting in genetic testing: a pilot study comparing best-worst scaling and discrete-choice experiments. *Eur J Hum Genet.* 2013. Epub ahead of print. PubMed PMID: 23486538.

Turner JJ, Christie PT, Pearce SH, Turnpenny PD, Thakker RV. Diagnostic challenges due to phenocopies: lessons from Multiple Endocrine Neoplasia type1 (MEN1). *Hum Mutat.* 2010;31:E1089-101

Páginas web:

HGVS (Human Genome Variation Society). Nomenclature:

<http://www.hgvs.org/mutnomen/>

Normas para la correcta descripción de las mutaciones.

HGMD (Human Gene Mutation Database):

<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>

Base de mutaciones de diferentes genes.

EMQN (European Molecular Genetics Quality Network):

<http://www.emqn.org/emqn/>

Organización que promueve la mejora de la calidad de los tests genéticos. Control externo.

**EDUCACIÓN CONTINUADA EN EL LABORATORIO CLÍNICO
COMITÉ DE EDUCACIÓN**

M. Rodríguez (*presidente*), D. Balsells, R. Deulofeu, M. Gassó, J.A. Lillo, A. Merino, A. Moreno, MC. Villà

ISSN 1887-6463 – Abril 2014 (recibido para publicación mayo 2013)