

19 DE OCTUBRE DE 09

## Surge diagnóstico de secuenciación de genes de pacientes

Por primera vez, científicos han diagnosticado una enfermedad genética secuenciando completamente todos los genes de un paciente. Usando secuenciación de ADN de alto rendimiento, investigadores del Instituto Médico Howard Hughes (HHMI) identificaron una mutación génica que es responsable de la enfermedad del paciente, pero que no se sospechaba en base a observaciones clínicas.

Comenzando con ADN de una muestra de sangre del paciente –un infante de Turquía que se deshidratada persistentemente y que no podía ganar peso– el equipo encontró en 10 días una mutación génica que se sabe afecta el transporte de electrolitos en los intestinos y causa una condición llamada diarrea de cloruro congénita. Los médicos en Turquía confirmaron el diagnóstico clínicamente y pudieron proporcionar un tratamiento adaptado a la enfermedad.

En vez de buscar la mutación causante de la enfermedad en los 3 mil millones de pares de bases del genoma, el equipo, conducido por el investigador del HHMI Richard Lifton en la Facultad de Medicina de Yale, centró su atención sólo en la fracción pequeña de ADN que codifica para proteínas. El éxito demuestra que esta estrategia es una forma viable y eficiente de diagnosticar enfermedades genéticas.

---

"En lugar de secuenciar decenas, centenas o millares de genes para intentar encontrar una mutación, ahora podemos secuenciar todos los genes y de darle sentido clínico a los datos resultantes."

- Richard P. Lifton

---

“Pienso que en los años que vienen vamos a ver un aumento dramático del uso de esta clase de tecnología”, dice Lifton. “Ésta será una tecnología muy poderosa para el descubrimiento de genes de enfermedades y para el uso

clínico”. Lifton y sus colegas publicaron el método y diagnóstico en una publicación adelantada en Internet de *Proceedings of the National Academy of Sciences* el 19 de octubre de 2009.

“Éste es el primer paso en lo que pienso será una era importante de diagnóstico molecular”, observó. “Hasta ahora hemos estado conjeturando qué genes podrían haber mutado y secuenciando selectivamente un puñado de genes para intentar encontrar una mutación. Este artículo demuestra una nueva forma de capturar, aparentemente, todos los genes. En lugar de secuenciar decenas, centenas o millares de genes para intentar encontrar una mutación, ahora podemos secuenciar todos los genes y de darle sentido clínico a los datos resultantes”.

Sólo cerca de un uno por ciento del genoma humano sirve como modelo para la producción de proteínas. Las mutaciones en estas regiones que codifican para proteínas pueden alterar la función de una proteína o evitar que sea hecha –a menudo con efectos significativos en la salud–. Por este motivo, el 85 por ciento de las mutaciones que se saben tienen efectos clínicos importantes se esconden en esta pequeña parte del genoma. El restante 99 por ciento del genoma humano contiene información valiosa – como por ejemplo cuándo y dónde se deben activar los genes– y errores en las regiones que “no codifican” también pueden ser problemáticas. Pero para buscar una mutación desconocida causante de enfermedad, Lifton y sus colegas pensaron que tendría más sentido comenzar con el uno por ciento de ADN donde es más probable que ocurran esas mutaciones.

Esa porción del genoma que codifica para proteínas también es conocida como “exoma”, porque los segmentos de ADN que codifican para proteínas se llaman exones. Durante los últimos seis meses, Lifton y Murim Choi, que es estudiante postdoctoral en su laboratorio, han estado desarrollando un método para secuenciar al exoma de forma completa y exacta.

El primer paso de su metodología consiste en separar el exoma de las cantidades extensas de ADN que no codifican para proteínas. Para lograr esto, el equipo emplea un chip de microarreglo que tiene en su superficie 180.000 piezas cortas de ADN –pedazos de regiones que codifican 18.673 genes humanos–. Cuando una muestra de ADN se aplica al chip, las regiones que codifican para proteínas se aparean con sus segmentos correspondientes y se adhieren. Los investigadores pueden eliminar el ADN que no está adherido y después cortar del chip las regiones que codifican y recogerlas para realizar análisis adicionales. Una vez que se ha recogido el ADN que codifica para proteínas, el siguiente paso es secuenciarlo. La tecnología de secuenciación actual permite hacer esto rápida y eficientemente, dice Lifton.

Una vez que Lifton y sus colegas estuvieron seguros que su método era preciso y lo suficientemente sensible como para encontrar mutaciones ocultas en los 34 millones de pares de bases que componen un exoma completo, centraron su atención al paciente referido al laboratorio con un trastorno sin diagnóstico. Los médicos sospechaban que era una rara enfermedad llamada

síndrome de Bartter, que afecta al riñón –pero el equipo de Lifton quería determinar si la genética confirmaba su sospecha–. “Era una oportunidad para probar nuestra técnica en un caso donde no conocíamos cuál era la respuesta”, dice Lifton.

Con el uso de una muestra de sangre del paciente, el colega de Lifton y Choi que se encuentra en Yale, Shrikant Mane, secuenció el exoma. A unas pocas horas de recibir los datos de secuenciación, Choi encontró las mutaciones que causaban diarrea de cloruro congénita y eran responsables de los síntomas del paciente.

“Existía preocupación de que [esta estrategia de secuenciación] sea tan complicada y genere datos que serían tan difíciles de manejar que no se podría hacer esto sin un equipo de una docena de personas especializadas en informática. Éste no es realmente el caso”, observa Lifton. “Esto es en realidad bastante directo de realizar e interpretar”.

Además, hace notar que porque el costo de secuenciación de ADN ha bajado dramáticamente en los últimos diez años, la secuenciación del exoma es actualmente muy accesible en un contexto de investigación. Lifton dice que será importante continuar bajando el costo para que el método pueda tener un amplio uso clínico. “Quisiéramos ver que el costo baje rápidamente hasta un punto en que ni se parpadee para hacerse la prueba”, dice. “El costo para hacerse una prueba hoy sería de un par de miles de dólares, pero pensamos que el costo va a caer precipitadamente en los próximos cinco años y llegaremos a un momento en el que se considere una prueba clínica de rutina”.

Fuera del uso clínico, Lifton dice que la secuenciación del genoma ofrece medios para acelerar el descubrimiento de genes de enfermedades, particularmente en casos donde las mutaciones genéticas no provienen de los padres. “En genética, ahora somos bastante buenos para encontrar mutaciones donde somos capaces de establecer claramente la localización de un gen que causa una enfermedad porque está presente en muchos miembros de una familia, pero no hemos tenido un buen método para encontrar mutaciones que se presenten por primera vez en un niño afectado de padres que no están afectados”, dice. “La capacidad de secuenciar todos los genes permitirá que se encuentren estas nuevas mutaciones y se las relacione con las enfermedades. Anticipamos que esto será importante en una gama de enfermedades tales como el autismo y las enfermedades cardíacas congénitas”.