

# Fronteras actuales de la genética humana

## I. Introducción

FABIO SALAMANCA GOMEZ\*

El desarrollo de la genética humana en los últimos años ha sido impresionante. Se reconocen actualmente cerca de 5,000 padecimientos con patrón de herencia mendeliana simple<sup>1</sup> y aproximadamente 500 síndromes de etiología cromosómica.<sup>2</sup> El estudio de los factores genéticos y cromosómicos involucrados en el fenómeno de la transformación neoplásica ha dado por resultado que las alteraciones citogenéticas sean de enorme utilidad en el diagnóstico y el pronóstico de las leucemias y los tumores sólidos<sup>3</sup> y ha desembocado en el descubrimiento de los oncogenes y los antioncogenes o genes supresores.<sup>4</sup>

Por otra parte, la prevención de las enfermedades hereditarias se ha ampliado en forma notable al ser posible el diagnóstico de los portadores de genes autosómicos recesivos,<sup>5</sup> de las portadoras de genes ligados al cromosoma X,<sup>6</sup> y el diagnóstico prenatal de las aberraciones cromosómicas, los errores innatos del metabolismo y las malformaciones congénitas de etiología poligénica o multifactorial, principalmente los defectos del cierre del tubo neural.<sup>7</sup> Todos estos desarrollos han abierto un promisorio panorama para la prevención y el tratamiento de las enfermedades de índole genética.

Estos logros han sido en gran medida debidos al portentoso desarrollo de las técnicas de ingeniería genética,<sup>8</sup> recientemente enriquecidas con el advenimiento de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (RCP),<sup>9</sup> que permite la amplificación enzimática de segmentos específicos del ADN y por lo mismo la obtención de millones de copias del segmento génico en un tiempo relativamente breve.

Mediante estos avances se ha superado la cifra de 2000 genes localizados en los cromosomas humanos, algunos de ellos han sido aislados y clonados, se han iniciado proyectos de terapia mediante manipulación génica o cromosómica y está en marcha el proceso más ambicioso de toda la historia de la investigación biomédica: la secuenciación de los 3000 millones de bases nitrogenadas que constituyen nuestro patrimonio genético.<sup>10</sup>

Dentro de las localizaciones cromosómicas destacan por su interés e importancia, la de la mucoviscidosis o fibrosis quística del páncreas en el cromosoma 4,<sup>11</sup> la del gen de la Corea de Huntington en el cromosoma 4,<sup>12</sup> un gen responsable de esquizofrenia en el cromosoma 5,<sup>13</sup> otro de psicosis maniaco depresiva en el cromosoma 11,<sup>14</sup> el de la neurofibromatosis en el cromosoma 17<sup>15</sup> y el de la enfermedad de Alzheimer en el cromosoma 21.<sup>16</sup> Esto ha permitido el diagnóstico prenatal, por técnicas del ADN recombinante, de numerosas entidades (Cuadro I), siendo posible incluso diagnosticar *in utero* padecimientos que se manifiestan en forma tardía en el adulto, tales como la Corea de Huntington, la distrofia miotónica y el riñón poliquistico. También se ha logrado identificar a sujetos susceptibles a presentar ciertas neoplasias como el retinoblastoma,<sup>17</sup> o el cáncer de colon,<sup>18</sup> se ha podido establecer el pronóstico de la neoplasia mediante la amplificación de oncogenes,<sup>19</sup> y la terapia genética se ha iniciado manipulando genes en pacientes con cáncer o en los que presentan deficiencia de adenosindesaminasa (ADA), o manipulando los cromosomas que portan los genes supresores como ha sido demostrado recientemente en el tumor de Wilms o nefroblastoma.<sup>20</sup>

Simposio presentado el día 19 de octubre de 1990 en las XXVIII Jornadas Médicas Nacionales de la Academia Nacional de Medicina en San Luis Potosí, S. L. P.

\*Académico numerario. Unidad de Investigación Clínica en Genética Humana

**Cuadro 1. DIAGNÓSTICO PRENATAL DE ENFERMEDADES GENÉTICAS POR TÉCNICAS DEL ADN RECOMBINANTE (INGENIERÍA GENÉTICA)**

Método	Padecimiento	Herencia
Sondas moleculares específicas	Anemia de células falciformes	A. recesiva
	Alfa y Beta Talasemias	A. recesiva
	Hemofilia A	Ligada al X
	Hemofilia B	Ligada al X
	Deficiencia de antitrombina III	A. recesiva
	Fenilcetonuria	A. recesiva
	Deficiencia de alfa-1-antitripsina	A. recesiva
	Deficiencia de hormona de crecimiento	A. recesiva
	Síndrome de Lesch-Nyhan	Ligada al X
	Hipercolesterolemia familiar	A. dominante
	Polimorfismos en el ADN	Corea de Huntington
Distrofia miotónica		A. dominante
Riñón poliquistico del adulto		A. dominante
Enfermedad de Alzheimer		A. dominante
Fibrosis quística del páncreas		A. recesiva
Enfermedad de Tay-Sachs		A. recesiva
Enfermedad de Gaucher		A. recesiva
Hiperplasia suprarrenal		A. recesiva
Hemofilia A y B		Ligada al X
Distrofia muscular Duchenne y Becker		Ligada al X
Retinoquiasis		Ligada al X
Enfermedad de Fabry	Ligada al X	
CROMOSOMOPATIAS		
Hibridación <i>in situ</i>	Síndrome de Down	
	Otras aberraciones	
	Diagnóstico del sexo	
	Síndrome del X frágil	

Estas técnicas también han sido aplicadas con éxito en la identificación de gemelos monocigóticos y en el campo de la medicina forense como pruebas de paternidad y en la búsqueda de sujetos criminales.<sup>21</sup>

El otro aspecto que reviste notable interés lo constituye el haber descubierto y caracterizado mecanismos no clásicos de herencia, como los mosaicos germinales,<sup>22</sup> las disomías e isodisomías<sup>23</sup> y el fenómeno de la "impronta" ("imprinting") genómica.<sup>24</sup> Clásicamente de acuerdo con el paradigma mendeliano, no hay diferencia en la transmisión y manifestación de los genes cuando estos provienen del padre o de la madre. Sin embargo, la impronta genómica durante un período crítico de la formación de las células germinales hace que la información genética se modifique y se exprese de manera diferente según provenga del progenitor masculino o del femenino.

Los aspectos más relevantes de estos avances de frontera serán revisados en el presente Simposium.

## Referencias

- McKusick VA. Mendelian Inheritance in Man. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1990.
- Salamanca F. Citogenética Humana. Fundamentos y Aplicaciones Clínicas. Editorial Médica Panamericana. México, D. F. 1990.
- Salamanca F. Componente genético y cromosómico de las neoplasias. Gac Med Méx 1989; 125:74-79.
- Stanbridge E. Human Tumor Suppressive Genes. Ann Rev Genet 1990; 24:615-657.
- Salamanca F. "Asesoramiento genético" en: Introducción a la pediatría. Palacios J (Ed.). Méndez Oteo, México, D. F., 1988, pp. 875-895.
- Koenig M, Bertelson CJ, Monaco AP, Hoffman E, Feener CC, Kunkel LM. Complete cloning of the Duchenne muscular dystrophy and preliminary genomic organization of the gene in normal and affected individuals. Cell 1987; 50:509-516.
- Salamanca F. Nuevas fronteras de la Genética Humana y sus

- implicaciones. III. Diagnóstico Prenatal y Terapéutica *in utero*. Gac Med Méx 1986; 122:126-129.
8. Nathans D, Smith HO. Restriction endonucleases in the analysis and restructuring of DNA molecules. Ann Rev Biochem 1975; 44:273-296.
  9. Saiki R, Scharf S, Faloona F, Mullis K, Horn G, Erlich H, Arnheim N. Enzymatic amplification of beta globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. Science 1985; 230:1350-1354.
  10. Stephens JC, Cavanaugh MI, Gradie MI, Mador MI, Kidd KK. Mapping the Human Genome: Current Status. Science 1990; 250:237-244.
  11. Knewlton RG, Cohen-Haguenauer O, Tsui LC, Buchwald M, Donis-Keller H. A polymorphic DNA marker linked to cystic fibrosis is located on chromosome 7. Nature 1985; 318:80-82.
  12. Gusella JF, Tanzi RE, Anderson MA. DNA Markers for nervous system diseases. Science 1984; 225:1320-1325.
  13. Sherrington R, Brynjolfsson J, Petursson H, Dobbs M, Gurin H. Localization of a susceptibility locus for schizophrenia on chromosome 5. Nature 1988;336:164-167.
  14. Engeland JA, Gerhard DS, Pauls DL, Kidd KK, Housman DE. Bipolar affective disorders linked to DNA markers on chromosome 11. Nature 1987;325:783-785.
  15. Wallace M, Marchuk DA, Andersen LB, Collins FS. Type I neurofibromatosis gene: Identification of a transcript disrupted in three NF1 patients. Science 1990;249:181-186.
  16. Tanzy RE. Amyloid protein gene: cDNA, mRNA distribution, and genetic linkage near the Alzheimer locus. Science 1987; 235:880-884.
  17. Wiggs J, Nordenskiöld M, Yandell D, Rappaport J, Walton D, Wilson W, Dryja TP. Prediction of the risk of hereditary retinoblastoma, using DNA polymorphisms within the retinoblastoma gene. N Engl J Med 1988;318:151-154.
  18. Fearon ER. Gene for progression of colon cancer. Science 1990;247:49-51.
  19. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/Neu Oncogene. Science 1987;235:177-180.
  20. Weissman BE, Sazon PJ, Pasquale SR, Jones GR, Geiser AG, Stranbridge EJ. Introduction of a normal human chromosome 11 into a Wilms tumor cell lines controls its tumorigenic expression. Science 1987;236:175-178.
  21. Jeffreys AJ, Wilson V, Thein SL. Individual specific "fingerprints" of human DNA. Nature 1985;316:76-78.
  22. Navarrete C, Peña R, Peñalosa R, Salamanca F. Germinal mosaicism in Crouzon syndrome. A family with three affected siblings of normal parents. Clin Genet, en prensa.
  23. Spence JE, Pericciaccante RG, Greig GM, Willard HF, O'Brien WE, Beaudet AL. Uniparental disomy as a mechanism for human genetic disease. Am J Hum Genet 1988;42:217-222.
  24. Hall JG. Genomic imprinting: Review and relevance to human diseases. Am J Hum Genet 1990;46:857-873.

## II. En citogenética médica

### FABIO SALAMANCA GOMEZ

El desarrollo de la Citogenética, que corre paralelo al de la Genética y la Biología Molecular, ha sido espectacular en la última década. El advenimiento de las Técnicas de Bandas<sup>1</sup> permitió por primera vez la identificación precisa de cada par cromosómico y fue posible establecer entonces correlaciones mucho más adecuadas entre las anomalías cromosómicas y los cuadros clínicos que ocasionan. Los logros de la Nueva Genética con el portentoso desarrollo de la Ingeniería Genética y el trascendental avance que significa la Reacción en Cadena de la Polimerasa (RCP)<sup>2</sup> que hace posible la obtención de millones de copias de un segmento génico en un tiempo relativamente breve, han permitido también revolucionar la Citogenética contemporánea: se ha incrementado en forma notable la localización de los genes en los cromosomas, se han reconocido clonas específicas para la identificación de cada uno de los cromosomas, se han descubierto anomalías estructurales cromosómicas en algunas entidades que se consideraban mendelianas, se ha establecido un panorama completo de aberraciones citogenéticas de gran utilidad en el diagnóstico y el pronóstico de las leucemias y los tumores sólidos y se conoce la ubicación de los oncogenes y de los antioncogenes o genes supresores.<sup>3</sup>

Más recientemente se han descubierto y caracterizado mecanismos no clásicos de herencia, como los mosaicos germinales,<sup>4</sup> las disomías e isodisomías cromosómicas<sup>5</sup> y el fenómeno de la "impronta" ("imprinting") genómica,<sup>6</sup> el cual implica que, durante un período crítico de la formación de las células germinales, ocurra en la información cromosómica un proceso de modificación y modulación que haga que ésta se exprese de manera diferente, según provenga del progenitor masculino o del femenino.

La técnica de la amniocentesis permitió el diagnóstico prenatal de las cromosopatías y en la última década el estudio de las vellosidades coriales hizo posible su diagnóstico a edades tan tempranas como de la sexta a la octava semana de la gestación.<sup>7</sup> Al combinar estas metodologías con el empleo de las enzimas de restricción que ponen de manifiesto los Fragmentos Polimórficos de Longitud Variable (FPLV) se hizo factible diagnosticar *in utero* un número cada día creciente de padecimientos hereditarios y se logró identificar a portadores de genes autosómicos recesivos<sup>8</sup> y a las portadoras de genes ligados al cromosoma X,<sup>9</sup> como la hemofilia y la distrofia muscular de Duchenne. No sólo es alentador el avance en estos aspectos preventivos, sino que, además, muy recientemente la micromanipulación cromosómica y la creación de cromosomas artificiales han abierto prometedoras pers-

pectivas para el tratamiento de las enfermedades de índole genética.<sup>10</sup>

Por otra parte, el estudio comparativo de los cariotipos en distintas especies ha llevado al establecimiento de interesantes rearrreglos cromosómicos a lo largo del proceso evolutivo<sup>11</sup> y el estudio de los polimorfismos del ADN mitocondrial resultan de gran utilidad para rastrear el origen de las distintas poblaciones. Algunas investigaciones han sido encaminadas a precisar el origen de nuestro primer ancestro femenino, lo que constituye una verdadera búsqueda de Eva, y han logrado trazar un árbol evolutivo que culmina en una mujer que vivió hace 200.000 años en el África.<sup>12</sup> En forma paralela, el estudio molecular del cromosoma Y, que por supuesto sólo se transmite de padre a hijo, permitirá establecer una genealogía que conduzca a Adán. Estos desarrollos han permitido poner en marcha el proyecto más ambicioso de toda la historia de la investigación biomédica: alcanzar la secuenciación completa de los 3000 millones de bases nitrogenadas del ADN humano y conocer su ordenamiento a lo largo de cada uno de nuestros cromosomas.<sup>13</sup> Esta tarea no se hubiera intentado y no podría lograrse sin el indispensable apoyo de las técnicas de análisis computarizado tanto genético como cromosómico.

La citogenética clínica ha delineado los síndromes de las aneuploidias autosómicas (trisomías 21, 18, 13, 8) y gonosómicas (Turner, Klinefelter, XXX) y los muy variados y numerosos cuadros de las trisomías y de las monosomías parciales.<sup>1</sup> Se ha reconocido la repercusión que estas alteraciones tienen en la reproducción humana como causa de esterilidad y aborto habitual.<sup>14</sup> Menos conocido es el hecho de que entidades consideradas como de transmisión mendeliana simple son en realidad debidas a alteraciones cromosómicas, principalmente del tipo de la delección. Algunos de los ejemplos más sobresalientes se incluyen en el Cuadro I.

Con relación a las aneuploidias debe mencionarse que mediante el empleo de polimorfismos moleculares o cromosómicos ha sido posible establecer el origen de la no separación o no disyunción cromosómica.<sup>15</sup> En el caso de la trisomía 21 (síndrome de Down) el 80% son de origen materno y el 20% de origen paterno. El 72% se deben a fallas en la primera división meiótica, y de éstas, 84% ocurren en la madre; el 28% corresponden a no separación en la segunda división meiótica, y de éstas, la tercera parte tienen un origen paterno.

El número de loci genéticos identificados en los últimos años se ha incrementado en forma impresionante, esto ha permitido contar con un mapa cada vez más completo para los cromosomas X y Y<sup>16</sup> y para los autosomas. En el Cuadro II se muestra como ejemplo el mapa genético correspondiente al cromosoma número 13. Algunas de las localizaciones revisadas notable interés, tales como la localización cromosómica de los factores de coagulación y de los genes de las interleucinas y los interferones (Cuadro III) o la de los genes de los grupos sanguíneos (Cuadro IV).

**Cuadro I.** CUADROS CLÍNICOS MENDELIANOS QUE PRESENTAN ALTERACIÓN CROMOSÓMICA

Cuadro Clínico	Alteración Cromosómica
Neuroblastoma	del (1p34)
Síndrome de Gardner	del (2q21)
Síndrome de Cornelia de Lange	del (3p21)
Síndrome de Greig	del (7q21)
Síndrome de Langer-Giedion	del (8q22)
Síndrome de Wiedemann-Beckwith	del (11p15)
Tumor de Wilms y aniridia	del (11p13)
Retinoblastoma	del (13q14)
Síndrome de Prader-Willi	del (15q11)
Síndrome de Miller-Dieker	del (17p13)
Síndrome de DiGeorge	del (22q11)
<i>Ligadas al cromosoma X</i>	
Enfermedad de Norrie	del (Xp11.3)
Distrofia muscular de Duchenne	del (Xp21)
Distrofia muscular tipo Becker	del (Xp21)
Retardo mental con macroorquidismo	fra (Xp28)
<i>Síndromes de inestabilidad cromosómica</i>	
Anemia de Fanconi	Inestabilidad
Ataxia telangiectásica	Inestabilidad
Xeroderma pigmentosum	Inestabilidad
Síndrome de Bloom	Inestabilidad
	ICH aumentado
Incontinencia pigmenti	Inestabilidad

**Cuadro II.** MAPA GENÉTICO DEL CROMOSOMA 13

Localización	Función o patología
13p 12	ARN ribosomal
13q14	Nivel de Inmunoglobulina E
13q14.1	Proteína-1 citosólica linfocitaria
13q14.11	Esterasa-D
13q21	ATPasa sodio-potasio
13q34	Factor de coagulación VII
13q34	Factor de coagulación X
13q34	Colágena IV, cadena alfa-1
13q34	Colágena IV, cadena alfa-2
13	Propionil CoA carboxilasa
<i>Mapa Mórbito (Patología)</i>	
13q12	Oncogen fit
13q14	Enfermedad de Wilson
13q14	Sensibilidad a Rayos X
13q14-q31	Enfermedad de Letterer-Siwe
13q14.1	Retinoblastoma-Osteosarcoma
13q34	Tumor del cuerpo carotídeo
13q34	Síndrome de Dublin-Johnson
13q34	Deficiencia de factor VIII
13q34	Deficiencia de factor X
13q34	Síndrome HHH (Hiperorutinemia-hiperamonemia-homocitrulinemia)
13	Cáncer ductal del seno
13	Acidemia propiónica tipo I
13	Xeroderma pigmentosum tipo I

**Cuadro III. LOCALIZACIÓN CROMOSÓMICA DE LOS FACTORES DE COAGULACIÓN Y DE LOS GENES DE LAS INTERLEUCINAS Y LOS INTERFERONES**

**FACTORES DE COAGULACION**

Factor II (Protrombina)	11p11-q12
Factor III	1p21-p22
Factor V	1q21-q25
Factor VII	13q34
Factor VIII (Hemofilia A)	Xq28
Factor IX (Hemofilia B)	Xq27.1-q27.2
Factor von Willebrand	12pter-p12
Factor X	13q34
Factor XI	15q11
Factor XII (Hageman)	5q33-qter
Factor XIII (Componente A)	6pter-p23
Factor XIII (Subunidad B)	1q12-q32.2

**INTERLEUCINAS E INTERFERONES**

Interleucina 1 alfa	2q13-q21
Interleucina 1 beta	2q18
Interleucina 2	4q26-q27
Interleucina 2 (receptor)	10p15-p14
Interleucina 3	5q23-q32
Interleucina 4	?
Interleucina 5	5q23.3-q32
Interleucina 6	7p21-p15
Interferón alfa, beta	9p21
Interferón beta-2	7p21
Interferón beta-3	2p23-qter
Interferón gama	12q24.1

**Cuadro IV. LOCALIZACIÓN CROMOSÓMICA DE LOS GENES PARA LOS GRUPOS SANGUÍNEOS**

Rh	1p36.2-p34	Kidd	18q11-q12
Rh(mulo-regulador)	3cen-q22	Lewis	19p13.1-q13.11
Duffy	1q12-q21	Luthenan	19p13.1-q13.11
Gerbich	2q14-q21	Luthenan (inhibidor)	11p
MN	4q28-q31	Luthenan (supresor)	Xp21.1-q21.1
Ss	4q28-q31	OK	19pter-p13.2
ABO	9q34	P1	22q11.2-qter
Bombay (Fenotipo)	19p13.1-q13.11	(Xg <sub>a</sub> )	Xpter-p22.32

El progreso también ha sido importante con respecto a la localización de genes responsables de patología en el humano, de tal manera que ha sido posible establecer un mapa mórbido de los cromosomas humanos (Cuadro V). Merece destacarse la localización de genes que alteran el comportamiento (Cuadro VI).

El otro campo en el que la Citogenética ha hecho trascendentes aportaciones lo constituye el estudio de las alteraciones cromosómicas en las neoplasias.<sup>3</sup> Desde el hallazgo pionero del cromosoma Philadelphia en la leucemia mieloide crónica<sup>17</sup> la presencia de aberraciones específicas en las

leucemias y en los tumores sólidos ha quedado firmemente establecida. Algunas de estas alteraciones se incluyen en el Cuadro VII. Estos hallazgos han sido de gran utilidad en la valoración pronóstica de las neoplasias.

La investigación de los factores genéticos y cromosómicos involucrados en el cáncer condujo al descubrimiento de los oncogenes y los antioncogenes o genes supresores. En el Cuadro VIII se indica la localización cromosómica de estos genes.

De acuerdo con el paradigma de Mendel no hay diferencia en la expresión y transmisión de los genes cuando éstos provienen del padre o de la madre. Sin embargo, recientemente se han descubierto mecanismos que contradicen este postulado clásico. Las principales circunstancias que explican patrones no clásicos de herencia se incluyen en el Cuadro IX. Los aspectos relacionados con la "impronta" genómica se tratan con mayor amplitud más adelante.

Con relación a los mosaicos germinales, éstos pueden explicar la presencia en una familia de más de un hijo afectado de un padecimiento autosómico dominante, con padres fenotípicamente normales, como ha sido descrito por nuestro grupo en el caso del síndrome de Crouzon<sup>4</sup> o la recurrencia de aberraciones cromosómicas en la descendencia de sujetos que tienen diferente dotación cromosómica en sus células germinales.<sup>18</sup>

En condiciones normales cada individuo de la especie humana recibe la mitad de sus cromosomas del padre y la otra mitad de la madre, de tal suerte que en cada par de cromosomas homólogos hay uno de origen paterno y otro de origen materno. Sin embargo, puede ocurrir que los dos cromosomas de un par provengan del mismo progenitor, por lo que el otro progenitor no aportó el cromosoma correspondiente. A esta situación se le ha denominado *disomía* (Figura 1) y no hubiera podido demostrarse sin el auxilio de las técnicas de ingeniería genética que al manifestar los FPLV permiten identificar en forma precisa cada uno de los cromosomas maternos y paternos.

La disomía puede deberse a la presencia de los dos cromosomas homólogos de un progenitor (*heterodisomía*) o a la duplicación de uno de ellos (*isodisomía*). La disomía uniparental como causa de enfermedad genética en el humano fue descrita por primera vez por Spence y colaboradores<sup>5</sup> al informar el caso de una niña con fibrosis quística del páncreas, hija de una madre portadora y de un padre homocigoto normal. El análisis de los FPLV descartó ilegitimidad y demostró que el padre no había contribuido con su cromosoma 7, ya que la paciente presentaba *isodisomía* para este cromosoma, es decir, sus dos cromosomas 7 procedían de la madre y eran el resultado de la duplicación del cromosoma que portaba el gen de la fibrosis quística. Esto explica porque la niña es homocigota sin ser su padre portador para este gen.

Cuadro V. MAPA MÓRBIDO DE LOS CROMOSOMAS HUMANOS

Cromosomas	Patología	Cromosomas	Patología
1	Eliptocitosis Eritroblastosis por RH Deficiencia de galactosa-epimerasa Furosidosis Neuroblastoma Catarata congénita Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth Deficiencia de Antitrombina III Glucogenosis VII Enfermedad de Gaucher Hipotiroidismo	8	Hipogonadismo hipogonadotrófico Deficiencia de plasmínogeno Acidosis tubular renal Hipotiroidismo Anemia hemolítica Síndrome de Ehlers-Danlos Síndrome de Langer-Giedion
2	Aniridia Síndrome de Gardner Abeta-hipoproteinemia Ehlers-Danlos tipo IV	9	Deficiencia de alfa-interferón Galactosemia Citruinemia Síndrome de Waardenburg Anemia hemolítica Síndrome de Nail-Patella
3	Tumor de células pequeñas del pulmón Atrasferinemia Apnea postanestésica Acidemia propiónica Anemia hemolítica Gangliosidosis generalizada Mucopolisacaridosis IV B (Morquio B)	10	Anemia hemolítica Enfermedad de Wolman Almacenamiento de colesterol Atrofia de retina Deficiencia de 17-hidroxilasa
4	Corea de Huntington Fenilcetonuria atípica Dis y analbuminemia Dentinogénesis imperfecta Esclerolisis Afibrinogenemia Síndrome de Rieger	11	Hipoparatiroidismo Hiperproinsulinemia Anemia de células falciformes Talasemias Síndrome de Wiedemann-Beckwit Tumor de Wilms y aniridia Diabetes mellitus Acatalasia Metahemoglobinemias Eritremia Deficiencia de fosfatasa ácida Hipertrigliceridemia Enfermedad de McArdle Porfiria aguda intermitente
5	Enfermedad de Sandhoff Mucopolisacaridosis VI (Maroteaux-Lamy) Anemia megaloblástica Poliposis adenomatosa múltiple	12	Anemia hemolítica Neurofibromatosis intestinal Enfermedad de von Willebrand Fenilcetonuria
6	Deficiencia de factor de Hageman Hemocromatosis Deficiencia de 21-hidroxilasa Deficiencia de C2 y C4 Ataxia espinocerebelar Defecto septal-atrial Psicosis maniaco-depresiva Diabetes mellitus juvenil	13	Enfermedad de Wilson Enfermedad de Letterer-Siwe Retinoblastoma-osteosarcoma Síndrome de Dublin-Johnson Deficiencia de factor VII Deficiencia de factor X Hiperamonemia Xeroderma pigmentosum
7	Aciduria arginino succinica Mucopolisacaridosis VII (Schie) Síndrome de Ehlers-Danlos VII Osteogénesis imperfecta Síndrome de Marfan Fibrosis quística	14	Inmunodeficiencia Deficiencia de alfa-1-antitripsina

continua...

15	Síndrome de Prader-Willi Síndrome de Angelman Anemia hemolítica Enfermedad de Tay-Sachs	21	Trombocitosis primaria Homocistinuria Enfermedad de Alzheimer
16	Alfa-talasemias Riñón poliquístico Urolitiasis Enfermedad de Norum Cistatininuria	22	Síndrome de ojo de gato Síndrome de DiGeorge Leucemia mieloide crónica Leucodistrofia metacromática Neurofibromatosis-neuroma acústico
17	Síndrome de Miller-Dicker Osteogénesis imperfecta Ehlers-Danlos tipo VII Deficiencia de galactocinasa Enanismo pituitario Glucogenosis II Neurofibromatosis	X	Disgenesia gonadal XY Enfermedad granulomatosa crónica Ictiosis Albinismo ocular Retinosquiasis Distrofia muscular de Duchenne Distrofia muscular Becker Síndrome de feminización testicular Anemia hemolítica Enfermedad de Fabry Gota
18	Síndrome de Tourette		Síndrome de Lesch-Nyhan Retardo mental con macrocuidismo Deficiencia de G-6-PDH Adrenoleucodistrofia Hemofilia A Hemofilia B
19	Hipercolesterolemia familiar Hiperlipoproteinemia tipo III Deficiencia de C3 Distrofia miotónica Manosidosis		
20	Síndrome de Sipple (Neoplasia Endocrina Múltiple-NEM II) Síndrome de Williams (NEM III) Inmunodeficiencia	Y	Disgenesia gonadal XY

**Cuadro VI.** LOCALIZACIÓN DE ALGUNOS GENES QUE ALTERAN EL COMPORTAMIENTO.

Entidad	Localización
Corea de Huntington	4p16
Esquizofrenia	5p31
Psicosis maniaco depresiva	6p21
Ataxia espinocerebelar	6p21
Psicosis maniaco depresiva	11p15
Síndrome de la Tourette	18q22
Enfermedad de Alzheimer	21q22
Síndrome de Lesch-Nyhan	Xq26
Síndrome de X-frágil	Xq28

Recientemente se han descrito otros casos con patología similar<sup>19</sup> y es seguro que la investigación en este campo demostrará en poco tiempo que, en igual forma a lo que ocurre en el ratón y en otros mamíferos, la disomía no es un suceso raro en los productos abortados, ya que algunas de ellas no son compatibles con la vida.

Debe señalarse que en el humano, cuando sólo existen dos juegos de cromosomas paternos se produce la mola completa<sup>20</sup> y que cuando hay dos juegos de cromosomas de origen materno se presenta el teratoma ovárico.<sup>21</sup>

Ya se han mencionado los avances con relación al diagnóstico prenatal y su impacto en la prevención de los trastornos genéticos y cromosómicos.<sup>8</sup> Debe indicarse, por otra parte, que ha sido posible la detección de sujetos portadores o heterocigotos y hacer el diagnóstico de la enfermedad antes de su manifestación clínica, utilizando técnicas de ingeniería genética. Los ejemplos más sobresalientes se incluyen en el Cuadro X.

Con relación a las posibilidades terapéuticas las técnicas del ADN recombinante y de la manipulación cromosómica han abierto halagueñas perspectivas. Ya ha sido posible introducir el gen para la resistencia a la neomicina en células hematopoyéticas del ratón adulto.<sup>22</sup> Así como el gen de la hipoxantina-guanina-fosfo-ribosil-transferasa, lo que constituye una posibilidad de tratamiento en el síndrome de Lesch-Nyhan que presenta deficiencia de esta enzima.<sup>23</sup> Lo mismo se ha hecho en la deficiencia de adenosina-deaminasa que produce defectos en la respuesta inmune y que afecta solamente a las células de la médula ósea, por lo que las células tratadas *in vitro* pueden ser reimplantadas.

Se han obtenido numerosas cepas de animales transgénicos que han respondido a manipulaciones terapéuticas. Así por ejemplo, la inyección de los genes de la hormona de crecimiento de la rata en huevos fertilizados de ratón<sup>24</sup> y del gen de la globina humana en ratones talasémicos<sup>25</sup> han demostrado

Cuadro VII. ALTERACIONES CROMOSÓMICAS EN ALGUNAS NEOPLASIAS

Neoplasia	Aberración
<b>I. LEUCEMIAS</b>	
Leucemia mieloide crónica	t(q;22)(q34;q11)
Leucemia aguda no linfocítica	t(8;21)(q22;q22) t(9;11)(q22;q23) t(15;17)(q22;q11)
<b>Mielodisplasia</b>	
Anemia refractaria	del(5)(q13;q31)
Leucemia crónica mielomonocítica	-7;del(7)(q31;q36)
<b>Leucemia crónica linfocítica</b>	
Células B	+12;t(11;14)(q13;q23)
Células T	inv(14)(q11;q32)
Leucemia aguda linfocítica	t(4;11)(q21;q23) t(8;14)(q24;q32) del(6)(q21;q15)
<b>II. LINFOMAS NO HODGKIN</b>	
Burkitt	t(8;124)(q24;q32)
Linfocito pequeño	t(2;11)(11;14)(q13;q32)
Síndrome de Sézary	t(14;14)(q11;q32)
Folicular	t(14;18)(q32;q21)
<b>III. TUMORES</b>	
Retinoblastoma	del(13)(q14)
Nefroblastoma (Tumor de Wilms)	del(11)(p13)
Neuroblastoma	del(1)(p31)
Melanoma	del(1)(p21)
Ca-células pequeñas del pulmón	del(3)(p14p23)
Ca-células claras del riñón	t(3;8)(p14;q24)
Sarcoma de Ewing	t(11;22)(q23;q11)
Tumor mixto de parótida	t(3;8)(p21;q12)
Meningioma	-22

Cuadro VIII. LOCALIZACIÓN DE LOS ONCOGENES EN LOS CROMOSOMAS HUMANOS

Oncogen	Origen	Localización
fgf	Sarcoma felino de Gardner-Rasheed	1p36
src2	Sarcoma aviario de Rous	1p36
L-myc	Carcinoma de pulmón humano	1p32
N-ras	Neuroblastoma humano	1p11-p13
ski	Virus aviario SKV	1q22-24
arg	Gen relacionado con el Abelson	1q24-25
N-myc	Neuroblastoma humano	2p23-24
raf1	Sarcoma murino 3611	3p25
fms	Sarcoma felino de McDonough	5q34
pim	Linfoma de células T murino	6p21-22
k-ras1	Sarcoma murino de Kirsten	6p11-12
ros	Sarcoma aviario	6q16-22
myb	Mieloblastosis aviaria	6q22-24
erb B	Eritroblastosis aviaria	7p11-12
met	Osteosarcoma humano	7q22
mos	Sarcoma murino de Moloney	8q11-q22
myc	Mielocitomatosis aviaria	8q24
abl	Leucemia murina de Abelson	9q34
H-ras 1	Sarcoma murino de Harvey	11p15
int 2	Tumor mamario murino	11q13
ets 1	Leucemia aviaria E2 6	11q23
k-ras 2	Sarcoma murino de Kirsten	12p12
fes	Sarcoma felino de Snyder	15q25-26
erb A	Eritroblastosis aviaria	17q11-21
neu	Neuroglioblastoma de rata	17q11-21
erb B2	Eritroblastosis aviaria	17q21
yes 1	Sarcoma aviario de Yamaguchi	18q21
src 1	Sarcoma aviario de Rous	20q13
ets	Leucemia aviaria E26	21q22
sis	Sarcoma simiano	22q13

respuestas espectaculares. Recientemente, en el ratón hipogonadal se pudieron establecer las funciones reproductivas introduciendo el gen de la hormona liberadora de gonadotropina ausente en estos animales.<sup>26</sup>

La manipulación cromosómica cada día es más factible, por la presencia de marcadores específicos y por la separación de técnicas de citofluorometría. Un ejemplo notable es el trabajo de Weissman y colaboradores,<sup>10</sup> quienes investigaron el papel de la delección 11p13 en el tumor de Wilms (nefroblastoma) introduciendo, mediante técnica de hibridación por microtransferencia celular, un cromosoma 11 normal en las células tumorales. Estas células, a pesar de tener el cromosoma 11 normal expresaron sus características habituales de cultivo y de funcionamiento de sus proto-oncogenes. Sin embargo, perdieron totalmente la capacidad de formar tumores cuando fueron transplantadas a ratones desnudos. Se llevaron a cabo experimentos controles en los cuales se estableció que la transferencia del cromosoma X ó del cromosoma 13, este último por su relación con el

Cuadro IX. MECANISMOS NO CLÁSICOS DE HERENCIA

Mosaico cromosómico
Mosaico génico
Mosaico germinal
Pérdida de heterocigocidad
Disomías uniparentales (isodisomías-Heterodisomías)
Impronta genómica

retinoblastoma, no tuvo efectos sobre la tumoricidad. Estos estudios dan un fuerte apoyo a la existencia en la región 11p13 de información genética que puede controlar la expresión maligna de las células tumorales en el nefroblastoma.

Actualmente se conocen más ejemplos de este efecto de supresión tumoral, lo que evidencia por consiguiente, la presencia de los genes supresores o antioncogenes,<sup>27</sup> mediante transferencia de cromosomas, cuyos ejemplos más relevantes se mencionan en el Cuadro XI. Llama la atención en el caso del neuroblastoma que el efecto supresor se haya logrado con

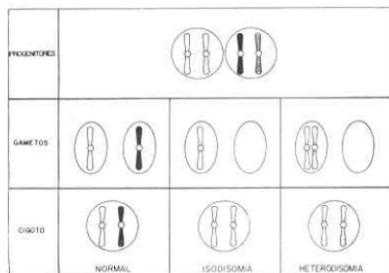


Fig. 1 Representación esquemática del mecanismo de formación de la isodisomía y la heterodisomía

**Cuadro X. PADECIMIENTOS AUTOSÓMICOS EN LOS QUE ES POSIBLE LA DETECCIÓN DE HETEROCIGOTOS O EL DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD ANTES DE SU MANIFESTACIÓN CLÍNICA, MEDIANTE TÉCNICAS DE INGENIERÍA GENÉTICA**

Padecimiento	Localización
Eliptocitosis	1p36
Hipotiroidismo	1p22
Enfermedad de Gaucher	1q21
Deficiencia de antitrombina III	1q23
Abeta-lipoproteinemia	2p24
Ehlers-Danlos tipo IV	2q31
Acidemia propiónica	3q13
Atransferrinemia	3q21
Corea de Huntington	4p16
Analbuminemia	4q11
Afibrinogenemia	4q26
Anemia megaloblástica	5q11
Poliposis adenomatosa múltiple	5q21
Hiperplasia suprarrenal-210H	6p21
Deficiencia de complemento C2	6p21
Deficiencia de complemento C4	6p21
Ehlers-Danlos tipo VII	7q21
Osteogénesis imperfecta	7q22
Fibrosis quística del páncreas	7q22
Hipogonadismo hipogonadotrófico	8p11
Deficiencia de plasminógeno	8p12
Acidosis tubular renal	8p13
Hipotiroidismo congénito	8p24
Deficiencia de alfa-interferón	9p21
Galactosemia	9p13
Citruinemia	9q34
Atrofia de retina	10q23
Hiperplasia suprarrenal-170H	10q24
Hipoparatiroidismo	11p15
Hiperproinsulinemia	11p15
Anemia de células falciformes	11p15
Talasemias	11p15
Tumor de Wilms	11p13
Hipertrigliceridemia	11q13
Enfermedad de McArdle	11q22

Porfiria aguda intermitente	11q23
Enfermedad de von Willebrand	12p12
Fenilcetonuria	12p24
Retinoblastoma	13q14
Enfermedad de Wilson	13q14.3
Deficiencia de factor X	13q34
Alfa-1-antitripsina	14q32
Síndrome de Prader-Willi	15q11
Enfermedad de Tay-Sachs	15q22
Receptor de factor de crecimiento	15q25
Alfa-talasemias	16p13
Riñón poliquístico del adulto	16p13
Síndrome de Miller-Dicker	17p13
Neurofibromatosis	17q11
Osteogénesis imperfecta	17p21
Ehlers-Danlos Hipo VII	17p21
Síndrome de la Tourette	18q22
Hipercolesterolemia	19p13
Hiperlipoproteinemia tipo III	19q13
Inmunodeficiencia	20q13
Homocistinuria	21q22
Enfermedad de Alzheimer	21q22
Neurofibromatosis-neuroma acústico	22q11
Leucodistrofia	22q13

**Cuadro XI. SUPRESIÓN TUMORAL ASOCIADA CON TRANSFERENCIA DE CROMOSOMAS HUMANOS POR MICROFUSIÓN CELULAR**

Línea celular	Cromosoma supresor
HeLa	11
Tumor de Wilms	11
Retinoblastoma	13
Carcinoma cervical SiHa	11
Carcinoma endometrial	1, 6, 9
Carcinoma de células claras del riñón	3
Melanoma	6
Neuroblastoma	17 (1)

la manipulación del cromosoma 17 y no con la del cromosoma 1, cuya deleción del brazo corto acompaña esta neoplasia. Ya se mencionó que se ha logrado identificar a sujetos susceptibles a presentar ciertos tumores como el retinoblastoma,<sup>28</sup> o el cáncer de colon,<sup>29</sup> y que se ha podido establecer el pronóstico de la neoplasia mediante la amplificación de oncogenes.<sup>30</sup>

Todos estos avances y los que se vislumbran a muy corto plazo hacen imperioso apoyar e impulsar en nuestro medio, el desarrollo de la Genética y la Citogenética molecular.

## Referencias

1. Salamanca F. Citogenética Humana. Fundamentos y Aplicaciones Clínicas. Editorial Médica Panamericana. México, D. F. 1990.
2. Saiki R, Scharf S, Faloona F, Mullis K, Horn G, Erlich H, Arnheim N. Enzymatic amplification of beta globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 1985; 230: 1350-1354.
3. Salamanca F. Componente genético y cromosómico de las neoplasias. *Gac Méd Méx* 1989; 125: 74-79.
4. Navarrete C, Peña R, Peñalosa R, Salamanca F. Germinal mosaicism in Crouzon syndrome. A family with three affected siblings of normal parents. *Clin Genet*, en prensa.
5. Spence JE, Pericaccatte RG, Greig GM, Willard HF, O'Brien WE, Beaudet AL. Uniparental disomy as a mechanism for human genetic disease. *Am J Hum Genet* 1988; 42: 116-217.
6. Hall JG. Genomic imprinting: Review and relevance to human diseases. *Am J Hum Genet* 1990; 46: 857-873.
7. Salamanca F. Nuevas Fronteras de la Genética Humana y sus Implicaciones. III. Diagnóstico Prenatal y Terapéutica *in utero*. *Gac Méd Méx* 1986, 122:126-129.
8. Salamanca F. Enfermedades congénitas: panorama actual, diagnóstico prenatal y repercusiones. *Rev Mex Pediat* 1990, 49: 169-183.
9. Koenig M, Bertelson CJ, Monaco AP, Hoffman E, Feener CC, Kunkel LM. Complete cloning of the Duchenne muscular dystrophy and preliminary genomic organization of the gene in normal and affected individuals. *Cell* 1987; 50: 509-516.
10. Weissman BE, Sazon PJ, Pasquale SR, Jones GR, Geiser AG, Stanbridge EJ. Introduction of a normal human chromosome 11 into a Wilms tumor cell lines controls its tumorigenic expression. *Science* 1987; 263: 175-178.
11. Bobrow M, Madan K. A comparison of chimpanzee and human chromosomes using the Giemsa 11 and other chromosome banding techniques. *Cytogenet Cell Genet* 1973; 12: 107-119.
12. Cann RL. In search of Eve. *The Sciences*. N. Y. Acad Sci. 1987, Sept-Oct. 30-36.
13. Stephens JC, Cavanaugh MI, Graide MI, Mador MI, Kidd KK. Mapping the human genome: Current Status. *Science* 1990; 250: 237-244.
14. Navarrete C, Salamanca F. Clinic, genetic and cytogenetic studies in couples attending an infertility clinic. *Ann Genet* 1986; 29: 98-106.
15. Armendares S, Buentello L, Salamanca F. Frecuencia de las mixoploidías en 85 casos índice con síndrome de Down. *Rev Invest Clín* 1990; 42: 103-108.
16. Salamanca F. Trastornos genéticos de la Diferenciación Sexual en el Humano. Alteraciones del cromosoma Y. *Gac Méd Méx*, en prensa.
17. Nowell PC, Hungerford DA. A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia. *Science* 1960; 132: 1497-1499.
18. Armendares S, Buentello L, Salamanca F. Estudio citogenético en los progenitores de 85 casos índice con trisomía 21 regular. *Rev Invest Clín* 1990; 42: 180-188.
19. Voss R, Ben-Simon E, Avital A, Zlotogora Y, Dagan J, Godfrey S, Tikochinski Y. Isodisomy of chromosome 7 in a patient with cystic fibrosis: could uniparental disomy be common in humans? *Am J Hum Genet* 1989; 45: 373-380.
20. Jacobs PA, Szulman AE, Funkhouser J, Matsuura JS, Wilson CC. Human triploidy: relationship between parental origin of the additional haploid complement and development of partial hydatidiform mole. *Ann Hum Genet* 1982; 46: 223-231.
21. Linder D, McCaw BK, Hecht F. Parthenogenic origin of benign ovarian teratomas. *N Engl J Med* 1975; 292: 63-66.
22. Williams DA, Lemischka IR, Nathan DG, Mulligan RC. Introduction of new genetic material into pluripotent hematopoietic stem cells of the mouse. *Nature* 1984; 310: 476-478.
23. Miller AD, Eckner RJ, Jolly JD, Firedman I, Verma IM. Expression of a retrovirus encoding human HPRT in mice. *Science* 1984; 223: 630-633.
24. Palmiter RD, Brinster RL, Hammer RE, Trumbauer ME, Evans RM. Dramatic growth of mice that develop from eggs microinjected with metalothionein-growth hormone fusion genes. *Nature* 1982; 300: 611-615.
25. Constantini F, Chada K, Magram J. Correction of murine beta-thalassemia by gene transfer into the germ line. *Science* 1986; 233: 1192-1194.
26. Mason AJ, Pitts SL, Wokolicks K, Szonyi E, Stewart TA. The hypogonadal mouse: reproductive functions restored by gene therapy. *Science* 1986; 234: 1372-1374.
27. Stanbridge E. Human Tumor Suppressive Genes. *Ann Rev Genet* 1990; 24: 615-657.
28. Wiggs J, Wordenskiold M, Yandell D, Rappaport J, Walton D, Wilson W, Dryja TP. Prediction of the risk of hereditary retinoblastoma, using DNA polymorphisms within the retinoblastoma gene. *N Engl J Med* 1988, 318: 151-154.
29. Fearon ER. Gene for progression of colon cancer. *Science* 1990; 247: 49-51.
30. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science* 1987; 235: 177-180.

### III. "Imprinting"

SALVADOR ARMENDARES\*

*Los dogmas del tranquilo pasado no son adecuados para el tormentoso presente. Es una ocasión plena de dificultades pero debemos enfrentarla. Así como nuestro caso es nuevo, nueva debe ser nuestra forma de pensar y actuar.*

Abraham Lincoln

Segundo mensaje anual al Congreso 1o. de diciembre de 1862

Además de las enfermedades y malformaciones congénitas que no siguen un modo mendeliano simple de transmisión hereditaria (autosómica recesiva o dominante y recesiva o dominante ligada al cromosoma X) y que se consideran determinadas por herencia multifactorial, hay otras que se transmiten en forma, por demás extraña o imprevista, aunque se sabe que son de etiología genética y producidas por cambios en la estructura o función del ácido desoxirribonucleico (ADN).

Hasta hace muy poco tiempo, cuando algún padecimiento del que se tenían buenas razones para sospechar que era genéticamente determinado no se comportaba de la manera esperada en cuanto a su transmisión, a saber, la relación entre los sujetos afectados y no afectados, las frecuencias relativas entre unos y otros, la selección aparente entre los afectados de un sexo y el otro, etc., se pretendía ingenuamente enmarcar al padecimiento de acuerdo al paradigma mendeliano y se recurría a algunas mutillas como penetrancia disminuida, expresión variable, heterogeneidad genética, letalidad en los individuos de uno u otro sexo y otras muchas.

A lo largo de esta presentación pondré algunos ejemplos de ciertos trastornos genéticamente determinados que se transmiten aparentemente de manera paradójica y en los cuales, gracias al avance trascendental en los últimos años de la genética molecular, ya se ha encontrado explicación de ese comportamiento, lo que ha modificado sensiblemente la frontera o límites hasta ahora establecidos para el diagnóstico, pronóstico, asesoramiento genético y quizá muy pronto, el tratamiento de algunos padecimientos de etiología genética.

La herencia multifactorial o poligénica no ha escapado a esa influencia ejercida por la genética molecular porque no es una herencia diferente a la mendeliana simple, sino que se manifiesta de manera distinta al estudiar los árboles genealógicos. En efecto las características multifactoriales

suelen ser cuantitativas o semicuantitativas y dependen de la acción aditiva o acumulativa de más de un par de alelos. Entre los rasgos patológicos determinados por este tipo de herencia se pueden citar algunos procesos anormales tan relativamente comunes como el labio y paladar hendidos, los defectos de cierre del tubo neural, la luxación congénita de la cadera, la hipertensión arterial, etc.

Como las características multifactoriales no se distribuyen en las familias conforme a árboles genealógicos típicos o claramente definidos, la manera de averiguar si una enfermedad es transmitida conforme a este tipo de herencia, es comparando el parecido que hay, en relación a la enfermedad, entre los individuos con diferentes grados de parentesco. Este método de análisis se basa en que mientras más cercano es el parentesco entre dos personas, más genes tienen en común y por lo tanto serán más semejantes un padre y su hijo que dos primos hermanos y más parecidos éstos entre sí que los primos en tercer grado, y así sucesivamente.

Pero vayamos a los ejemplos prometedores de algunas enfermedades cuya etiología genética ha sido mejor comprendida gracias a la genética molecular y analicemos algunos conceptos modernos introducidos recientemente en la literatura de la genética médica.

La genética se volvió el tema central de la biología desde que Gregorio Mendel introdujo el concepto de que la transmisión hereditaria resultaba de la herencia de factores inmutables, los que ahora conocemos como genes, y que éstos producían el mismo efecto independientemente de cuál de los dos progenitores procedía. Sin embargo, analizando retrospectivamente, parece muy probable que Mendel haya seleccionado cuidadosamente un grupo de características de los guisantes que segregaban simple y netamente, pero hay muchos otros rasgos, tanto en los guisantes como en otras especies, que no muestran herencia mendeliana. uno de los retos importantes de la genética contemporánea es explicar cómo se comportan esos rasgos. Es en este sentido que el concepto del "estampado" genómico ha adquirido importancia (estampado es el término que he adoptado para referirme a lo que en inglés llaman "imprinting"), porque puede proporcionar una explicación para un gran número de diversas observaciones de rasgos cuya transmisión y expresión no concuerdan con las predicciones de una herencia monogénica simple.

El primero que usó en biología el término estampado fue, probablemente Lorenz a fines de los años 30<sup>1</sup> al describir algunas observaciones sobre el comportamiento de ciertos animales. Históricamente el vocablo estampado fue primeramente usado para referirse a los cromosomas paternos que sufren una eliminación selectiva en la Sciera,<sup>23</sup> y posteriormente fue utilizado para describir la inactivación selectiva en

\* Académico titular

las membranas extraembrionarias de los ratones de los cromosomas X paternos.<sup>4</sup> Recientemente la expresión de estampado genómico ha sido empleada para referirse a la diferente manifestación o expresión del material genético, tanto a nivel cromosómico como de los genes, cuando el material genético procede del progenitor masculino o femenino.<sup>5-10</sup> Para que se produzcan esas diferencias fenotípicas el estampado genómico debe producir modificaciones del ADN nuclear de las células somáticas, lo que es un concepto contrario al dogma mendeliano básico que sostiene que el origen parental de la información genética no influye en la expresión de los genes. En este sentido, el término estampado también implica que algo sucede durante un período crítico del desarrollo. En el caso del estampado genómico el estadio durante el cual se forman las células germinales puede ser un período crítico durante el cual la información genética es "marcada" o "etiquetada", cambiando temporalmente esa información para que pueda manifestarse en forma diferencial. Visto así, el estampado genómico puede considerarse como una forma de regulación que permite otro nivel de flexibilidad en el control y expresión del genoma en los mamíferos y puede explicar por qué las mutaciones en algunas partes del genoma funcionan de manera diferente, dependiendo de si una determinada mutación procede del padre o de la madre.

Actualmente, seis clases de observaciones sugieren la existencia del estampado genómico.<sup>11</sup> Algunas de esas observaciones proceden de estudios efectuados en ratones y otras de estudios en el hombre: 1. Observaciones sobre los resultados de los experimentos del tipo del trasplante de los pronúcleos en ratones. 2. Los fenotipos de los individuos triploides. 3. La manera de manifestarse de ciertas disomías, tanto en los ratones como en el hombre. 4. La expresión fenotípica de las deficiencias cromosómicas en el hombre y en el ratón, particularmente en relación con síndromes cromosómicos específicos y tumores malignos. 5. La manera en que se expresa el material genético en el ratón transgénico. 6. La expresividad de genes específicos en los ratones y en los humanos.

### *1. Trasplante de los pronúcleos en ratones.*

En el ratón los pronúcleos materno y paterno son fácilmente reconocibles en el huevo fertilizado, tanto por su localización como por su apariencia y cada uno puede ser extirpado y reemplazado por otro pronúcleo que tenga el mismo origen parental que el pronúcleo que se ha conservado. Cuando esos cigotos se desarrollan se observa que aquellos que sólo tienen cromosomas paternos (androgénicos) tienen un desarrollo relativamente normal de las membranas y de las placetas,

pero en cambio el desarrollo de las estructuras embrionarias es muy deficiente. En cambio los cigotos ginogénicos, es decir aquellos que tienen dos juegos de cromosomas maternos, tienen un desarrollo embrionario relativamente bueno pero un paupérrimo desarrollo de las membranas y las placetas.<sup>11</sup>

En el hombre hay algunos procesos patológicos que equivalen a lo observado en esos experimentos efectuados en el ratón, a saber: la mola hidatidiforme y los teratomas embriológicos.

La mola completa se encuentra en embarazos que no tienen tejidos embrionarios y tiene dos juegos de cromosomas paternos, es decir de origen endrogénico.<sup>11-13</sup> En cambio, los teratomas son tumores embrionarios sin tejido placentario. En los teratomas ováricos se encuentran dos juegos de cromosomas de origen materno, son ginogénicos.<sup>14</sup>

### *2. Triploidias en el humano*

Los sujetos triploides tienen una dosis doble de cromosomas procedentes de uno de los progenitores. Cuando en los tejidos de un feto humano triploide se encuentran dos juegos de cromosomas paternos y uno materno (androide) es característico el desarrollo de una placenta grande y quística.<sup>15</sup> En el caso de que sobreviva el feto por tratarse de un mosaico triploide/diploide éste tiene la apariencia típica del feto triploide con cabeza grande, cuerpo pequeño, retraso severo del crecimiento intrauterino y sindactilia.<sup>16</sup> Cuando se trata de abortos tempranos triploides, usualmente se encuentran dos complementos haploides de cromosomas maternos y uno paterno (ginoide) y en este caso se observa solamente una placenta pequeña y subdesarrollada, pero sin quistes. Estas observaciones sugieren que la información genética paterna juega un papel particularmente crítico en el desarrollo y conservación de la placenta y de las membranas. Aunque la contribución de los cromosomas maternos puede ser esencial para el desarrollo embrionario temprano, en los fetos triploides humanos los embriones ginoide probablemente no son capaces de crecer, en la mayor parte de los casos, como para sobrevivir lo suficiente para que sean observados.

### *3. Disomías cromosómicas uniparentales*

Cuando un par de cromosomas homólogos o un segmento de ellos, procede de uno de los progenitores sin que esté representado el cromosoma homólogo o el segmento correspondiente del progenitor del sexo opuesto se dice que hay disomía uniparental. Esas disomías han sido observadas para casi todos los segmentos del genoma del ratón.<sup>11</sup> Algunos de esos segmentos cromosómicos disómicos producen efectos diferentes sobre el crecimiento, comportamiento y sobrevivencia

de los ratones, de acuerdo a que la duplicación del segmento cromosómico sea de origen materno con deficiencia del segmento correspondiente paterno o viceversa.

Se han descrito cuando menos dos casos de fibrosis quística del páncreas con disomía uniparental<sup>17,18</sup> que parecen ser un ejemplo en el hombre de las disomías uniparentales en los ratones. En ambos casos de fibrosis quística los niños afectados habían adquirido ambos cromosomas 7 de sus madres. La isodisomía uniparental en el humano tiene una serie de implicaciones importantes y uno de los autores mencionados<sup>18</sup> se pregunta si no es una condición que pueda ser más común de lo que se presume.

#### 4. Deficiencias o deleciones cromosómicas

Cuando las disomías uniparentales son debidas a una translocación no se sabe si los efectos fenotípicos son debidos a la duplicación del material genético o a la deficiencia de éste. Las deficiencias totales o parciales de los autosomas habitualmente son letales, tanto en el ratón como en el hombre.<sup>19</sup> Sin embargo, en algunos de los pacientes con síndrome de Prader-Willi<sup>20</sup> se describió hace aproximadamente 10 años,<sup>21</sup> una deleción o pérdida de material genético en los brazos largos del cromosoma 15 (15q11-13). Posteriormente se encontró que más de la mitad de los individuos afectados tenían deleciones detectables citogenéticamente. Recientemente, con marcadores del ADN, se ha precisado que el cromosoma 15 deficiente es de origen paterno en la mayor parte, si no es que en todos los casos.<sup>22,23</sup>

Por otra parte en el síndrome de Angelman (síndrome del títere feliz), descrito hace 25 años,<sup>24</sup> se ha encontrado en aproximadamente la mitad de los individuos afectados, deleciones detectables citogenéticamente en el cromosoma 15 y aparentemente en el mismo lugar (15q11-13) que las observadas en algunos de los pacientes con el síndrome de Prader-Willi, pero curiosamente las deleciones en el síndrome de Angelman se encuentran en el cromosoma 15 heredado de la madre.<sup>23,25-27</sup>

Por ahora, aunque faltan muchas cosas que aclarar, la evidencia sugiere que las diferencias fenotípicas observadas en los dos síndromes tienen que ver con la función diferencial de la región q11-13 y que la expresión fenotípica depende del origen, paterno o materno del cromosoma 15 deficiente.

Además, recientemente se han descrito algunos casos de síndrome de Prader-Willi<sup>28</sup> en los cuales no ha habido evidencia de alguna deleción de ADN pero en cambio los dos cromosomas 15 de los individuos afectados habían sido heredados de la madre, es decir, correspondían a disomía uniparental del cromosoma 15 semejante a la disomía del cromosoma 7 descrita en los casos de fibrosis quística mencionados antes.

Esos casos sugieren que es la falta del cromosoma 15 paterno, o cuando menos la ausencia de una parte de ese cromosoma, la que se manifiesta fenotípicamente como síndrome de Prader-Willi. Hasta ahora no se ha demostrado disomía uniparental en el síndrome de Angelman. En el caso del síndrome de Prader-Willi es muy probable que se inicie con un cigoto trisómico 15 y que posteriormente se pierda el cromosoma 15 paterno.

A la luz de esas observaciones y con la posibilidad tecnológica actual de tipificar el ADN para determinar el origen parental de un determinado cromosoma se antoja que muchas incógnitas serán resueltas. He aquí algunas de esas preguntas:<sup>11</sup> ¿Los fenotipos característicos que producen algunas deleciones (4p-, 5p-, 18p-, etc.) dependen de que la deleción se encuentre en un cromosoma derivado particularmente del padre o de la madre?

¿Las diferencias fenotípicas que se aprecian en un síndrome cromosómico específico dependen del origen parental del cromosoma involucrado? ¿Son sólo algunos cromosomas los que dan esos efectos diferenciales o son todos los cromosomas o segmentos de ellos? ¿Las notables diferencias observadas en cuanto a la frecuencia de hijos con síndrome de Down, cuando la madre es portadora de una translocación 21, u otras translocaciones Robertsonianas, en comparación a cuando el padre es el portador se deben al efecto del estampado? ¿Las duplicaciones, trisomías, translocaciones y pequeños cromosomas marcadores supernumerarios producen diferentes fenotipos dependiendo del origen parental del cromosoma responsable? ¿Algunas anomalías cromosómicas no se expresan fenotípicamente cuando derivan de la madre y sí lo hacen gravemente cuando proceden de un cromosoma paterno y viceversa; ¿Cuándo a un niño que es fenotípicamente anormal se le encuentra una translocación cromosómica balanceada y el estudio citogenético familiar revela que uno de los progenitores, que es aparentemente normal, tiene la misma translocación se puede pensar que las anomalías fenotípicas del niño dependen del sexo del progenitor transmisor?

Esas y muchas otras preguntas no han sido todavía contestadas porque los marcadores de ADN necesarios para trazar el origen parental de los cromosomas apenas empiezan a obtenerse. Sin embargo, en algunos síndromes se comienzan a tener pistas en el sentido de que el origen parental de un cromosoma específico se asocia con la expresión fenotípica o la modifica.

He aquí algunos de ellos:<sup>11</sup> S. de Miller-Diecker (17p-paterno), S. de Di Georgi (22q- materno), cri-du-chat (5p-paterno) y el S. tricornofalángico II (8q- materno).

Por lo que se refiere al cáncer se sabe actualmente que las deleciones cromosómicas durante la oncogénesis tienen un origen parental que no es al azar.<sup>29-32</sup>

Recientemente, se ha visto que en un gran número de tumores de Wilms esporádicos existe una pérdida total o parcial del cromosoma 11, pero lo sorprendente es que esa delección de este cromosoma casi siempre se encuentra en el cromosoma de origen materno,<sup>31</sup> lo que hace suponer que el cromosoma 11 materno tiene alguna participación en la supresión tumoral que no es compensada por el cromosoma 11 paterno.<sup>32</sup>

La relación entre el origen parental de los cromosomas y la génesis de los tumores es muy compleja. En algunos tumores como el retinoblastoma bilateral y los tumores glómicos se han encontrado ciertas características de transmisión hereditaria compatibles con el efecto del estampado genómico lo que abre un amplio campo de investigación por demás interesante.

### 5. La expresión transgénica

Existen varias técnicas y algunos marcadores han sido usados, para incorporar un gen específico dentro del genoma del ratón y después se ha observado cómo se expresa ese gen "extraño" (transgene) en los diferentes tejidos y a través de varias generaciones.<sup>33,34</sup> Esos experimentos han dado como resultado una dramática observación, en alrededor de una cuarta parte de los transgenes examinados, la expresión del gen en generaciones subsiguientes depende del sexo del progenitor transmisor del gen.<sup>11</sup>

### 6. Expresión de genes específicos

La expresión de genes específicos cuando se heredan del padre versus cuando son heredados de la madre todavía no se ha evaluado en la mayor parte de las enfermedades del hombre y hasta hace muy poco se aceptaba que el origen parental del gen no tenía importancia.

Sin embargo, hay un cierto número de trastornos en el hombre, en los que las diferencias en el fenotipo, la edad de iniciación de la enfermedad y la severidad del padecimiento parecen estar relacionadas con el sexo del progenitor que transmite el gen. La distrofia miotónica y la enfermedad de Huntington son ejemplos clásicos:<sup>11</sup> entre el 10 y el 20% de las familias afectadas cuando el gen de la distrofia miotónica es transmitido a través de la madre y solamente a través de ésta, una forma congénita y severa de la enfermedad ocurre.<sup>35</sup> Entre el 5 y el 10% de las familias con enfermedad de Huntington, cuando el gen es transmitido a través del padre y solamente a través del padre, se presenta una forma severa, con rigidez y de iniciación de la enfermedad en la juventud.<sup>36,37</sup>

Hay otros trastornos relativamente comunes en los cuales la severidad del cuadro se dice que depende de si la herencia del gen es materna o paterna, a saber:<sup>11</sup> la ataxia espinocerebelar, la ataxia cerebelar, el síndrome de Wiedemann-Beckwith,

la neurofibromatosis I y la II, los tumores glómicos familiares y el síndrome del X frágil.

Hay además otras enfermedades en las cuales el tipo de transmisión hereditaria es confuso y que no siguen un esquema mendeliano, es decir, tienen "penetrancia disminuida" o "variabilidad en la expresión" como por ejemplo:<sup>11</sup> la ectrodactilia, la hemocromatosis, la enfermedad maniaco-depresiva, el síndrome de Gardner, la enfermedad poliquística del ovario, etc.

Hay otro grupo de trastornos en el hombre en los cuales las técnicas con marcadores del ADN han permitido demostrar que la segregación del rasgo se encuentra desproporcionado según el sexo del progenitor transmisor, como por ejemplo:<sup>11</sup> la fibrosis quística, la diabetes mellitus insulino-dependiente, los haplotipos HLA y los alelos de las transferrinas.

Todos esos datos considerados en conjunto sugieren fuertemente que el estampado genómico, es decir la expresión diferencial del ADN según derive del padre o de la madre, ocurre cuando menos en algunas partes del genoma y que juega un papel importante en la patología del hombre. Parece ser que el "etiquetado" o estampado del ADN se produce normalmente durante la gametogénesis en algunas áreas del genoma de los mamíferos y que es reversible, es decir, no es una mutación o cambio permanente sino más bien una modificación que se puede "borrar" o reestablecerse cuando las células germinales se producen en la segunda generación.<sup>11</sup>

Si tenemos en cuenta el posible efecto del estampado sobre el fenotipo en cualquier enfermedad o síndrome en el cual no se aprecie un modo claro de herencia, el árbol genealógico debe analizarse bajo la sospecha de que exista estampado genómico observando básicamente la expresión diferencial en los fenotipos cuando el trastorno es heredado del padre o de la madre.

Muchos síndromes, enfermedades y trastornos que previamente se habían descrito como multifactoriales o poligénicos o que mostraban variabilidad en la expresión o penetrancia disminuida son candidatos para que los pedigrees sean sistemáticamente reexaminados.

A medida que hay más y más evidencia de que el estampado genómico ocurre en los mamíferos la pregunta que se antoja hacer es: ¿por qué?

Se ha sugerido que el estampado está relacionado con la evolución de la *placentación*, también se ha supuesto que el estampado es necesario para la preservación de la reproducción sexual y por último se ha pensado que el estampado en los mamíferos tiene que ver con el control y "flexibilidad" de los genes durante el proceso de crecimiento y desarrollo.

En resumen, diremos que se ha acumulado en los últimos cuatro o cinco años, suficiente evidencia en el sentido de que algunas porciones del genoma (cromosomas, segmentos cromosómicos, genes) funcionan de manera diferente depen-

diendo de cuál de los dos progenitores provienen. Este proceso parece que normalmente es reversible, lo cual significa que es una modificación temporal del ADN. El funcionamiento diferente de los genes, el cual depende de cuál de los dos progenitores han sido heredados, puede estar presente al mismo tiempo en todo el genoma y puede explicar algunos modos de herencia atípicos e inconsistentes.

## Referencias

- Lorenz K. King Solomon's ring. Crowell, New York, 1952.
- Crouse HV. The controlling element in sex chromosome behaviour in *Sciara*. *Genetics* 1960; 45: 1429-1443.
- Sapienza C. Genome imprinting and dominance modification. *Ann NY Acad Sci* 1989; 564:24-38.
- Lyon MF, Rastan S. Parental source of chromosome imprinting and its relevance for X-chromosome inactivation. *Differentiation* 1984; 26:63-67.
- Surani MAH. Evidences and consequences of differences between maternal and paternal genomes during embryogenesis in the mouse. In: Rossan J, Pederson RA (eds.). *Experimental approaches to mammalian embryonic development*. Cambridge University Press, Cambridge, 1986, pp 401-435.
- Monk M. Memories of mother and father. *Nature* 1987; 328:203-204.
- Monk M. Genomic imprinting. *Genes Devel.* 1988; 2:921-925.
- Solter D. Inertia of the embryonic genome in mammals. *Trends Genet.* 1987; 3:23-27.
- Solter D. Differential imprinting and expression of maternal and paternal genomes. *Ann Rev Genet.* 1988; 22:127-146.
- Marx JL. A parent's sex may affect gene expression. *Science* 1988; 239:352-353.
- Hall JG. Genomic imprinting: Review and relevance to human diseases. *Am J Hum Genet* 1990; 46:857-873.
- Jacobs PA, Szulman AE, Funkhouser J, Matsuura JS, Wilson CC. Human triploidy: relationship between parental origin of the additional haploid complement and development of partial hydatidiform mole. *Ann Hum Genet* 1982; 46:223-231.
- Szulman AE, Surti U. Complete and partial hydatidiform moles: cytogenetic and morphological aspects. In: Patillo RA, Husa PO (eds.) *Human trophoblast neoplasia*. New York, Plenum, 1984 pp. 135-145.
- Linder D, McCaw BK, Hecht F. Parthenogenic origin of benign ovarian teratomas. *N Engl J Med.* 1975; 292:63-66.
- Lawler SD. Genetic studies on hydatidiform moles. *Adv Exp Med Biol.* 1984; 176:147-161.
- Kalousek DK. The role of confined chromosomal mosaicism in placental function and human development. *Growth Genet Hormones*, 1988, 4 (4):1-3.
- Spence JE, Perciaccante RG, Greig GM, Willard HF, Ledbetter DH, Hejtmanic JF, Pollack MS, et al. Uniparental disomy as a mechanism for human genetic disease. *Am J Hum Genet.* 1988; 42:217-226.
- Voss R, Ben-Simon E, Avital A, Zlotogora Y, Dagan J, Godfrey S, Tikochinsky Y et al. Isodisomy of chromosome 7 in a patient with cystic fibrosis: could uniparental disomy be common in humans? *Am J Hum Genet.* 1989; 45:373-380.
- Epstein CJ. Mouse monosomies and trisomies as experimental systems for studying mammalian aneuploidy. *Trends Genet.* 1985; 1:129-134.
- Prader A, Labhart A, Willi H. Ein syndrom von Adipositas, Kleinwuchs, Kryptorchismus und oligophrenic nach myotonicartigem Zustand in Neugeborenenalter. *Schweiz Med Wochenschr* 1956; 86:1260-1261.
- Ledbetter DH, Riccardi VM, Airhard SD, Strobel RJ, Keenan BS, Crawford JD. Deletion of chromosome 15 as a cause of the Prader-Willi syndrome. *N Engl J Med* 1981; 304:325-329.
- Butler MG, Meany FJ, Palmer CG. Clinical and cytogenetic survey of 39 individuals with Prader-Labhart-Willi syndrome. *Am J Med Genet*, 1986; 23:793-809.
- Knoll JHM, Nicholls RD, Magenis RE, Graham JM Jr, Lalonde M, Latt SA. Angelman and Prader-Willi syndromes share a common chromosome 15 deletion but differ in parental origin of the deletion. *Am J Med Genet.* 1989; 32: 285-290.
- Angelman H. "Puppet" Children: a report of three cases. *Dev Med Child Neurol.* 1965; 7:681-683.
- Magenis ER, Brown MG, Lacy DA, Budden S, LaFranchi S. Is Angelman syndrome an alternate result of del (15) (q11q13)? *Am J Med Genet.* 1987; 28:829-838.
- Donlon TA. Similar molecular deletions on chromosome 15q11.2 are encountered in both the Prader-Willi and Angelman syndromes. *Hum Genet* 1988; 80:322-328.
- Pembrey M, Fennell SJ, van der Bergh J, Fitchett M, Summers D, Butler L, Clarke C et al. The association of Angelman's syndrome with deletions within 15q11-13. *J Med Genet.* 1989; 26:73-77.
- Nicholls RD, Knoll JHM, Butler MG, Karam S, Lalonde M. Genetic imprinting suggested by maternal heterodisomy in non-deletion Prader-Willi syndrome. *Nature*, 1989; 342:281-285.
- Ponder B. Gene losses in human tumors. *Nature*, 1988; 335:400-402.
- Ponder B. Is imprinting to blame? 1989; 340:264.
- Schroeder WT, Chao LY, Dao DD, Strong LC, Pathak S, Riccardi V, Lewis WH, Saunders GF. Nonrandom loss of maternal chromosome 11 alleles in Wilms tumour. *Am J Hum Genet.* 1987; 40:413-420.
- Wilkins RJ. Genomic imprinting and carcinogenesis. 1988, *Lancet* 1:329-331.
- Reik W, Collick A, Norris ML, Barton SC, Surani MAH. Genomic imprinting determines methylation of parental alleles in transgenic mice. 1987, *Nature*, 328:248-251.
- Surani MA, Reik W, Allen ND. Transgenes a molecular probes for genomic imprinting. *Trends Genet.* 1988; 4:59-62.
- Harper PS. Congenital myotonic dystrophy in Britain. II. Genetic basis. *Arch Dis Child.* 1975; 50:514-521.
- Reik W. Genomic imprinting: a possible mechanism for the

parental origin effect in Huntington's chorea. *J Med Genet.* 1988;25:805-808.

37. Ridley RM, Frith CD, Crow TJ, Conneally PM. Anticipation in Huntington's disease is inherited through the male line but may originate in the female. *J Med Genet.* 1988;25:589-595.

## IV. Algunos usos de la biología molecular

### RUBEN LISKER\*

Hasta hace unos 40 años el tipo de información que se empleaba para diagnosticar que un individuo tenía alguna anomalía genética, era eminentemente clínica, ayudada de datos de laboratorio y gabinete tradicionales. La demostración de Linus Pauling en 1949<sup>1</sup> de que los individuos con anemia de células falciformes tenían una hemoglobina con movilidad electroforética diferente a la normal, introdujo el concepto de enfermedad molecular, según el cual un padecimiento, en este caso la anemia de células falciformes, era consecutivo a la alteración de una molécula, la hemoglobina. Posteriormente al desarrollarse las técnicas para determinar la secuencia de aminoácidos de las proteínas, Ingram<sup>2</sup> las aplicó al estudio de la anemia de células falciformes y demostró que en la hemoglobina S existe el cambio de un sólo aminoácido, valina por ácido glutámico en su globina. Tiempo después al conocerse el código genético, se pudo inferir que dicho cambio implica un cambio del codón GAG, que codifica para ácido glutámico, a GTG, que codifica para valina.

Desde hace relativamente poco tiempo, ya no es necesario hacer inferencias de que mutación debe haber en el ADN en virtud de algún cambio en una proteína y es posible analizar directamente el ADN con técnicas de biología molecular y conocer si su secuencia de bases es o no normal. De hecho existe un proyecto llamado del Genoma Humano que pretende averiguar en pocos años cual es la localización genómica de todos los genes, empezando por los que producen enfermedades, y cual es su secuencia de nucleótidos. Son varios los adelantos tecnológicos que han permitido estos avances, me referiré principalmente a dos de ellos: 1) el uso de enzimas de restricción y 2) la reacción en cadena de la polimerasa (RCP).

**Enzimas de restricción.** Las enzimas de restricción son endonucleasas presentes normalmente en el núcleo de las bacterias y se caracterizan por reconocer secuencias específicas de cuatro o más nucleótidos en el ADN y romper la molécula donde encuentran dicha secuencia. La incubación de ADN con este tipo de enzimas produce un número variable de

fragmentos de diferentes tamaños, dependiendo de cuantos sitios identifica la enzima y se conocen con el nombre de fragmentos de restricción. En la figura 1 se esquematiza la forma como se realizan estos estudios, siendo crítica la hibridación de los fragmentos con el cADN (ADN complementario) de un gen conocido que nos permite identificar el tamaño del fragmento que hibrida con el gen que se está estudiando.

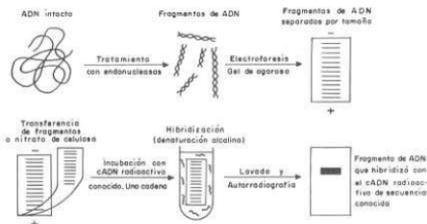


Fig. 1. Esquema del procedimiento seguido para producir fragmentos en el ADN con el uso de enzimas de restricción (endonucleasas) y manera de identificar al fragmento que contiene la porción de ADN que se desea estudiar.

La técnica permite identificar la presencia de un gen anormal, ya sea por su análisis directo o por la liga de un fragmento de un tamaño específico con un gen determinado.

La identificación de individuos homocigotos o heterocigotos para la anemia africana ejemplifica el análisis directo del gen. La enzima *Mst II* reconoce la secuencia CCTGAG en el ADN (Cuadro I) y el gen normal que codifica para las cadenas beta de la hemoglobina tiene tres secuencias de estas que producen dos fragmentos al romperse, uno de 1.15 kb de tamaño y el otro de 0.2 kb (Cuadro II). La secuencia intermedia involucra al sexto codón (Cuadro I) que normalmente es GAG y la mutación responsable de la hemoglobina S, ocurre precisamente en ese codón que cambia a GTG y por ello la enzima *Mst II*, sólo reconoce dos sitios en el ADN procedente de sujetos homocigotos para la anemia africana y produce un sólo fragmento de restricción de 1.35 kb de tamaño (Cuadro II), en lugar de los dos normales. El individuo heterocigoto, con un gen normal y otro anormal, tendrá tres fragmentos de distinto tamaño: el gen normal produce uno de 1.15 kb y otro de 0.2 kb y el anormal uno de 1.35 kb. Esto permite realizar el diagnóstico intrauterino temprano en el

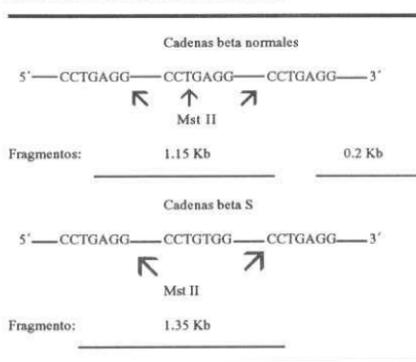
\* Académico titular

embarazo analizando células fetales procedentes de vellosidades coriónicas o cultivo de líquido de amniocentesis.

**Cuadro I.** SECUENCIA PARCIAL DE AMINOÁCIDOS DE LAS CADENAS BETA DE LA HEMOGLOBINA NORMAL Y DE LA S. SE INCLUYEN LOS CODONES QUE CODIFICAN PARA ESTOS AMINOÁCIDOS Y EN LA PRIMERA LÍNEA SE ENCUADRA LA SECUENCIA DE BASES RECONOCIDA POR LA ENZIMA Mst II.

	Posiciones		
Cadena beta	5	6	7
Normal codones:	CCT	GAG	GAG
aminoácidos:	Prolina	Ac. Glutámico	Ac. Glutámico
S codones:	CCT	GTG	GAG
aminoácidos:	Prolina	Valina	Ac. Glutámico

**Cuadro II.** FRAGMENTOS DE RESTRICCIÓN PRODUCIDOS POR LA ACCIÓN DE LA ENZIMA Mst II SOBRE CADENAS BETA NORMALES Y S.



El diagnóstico por asociación del gen que produce una enfermedad y un fragmento de restricción de un tamaño específico se ejemplifica en la figura 2 que se refiere a la talasemia. Dos individuos heterocigotos para esta enfermedad producen fragmentos de dos tamaños distintos al tratarse con la enzima Pvu II, uno de 14.0 kb y el otro de 11.5 kb. Un primer producto con talasemia mayor tiene sólo el fragmento de 14.0 kb lo que indica que el gen de la talasemia viaja (esta ligado) en el cromosoma que produce este fragmento. Ello permite realizar el diagnóstico prenatal de un producto subsecuente ya que el producto normal tendría un sólo fragmento de 11.5 kb

de longitud, el heterocigoto dos fragmentos, igual que los padres, y el producto con talasemia mayor sería igual al hermano afectado.



LA ENZIMA Pvu II PRODUCE UN FRAGMENTO DE GLOBINA INCLUYENDO AL GEN BETA DE LA HB, QUE PUEDE SER DE 11.5 KB O DE 14.0 KB.

Fig. 2 Diagnóstico prenatal de betatalasemia. El hecho que el hermano afectado tenga sólo el fragmento de 14.0 kb, indica que en este fragmento va el gen de la betatalasemia y por tanto, el feto también estará enfermo.

**Reacción en cadena de la polimerasa.** La otra tecnología que revolucionó la práctica de la biología molecular y que se ha usado para el diagnóstico de enfermedades genéticas es la reacción en cadena de la polimerasa (RCP) descrita por Saiki y cols en 1985.<sup>3</sup> Esta técnica consigue la amplificación enzimática de segmentos específicos de ADN genómico, iniciada mediante el empleo de oligonucleótidos *ad hoc*, llamados en inglés "primers". Involucra tres pasos: 1) desaturación por calor del molde inicial de ADN de dos cadenas; 2) unión del oligonucleótido (una cadena) con el segmento complementario de ADN y extensión de la reacción con polimerasa del ADN. La especificidad del procedimiento está determinada por la selección del oligonucleótido diseñado para hibridizar con una porción de ADN. La especificidad del procedimiento está determinada por la selección del oligonucleótido diseñado para hibridizar con una porción de ADN adyacente a la secuencia que desea amplificarse. Ciclos sucesivos de amplificación duplican cada vez el número de copias producidas que aumentan de manera exponencial. De manera típica el procedimiento es capaz de amplificar una copia de ADN hasta 1000 millones de veces. En la actualidad mediante el empleo de la polimerasa Taq del ADN que es termoestable, se ha logrado automatizar el procedimiento.<sup>4</sup>

Las ventajas obvias del RCP son que disminuye de manera considerable el tamaño de la muestra que debe obtenerse para estudiar directamente el ADN, ya que en el curso de un día es posible amplificar numerosas veces el segmento deseado de ADN. La porción amplificada puede someterse a la acción de enzimas de restricción y estudiar el número y tamaño de fragmentos que producen, o bien para realizar estudios de la

secuencia de bases del gen que interesa investigar. Hoy día es factible identificar con exactitud cual es la alteración en la secuencia de bases de un gen en particular. Esta tecnología se ha empleado para el diagnóstico de muchas enfermedades hereditarias<sup>5</sup> y usaremos como ejemplo el caso de la deficiencia en glucosa-6-fosfato dehidrogenasa eritrocítica (G-6-PD), en que tenemos alguna experiencia personal.

Hasta 1989 se habían descrito alrededor de 400 variantes de G-6-PD, todas diferentes entre sí.<sup>6</sup> Las dos más comunes son la A+ y la A-, ambas presentes en el 20 y 10% de africanos negros, respectivamente. Se caracterizan por tener una movilidad electroforética mayor que la normal a pH alcalino y la A- por tener 20% de la actividad enzimática normal por lo que los sujetos con esta variante pueden tener crisis de anemia hemolítica aguda cuando consumen ciertos medicamentos como la primaquina, alimentos como las habas o tienen infecciones virales diversas.

Hasta hace muy poco tiempo el criterio utilizado para catalogar a las variantes de G-6-PD como diferentes, era su cinética enzimática. Recientemente se empezaron a investigar con la tecnología descrita en el presente trabajo y se pudo comprobar que algunas variantes consideradas como diferentes eran en realidad idénticas.<sup>7</sup> Las variantes Matera del Sur de Italia, la Bética de España y la Alabama del Sur de Estados Unidos eran en realidad idénticas a la A-, que tiene adenina en lugar de guanina en el nucleótido 202 y guanina en lugar de adenina en el nucleótido 376.

En vista de lo anterior y que en México se han descrito algunas variantes muy similares a la A-<sup>8-10</sup> en cuanto a actividad enzimática y movilidad electroforética se refiere, se decidió reestudiarlas. Originalmente se consideraron como diferentes a ella y entre sí por diversos criterios bioquímicos que se detallan en el Cuadro III. La variante Castilla tenía una utilización elevada de deamino NADP y estabilidad baja al calor, la G-6-PD D. F. tenía una Km para G6P baja, y la Tepic una Km elevada para NADP y un Ki para NADPH también elevado. Se envió una muestra de cada una de ellas al laboratorio del doctor E. Beutler en La Jolla, California (donde se caracterizó inicialmente del gen la G-6-PD Tepic) quien al secuenciar las porciones relevantes del gen que codifica para la G-6-PD, previa amplificación por RCP, encontró que las tres variantes estudiadas eran idénticas a la africana A-.<sup>11</sup>

La caracterización inicial de las variantes mencionadas se realizó en laboratorios con mucha experiencia en el campo. Parece obvio que a pesar de ello existió un grado moderado de variabilidad en la caracterización bioquímica de estas variantes, lo que dicho sea de paso se ha demostrado también en muchas otras, por lo que habrá que esperar el paso del tiempo para conocer cuantas de las 400 descritas son en realidad diferentes a las demás. No se conoce la explicación de este

fenómeno, pero posiblemente intervinieron factores como la edad de las muestras al estudiarse, distintos grados de proteólisis y/o desnaturalización y diferencias en los reactivos comerciales utilizados.

**Cuadro III. CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS QUE DIFERENCIARON ORIGINALMENTE A LAS VARIANTES A-, CASTILLA, D. F. Y TEPIC DE LA G-6-PD ERITROCÍTICA.**

Características	A-	Castilla	D.F.	Tepic
Utilización Deamino NADP	55	71	53	62
Km G6P	50	50	23	48
Km NADP	4	4	5	9
Ki NADPH	13	7	-	20
Estabilidad al calor	normal	baja	normal	normal

La última reflexión que me gustaría hacer, es que la G-6-PD A- parece ser relativamente común en México señalando la importancia que tuvo la inmigración africana en nuestro país. Esto coincide con otras investigaciones realizadas por nosotros en que se demuestra que en las costas del país la proporción de genes africanos en algunos sitios es en la actualidad superior al 40%<sup>12</sup> y en las grandes urbes varía del 3 al 11 por ciento.<sup>13</sup>

## Referencias

- Pauling L, Itano H, Singer S, Wells I. Sickle cell anemia, a molecular disease. *Science* 1949; 110:543-548.
- Ingram V. Gene mutations in human haemoglobin: The chemical difference between normal and sickle cell haemoglobin. *Nature* 1954; 180:326-328.
- Saiki R, Scharf S, Faloona F, Mullis K, Horn G, Erlich H, Arnheim N. Enzymatic amplification of beta globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 1985; 230:1350-1354.
- Kogan S, Doherty M, Gitschier J. An improved method for prenatal diagnosis of genetic diseases by analysis of amplified DNA sequences. *N Eng J Med* 1987; 317:985-990.
- Reiss J, Cooper D. Application of the polymerase chain reaction to the diagnosis of human genetic disease. *Hum Genet* 1990; 85:1-8.
- Beutler E, Yoshida A. Genetic variation of glucose-6-phosphate dehydrogenase: a catalog and future prospects. *Medicine* 1988; 67:311-334.
- Beutler E. Glucose-6-phosphate dehydrogenase: New perspectives. *Blood* 1989; 73:1397-1401.
- Lisker R, Pérez R, Zavala C, Navarrete J, Wessels M, Yoshida A. A glucose-6-phosphate dehydrogenase Gd(-) Castilla variant characterized by mild deficiency associated with drug induced hemolytic anemia. *J Lab Clin Med* 1977; 90:754-759.

9. Lisker R, Pérez R, Rave V, Yoshida A. Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa Gd(-) Distrito Federal. Nueva variante asociada a deficiencia enzimática y anemia hemolítica ocasional. *Rev Invest Clin* 1981; 33:209-211.
10. Lisker R, Pérez R, Beutler E. A new glucose-6-phosphate dehydrogenase variant, Gd(-) Tepic, characterized by moderate enzyme deficiency and mild episodes of hemolytic anemia. *Hum Genet* 1985; 69:19-21.
11. Beutler E, Kuhl W, Ramírez E, Lisker R. Some Mexican glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PD) variants revisited. *Hum Genet*. En prensa.
12. Lisker R, Babinsky V. Admixture estimates in nine Mexican Indian groups and five east coast localities. *Rev Invest Clin* 1986; 38:145-149.
13. Lisker R, Ramírez E, Pérez R, Granados J, Babinsky V. Gene frequencies and admixture estimates in four Mexican urban centers. *Hum Biol* 1990. En prensa.

---

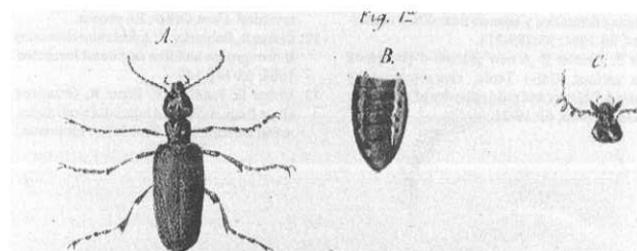
---

#### Estudio de las sanguijuelas:

Siguiendo la costumbre de la época, en nuestro país se despertó el interés de conocer las características de las sanguijuelas de México en relación al procedimiento de extracción de la sangre, la práctica de su aplicación y los cambios que se pueden apreciar en las diferentes especies empleadas en el país. Que las especies mejor conocidas en la época, son las que se podían obtener en el Valle de México y que no dejaban de tener algunos inconvenientes (como lesiones importantes en el sitio de la succión) comparadas con las de Tehuacán y las de Querétaro, en las cuales a más de ser inofensivas, permitían determinar con bastante precisión la cantidad de sangre que cada una de ellas podía extraer. A continuación se describen las tres especies empleadas en México, con sus características, tomadas de los documentos originales (pag. 672, 694, 697).

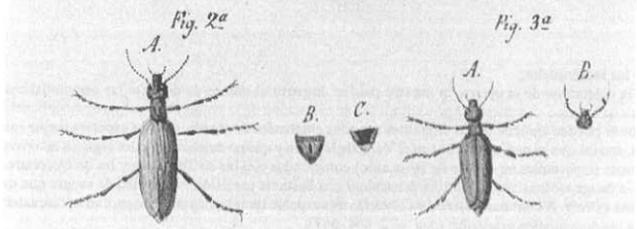
---

---



*Cantarida eucera.*

- A. Hembra.  
 B. Parte superior del abdomen  
 C. Cabeza del macho.



*Cantarida quadrinervata.*

- A. Hembra.  
 B. Parte superior del ultimo anillo del abdomen  
 C. Parte inferior del mismo.

*Lytta oboesa.*

- A. Hembra.  
 B. Cabeza del macho.

Estudio de los doctores A. Herrera y G. Mendoza, publicado en *Gaceta Médica de México* el sábado 1° de septiembre de 1866 en el que se hace la descripción de tres Cantáridas:

*Eucera*: vive en los alrededores de México, Jilotepec y Huachinango etc. Se recolecta de julio a septiembre entre los chayotillos y la calabaza.

*Guadrinervata*: Se le encuentra en Pachuca, Real del Monte, Mineral del Chico, etc. Sobre el garbancillo y se recolecta en los mismos meses.

*Oboesa*: Se le encuentra en Atotonilco el Grande sobre la *Ypomoa variabilis*? vulgarmente conocida como "quiebra plato".