

La incorporación de las pruebas moleculares en la práctica de la salud pública*

Mario Henry Rodríguez,** Héctor Gómez-Dantés,*** Luis Juárez Figueroa****

Resumen

La salud pública ha evolucionado como disciplina en paralelo a los avances tecnológicos y científicos de las disciplinas básicas. El campo de la biología molecular ha proveído a la salud pública con técnicas de laboratorio más sofisticadas y herramientas diagnósticas más refinadas que permiten profundizar en el estudio de la historia natural de las enfermedades, identificar las poblaciones en riesgo, diagnosticar las patologías de manera más temprana y limitar el daño asociado a un diagnóstico tardío. El espacio de acción de las técnicas modernas de biología molecular se ubica en la detección y medición de las estructuras moleculares asociadas al proceso patológico, la identificación genotípica de agentes patógenos, el grado de exposición, el efecto sobre estructuras específicas y la susceptibilidad individual y poblacional. En este trabajo se describen sus aplicaciones y se señalan los límites y riesgos en su aplicación en el campo de la salud pública.

Palabras clave: Epidemiología molecular, diagnóstico, tamizaje, riesgo

Summary

Public Health has evolved in accordance with basic scientific and technologic advances. Molecular biology has provided sophisticated laboratory techniques and fine diagnostic tools that are being exploited in the area of Public Health in order to deepen our knowledge of the natural history of diseases, identify populations at risk, diagnose infectious process and different pathologies in the early stages of the illness and limit the damage produced by a late diagnosis. The modern molecular techniques provide a promising insight into the identification and measurement of molecular structures linked to the pathological process, the genotypic identification of infectious agents, the level of exposure and the susceptibility at individual as well as population levels. This paper describes its applications in the area of Public Health and highlights its limits and potential risks.

Key words: Molecular epidemiology, diagnosis, screening, risk

*Este trabajo fue presentado en la Academia Nacional de Medicina en el Seminario Internacional sobre Epidemiología Molecular en Abril 17 de 1996

**Director del Centro de Investigaciones sobre Enfermedades Infecciosas, Instituto Nacional de Salud Pública (CISEI/INSP)

***Jefe del Departamento de Infectología, Centro de Investigaciones sobre Enfermedades Infecciosas, Instituto Nacional de Salud Pública (CISEI/INSP)

****Jefe del Departamento de Infección e Inmunidad del Centro de Investigaciones sobre Enfermedades Infecciosas, Instituto Nacional de Salud Pública (CISEI/INSP)

Correspondencia y solicitud de sobretiros: Centro de Investigación sobre Enfermedades Infecciosas, INSP, Av. Universidad Núm. 655, Sta. María Ahuacatlán. 62508 Cuernavaca, Morelos, México, Tel. (01-73) 11-01-11.

Introducción

De manera reciente el abordaje de los determinantes etiológicos de las enfermedades ha sido conceptualizado desde dos puntos de vista y filosofías distintos. Por una parte los estudios de tipo poblacional proponen a los factores del entorno ambiental como los elementos capitales en el desarrollo de la enfermedad. Aunque se reconoce la participación de los factores intrínsecos de los individuos y de los agentes patógenos, la dificultad para estimarlos permite hacer caso omiso de ellos sin que repercuta en la estimación del riesgo aportado por los factores ambientales. Por el contrario, el enfoque que priva en la mayoría de las investigaciones biomédicas considera al agente causal del proceso patológico en forma aislada o lo vinculan sólo con algunos aspectos del huésped — como la susceptibilidad — y sin tomar en cuenta los otros factores que condicionan la adquisición de la enfermedad. Aunque ambas estrategias contribuyen al conocimiento del proceso salud-enfermedad, sus enfoques reduccionistas representan un obstáculo para mejorar la práctica de la salud pública, área en la que se integra una compleja red de factores ambientales, sociales, económicos y biológicos.

La salud pública es una disciplina en constante evolución al estudiar patrones cambiantes de morbilidad y mortalidad en las poblaciones; integrar los rápidos avances en las áreas clínicas y diagnósticas e incorporar los novedosos métodos estadísticos y computacionales. Sin duda alguna, el vertiginoso avance de la biología molecular — acompañado por el desarrollo de técnicas de laboratorio más sofisticadas y de un mayor refinamiento de las herramientas diagnósticas — nos permite profundizar en el estudio de la historia natural de las enfermedades, identificar las poblaciones en riesgo, diagnosticar las patologías de manera más temprana y limitar el daño asociado a un diagnóstico tardío.

El espacio de acción de las técnicas modernas de biología molecular se ubica en la detección y medición de las estructuras moleculares asociadas al proceso patológico. La capacidad de detectar marcadores específicos a nivel molecular permite obtener mejor resolución en la medida de la alteración o condicionante investigada, como serían la identificación genotípica de agentes patóge-

nos, el grado de exposición, el efecto sobre estructuras específicas y susceptibilidad individual y poblacional. Su aplicación permite elucidar mecanismos biológicos de inducción de enfermedad, precisar las variantes de la misma enfermedad y medir el riesgo. Por ejemplo, en las enfermedades metabólicas hereditarias y en procesos cancerosos se pueden detectar el aumento o la alteración de las moléculas que son resultado de una deficiencia enzimática o del mismo gene que codifica para esa enzima. También es posible identificar la presencia de agentes tóxicos — productos resultantes de la infección con agentes patógenos — o la presencia episomal o integrada de agentes virales. Una aplicación de estas técnicas de biología molecular, — originada de estudios inmunológicos, y que fueron el primer de inicial trasplante de órganos — ha sido la detección de marcadores moleculares asociados a la predisposición, susceptibilidad o resistencia a enfermedades específicas (Sox, 1994), con lo cual se abren nuevas posibilidades para ser aplicadas en la medicina preventiva.

Incorporación a la salud pública

Las aportaciones asociadas al avance tecnológico y el desarrollo de las pruebas moleculares han revolucionado una de las prácticas cotidianas en la salud pública: la búsqueda de casos. Hasta hace poco, los epidemiólogos se dedicaban a contabilizar los casos de enfermedades y analizar los factores de riesgo sin evidencias duras de la enfermedad o la exposición. Es gracias a estas nuevas tecnologías que el epidemiólogo puede ahora conocer a pacientes infectados — asintomáticos o subclínicos —, en los primeros estadios de la enfermedad, o inclusive intentar la identificación de fragmentos del material genético con imputaciones en la causalidad de ciertas patologías. (Glass, 1986)

En muchos aspectos, la aplicación de las pruebas moleculares es muy semejante a otras pruebas diagnósticas empleadas en medicina. Sin embargo, el grado de sofisticación tecnológica empleada en las pruebas moleculares las ha convertido en pruebas más precisas en la detección y medición del trastorno identificado con la enfermedad. Por ejemplo, la tendencia principal en la

utilización diagnóstica del PCR ha sido la de simplificar los métodos y combinar el PCR con las técnicas inmunológicas del tipo ELISA para posibilitar su automatización. Este desarrollo tecnológico logrará que las pruebas moleculares sean más expeditas y permitan analizar mayor número de muestras. Como resultado, el PCR —que hasta hace poco se había reservado exclusivamente al laboratorio de investigación— será cada vez más usado para el diagnóstico clínico y en los estudios en salud pública orientados al diagnóstico en grupos de población. (Wilson, 1993)

Entre las áreas que han encontrado una gran aplicación de las pruebas moleculares se cuentan la detección de agentes infecciosos, el diagnóstico de trastornos metabólicos o la identificación de patologías a través de moléculas marcadoras (Cuadro I). En el diagnóstico de agentes patógenos infecciosos sobresalen la investigación de los mecanismos moleculares involucrados en la variación temporal, la frecuencia y severidad de las enfermedades infecciosas que ha llevado a la identificación y caracterización de las clonas, cepas e inclusive los genes responsables. Por ejemplo, la identificación de la *Legionella pneumophila* ligada a la

emergencia de la enfermedad de los legionarios; la expresión del biogrupo *aegyptius* del *Haemophilus influenzae* en la génesis de la Fiebre Hemorrágica Brasileña; la asociación del serotipo 0157:H7 de la *E. coli* a las colitis hemorrágicas y al síndrome urémico hemolítico; los estudios de genética molecular en las poblaciones de *Neisseria meningitidis* o las diferencias geográficas y temporales de los serotipos y serogrupos de *Streptococcus pneumoniae*, son todos ejemplos muy claros de la contribución de las pruebas moleculares a la salud pública. (Mussner, 1996; Sniadack, 1995)

En la identificación de los trastornos del metabolismo, las pruebas moleculares abren una enorme oportunidad para estudiar la predisposición genética y el diagnóstico oportuno de padecimientos de baja frecuencia o que requieren de un manejo especializado y temprano. Un ambicioso campo de acción de las pruebas moleculares es la aplicación de marcadores genéticos en el diagnóstico prenatal, el tamizaje de poblaciones para explorar la predisposición a susceptibilidad a ciertas enfermedades y en este punto los antígenos de histocompatibilidad (HLA) son un ejemplo muy claro de su aplicación. (Sox, 1994)

Cuadro I. Usos seleccionados de las técnicas moleculares en Salud Pública

Diagnóstico	Agentes infecciosos: VIH, VPH, <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>E. coli</i> 0157:H7, <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , etc. Trastornos metabólicos y genéticos: alteraciones cromosómicas (amniocentesis), Hemoglobina S., fenilcetonuria, deficiencias hereditarias de coagulación, porfirias, etc. Marcadores moleculares: alfa-fetoproteína, Antígeno carcino-embriónico (ACE) para cáncer de colon
Tamizaje	Bancos de sangre: detección de múltiples infecciones como VIH, hepatitis, sífilis, enfermedad de Chagas, etc. Poblaciones: Antígeno prostático específico (APE), VPH
Epidemiología	Global: cepas de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> Regional: serotipos del virus dengue Local: <i>Plasmodium falciparum</i> Susceptibilidad: Antígenos de histocompatibilidad (HLA) Rutas de expansión: <i>Vibrio cholerae</i> 0139

Uno de los mayores impactos de las pruebas moleculares en salud pública se ubica en los bancos de sangre (NIH, 1995) donde el tamizaje y el análisis de los paquetes sanguíneos permite la identificación de sífilis, VIH, los virus de la hepatitis, paludismo y demanda su futura aplicación para la detección de la enfermedad de Chagas y otras infecciones emergentes. Estas pruebas son las que nos garantizan la seguridad de estos productos biológicos y aquí se encuentra un amplio futuro para la investigación.

La globalización, emergencia y resurgencia de algunos problemas de salud demanda un conocimiento más preciso de la dinámica de transmisión de los agentes infecciosos a nivel nacional, regional e internacional. La circulación de cepas de *Micobacterium tuberculosis* resistentes a los fármacos tradicionales (Hermans, 1995), la expansión de *Plasmodium falciparum* resistente a la cloroquina (Dietze, 1995), la circulación de cepas más virulentas de los virus dengue (Rico-Hesse, 1990) y de las infecciones emergentes son problemas de salud pública que se verán beneficiados por los avances en las pruebas moleculares que distingan a las poblaciones en riesgo, predigan el riesgo de transmisión, identifiquen su potencial epidémico y permitan prevenir su diseminación.

Bondades y limitaciones

El dilema en cuanto a su espacio de acción surge cuando se trata de la investigación biomédica y la investigación epidemiológica en contraste con su aplicación en la atención de la salud. En ambas existen fundamentos—no siempre coincidentes—

que rigen su relevancia. En el área de la investigación biomédica básicas las pruebas buscan ampliar el conocimiento científico con respecto a las bases moleculares y las determinantes causales del proceso patológico. De manera correspondiente, las pruebas moleculares deben considerarse como un medio y no un fin, además de un componente indispensable en la investigación de corte epidemiológico (Cuadro II). Sus restricciones o limitaciones naturales están determinadas por su confiabilidad, su costo, su disponibilidad para una aplicación masiva, y sobre todo por su superioridad con respecto al resto de las pruebas disponibles. Por otro lado, un elemento medular en la aplicación de las pruebas en salud pública es su capacidad para identificar de manera correcta a los individuos que están expuestos, infectados o enfermos por la condición que la prueba desea medir y su certeza para descartar a los que no están afectados. Esta característica será más exigente de acuerdo con la magnitud del problema de salud y deberá ser más refinada en la medida en que el problema sea más raro, severo o prevenible.

No cabe duda que lo sofisticado de los métodos y las técnicas involucrados en el desarrollo de las pruebas moleculares garantiza, cada vez más, su sensibilidad y especificidad aunque muchas veces se acompañan de costos muy elevados por lo delicado de los reactivos y materiales, así como de la tecnología de apoyo necesarios para su elaboración. Dicha dependencia tecnológica limita su uso a niveles masivos y no pocas veces se convierte en un problema al privilegiar su acceso a poblaciones con mejores estándares económicos o facilidad de acceso a los servicios de atención públicos y privados.

Cuadro II. Características de las técnicas moleculares

Ventajas	Desventajas
mayor precisión	- costos elevados
alta sensibilidad	- requiere tecnología sofisticada
alta especificidad	- personal capacitado
posibilidad de automatización	- preparación y conservación especial de las muestras
permite el análisis masivo	
resultados confiables y rápidos	

De manera ideal, dichas pruebas debieran proporcionar información sobre el nivel de exposición y la magnitud del daño esperado. Dependiendo del problema estudiado esta relación puede ir de la presencia y ausencia del marcador -como lo podría ser en las pruebas de genética molecular— hasta el gradiente de exposición que permita predecir la presencia de la enfermedad o diagnosticarla de manera temprana para tratarla y oportunamente limitar el daño ocasionado. Estas variables son de enorme relevancia cuando se trata de aplicar las pruebas moleculares a nivel poblacional, campo en el que se comprueba su verdadero beneficio.

La experiencia en la práctica clínica y epidemiológica nos alerta sobre el abuso y la excesiva inclinación por depender de una prueba de esta naturaleza cuando su precisión —medida a la vuelta de los años— no es la adecuada. Como ejemplo, basta señalar la experiencia con el antígeno carcinoembrionario (CEA) para la detección del cáncer de colon curable por resección quirúrgica. Dichas glicoproteínas se producen en grandes cantidades asociada a la presencia de cáncer de colon y puede medirse de manera precisa en sangre. Sin embargo, la producción del CEA no está ligada a la presencia del tumor sino a fallas en la excreción y eliminación, así como en su producción aumentada por otros tejidos no malignos lo que limita el beneficio adjudicado al confirmar su bajo impacto en la sobrevivencia, en la tasa de curación, sus altos costos económicos y familiares, su poca sensibilidad, especificidad y precisión. (Moertel, 1993).

Esto nos lleva de manera natural a reflexionar sobre el impacto del uso de este tipo de pruebas. Una de las virtudes adjudicadas a ellas, es que permite realizar un diagnóstico temprano de las alteraciones fisiopatológicas ligadas a un problema de salud o identificar la exposición antes de que se manifiesten los cambios, con lo cual se puede mejorar la evolución de la enfermedad o la condición en estudio. Esto es parcialmente cierto, puesto que su utilidad depende de la disponibilidad de las medidas terapéuticas que puedan ser aplicadas en el momento oportuno. En muchas ocasiones lo único que se logra con el diagnóstico temprano es que el individuo se conozca expuesto, infectado o enfermo de una condición—probablemente

fatal— para la cual no existe un tratamiento efectivo. El desarrollo de muchas de estas pruebas se dirige a la detección de patologías de esta naturaleza. En otras circunstancias, la realización de la prueba puede representar un riesgo en sí misma, por ejemplo, la amniocentesis, o el tratamiento propuesto termina por alterar la calidad de vida debido a una cirugía con efectos secundarios como la resección de próstata.

La utilización de pruebas de tipo molecular para la realización de tamizajes debe mantenerse dentro del mundo de lo plausible, puesto que lo descubierto por el tamizaje puede resultar más nocivo que beneficioso. Descubrir un problema para el cual no se tiene respuesta; correr el riesgo de que un individuo se identifique como enfermo cuando no lo está; notificarle a un enfermo de una enfermedad curable para sólo prolongar su agonía son aspectos que deben revisarse en el momento en que una prueba surge como una promesa o una esperanza para identificar y tratar un problema de salud. El ejemplo del cáncer de próstata y el antígeno prostático específico (PSA) puede ser muy ilustrativo.

El cáncer de próstata es muy frecuente en los hombres de más de 50 años. Cerca del 30% tiene evidencia histológica de neoplasia aunque la mortalidad es muy baja. Su evolución clínica no es muy agresiva y el tratamiento quirúrgico deriva en molestias quizá más importantes que las ocasionadas por la neoplasia. La prueba de tamizaje es la búsqueda de PSA con una sensibilidad del 80% es decir que 20% de los enfermos es falso negativo— y su presencia bien puede indicar hipertrofia o prostatitis cuyos tratamientos son diferentes a los de un proceso neoplásico maligno. Este marcador, además, no predice la evolución ni el estadio de la neoplasia por lo que su uso es muy limitado. (Woolf, 1995).

Vale la pena mencionar algunas consideraciones que son comunes a la mayoría de las aplicaciones tecnológicas en medicina y que en este caso son aplicables a las pruebas moleculares. La tecnología, como fenómeno global, ha sobresimplificado la práctica de la medicina. De manera inicial, la conceptualización del paciente en forma integral se redujo a la conceptualización de la enfermedad como entidad propia. La identificación del agente

causal y/o la alteración bioquímica permitió sustituir estos por el concepto de enfermedad, lo que trajo consigo el peligro latente de sobreutilizar estas pruebas en forma irracional para el tamizaje y exploración diagnóstica, sobre todo cuando éstas son inadecuadas o en el peor de los casos innecesarias. (Cassell, 1993).

Las pruebas moleculares funcionan como agentes tecnológicos de cambio al influir sobre el costo de los servicios de salud ofrecidos a la población. La facilidad con que estas pruebas pueden realizarse y automatizarse mejoran el diagnóstico de un problema de salud y precisan la magnitud del mismo. Dicho conocimiento, por su parte, puede influir en el establecimiento de prioridades de atención. Por otra, dado que los costos suelen ser más elevados que otras técnicas tradicionales y que su uso está, por el momento, limitado a centros de atención con la capacidad tecnológica adecuada, la incorporación de estos métodos puede ser causa de una mayor inequidad en la distribución del gasto y con ello la distribución de los servicios de salud a la población en general. (Yang, 1993).

Dicho todo esto, es innegable que el avance de la tecnología biomédica abre nuevas rutas y horizontes para la atención médica. De la medicina curativa a la medicina preventiva, es cada vez más cercano el ya antiguo deseo de poder predecir la aparición y evolución de enfermedades. Con la aplicación de las pruebas moleculares, en conjunción con los conocimientos y aplicaciones derivados de la genética, filogenia, inmunología, sistemas geográficos de información y modelos computacionales, para nombrar unos pocos de los ya existentes, es posible que pronto podamos establecer grupos poblacionales en riesgo, las rutas probables de expansión de las epidemias y la temporabilidad y alcance de los brotes.

Referencias

- Cassell JE. The Sorcerer's Broom, Medicines Rampant Technology, *Hastings Center Report*, 1993;23:32-39.
- Dietze R, Perkins M, Boulou M, Luz F, Reller B, Corey R. The Diagnosis of *Plasmodium falciparum* Infection Using a New Antigen Detection System, *Am J Trop Med Hyg*, 1995;52:45-49.
- Glass IR. New Prospects for Epidemiologic Investigations, *Science* 1986;234:951-955.
- Hermans P, Messadi F, Guebrevaxber H, *et al.* Analysis of the Population Structure of *Mycobacterium tuberculosis* in Ethiopia, Tunisia, and the Netherlands: Usefulness of DNA Typing for Global Tuberculosis Epidemiology, *J Infect. Dis.*, 1995;171:1504-1513.
- Moertel GC, Fleming RT, Macdonald SJ. An Evaluation of the Carcinoembryonic Antigen (CEA) test for monitoring patients with Resected Colon Cancer, *JAMA*. 1993; 270:943-947.
- Musser MJ. Molecular Population Genetic Analysis of Emerged Bacterial Pathogens: Selected Insights, *Emerging Infectious Diseases*, Vol. 1996;2:1-17.
- NIH Consensus Development Panel, Infectious Disease Testing for Blood Transfusions, *JAMA*, 1995;274:1374-1379.
- Rico-Hesse R. Molecular Evolution and Distribution of Dengue Viruses Type 1 and 2 in Nature, *Virology* 1990;174:479-483.
- Sniadack HD, Schwartz B, Lipman H, *et al.* Potential interventions for the prevention of childhood pneumonia: geographic and temporal differences in serotype and serogroup distribution of sterile site pneumococcal isolates from children- implications for vaccine strategies, *Pediatr Infect Dis J*. 1995;14:503-510.
- Sox C H. Preventive Health Services in Adults, *New Engl J Med*. 1994;330:1589-1595.
- Wilson SM, Mc Nerney R, Nye PM, Faussett G, Stalker NG, Voller A. Progress toward a simplified polymerase chain reaction and its application to diagnosis of tuberculosis. *J Clin. Microbiol.* 1993;31:776-782.
- Woolf HS. Screening for Prostatic Cancer with Prostate-Specific-Antigen. An examination of the evidence., *New Engl J Med*. 1995;333:1401-1405.
- Yang BM. Medical technology and inequity in health care: the case of Korea, *Health Policy and Planning*; 1993;8:385-393.