



DOI: <https://doi.org/10.23857/dc.v9i3.3515>

Ciencias de la Salud
Artículo de Investigación

*Avances en el diagnóstico molecular de enfermedades genéticas pediátricas:
herramientas de precisión para una atención personalizada en la niñez*

*Advances in the molecular diagnosis of pediatric genetic diseases: precision tools
for personalized childhood care*

*Avanços no diagnóstico molecular de doenças genéticas pediátricas: ferramentas
de precisão para atendimento infantil personalizado*

Andrea Elizabeth Mendoza Alvear^I
mdandreamendozaalvear@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0000-8129-6410>

Sylvia Liliana Guerrero Lana^{II}
silvia_guerreroec@yahoo.com
<https://orcid.org/0000-0002-3164-4090>

Nicolás Stiven Garzón Gordillo^{III}
nicolasg20202@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0008-0477-224X>

Claudia Elizabeth Vásquez Velásquez^{IV}
clauvasquez7@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-1027-1608>

Correspondencia: mdandreamendozaalvear@gmail.com

***Recibido:** 19 de marzo de 2023 ***Aceptado:** 12 de mayo de 2023 * **Publicado:** 18 de agosto de 2023

- I. Médico de la Universidad del Azuay; Medico General Investigador Independiente; Azuay, Ecuador.
- II. Doctor en Ciencias de la Salud en el Trabajo de la Universidad de Guadalajara; Médico Pediatra de la Universidad Técnica de Loja; Docente de la Universidad Central del Ecuador; Quito, Ecuador.
- III. Médico y Cirujano General de la Fundación Universitaria Juan N. Corpas; Médico Hospitalario Pediatría Hospital Universitario Clínica San Rafael; Bogotá, Colombia.
- IV. Médica de la Universidad Católica de Cuenca; Médico General en funciones Hospitalarias en el Hospital de especialidades José Carrasco Arteaga; Cuenca, Ecuador.

Resumen

El diagnóstico genético se refiere a las técnicas de genética molecular, métodos de ADN/ARN que permiten determinar alteraciones en las secuencias nucleotídicas de algunos genes, las que llamamos mutaciones. Para poder aplicar estas técnicas al diagnóstico clínico es necesario conocer los genes y la relación entre una determinada mutación y una enfermedad. Entre las patologías en que el pediatra puede obtener ayuda de la genética molecular, se encuentran: las enfermedades infecciosas, con la identificación de agentes bacterianos y virales, luego están las enfermedades genéticas. El principal objetivo de la genética clínica es lograr el diagnóstico preciso e identificar la etiología de la enfermedad que presenta el paciente. Después de la toma de muestra, la calidad del DNA no disminuye considerablemente respecto a las procesadas antes de dichos días, aunque la concentración de DNA en los resultados sí se ve disminuida de manera considerable. Para el transporte de grandes distancias que requieran la congelación de muestras de sangre total. Las ventajas de la RT-PCR son fundamentalmente para presentar un resultado objetivo, reproducible y con una alta sensibilidad; estas características la convierten en el complemento ideal para los métodos clásicos de diagnóstico de leucemias agudas. La confirmación del diagnóstico de NF1, facilitaría la identificación de las mutaciones en el afectado, útiles para diagnósticos pre-natales y pre-implantacionales de su futura descendencia. La secuenciación masiva aporta nuevo conocimiento genético, permite realizar el diagnóstico molecular de un número mayor de pacientes, explicando la variabilidad fenotípica. Se aplicó una metodología descriptiva, con un enfoque documental, es decir, revisar fuentes disponibles en la red, con contenido oportuno y relevante para dar respuesta a lo tratado en el presente artículo.

Palabras Claves: ADN, diagnóstico, genética molecular, leucemia, gen, RT-PCR, NF1, mutación, distrofia muscular, herencia.

Abstract

Genetic diagnosis refers to molecular genetic techniques, DNA/RNA methods that make it possible to determine alterations in the nucleotide sequences of some genes, which we call mutations. In order to apply these techniques to clinical diagnosis, it is necessary to know the genes and the relationship between a certain mutation and a disease. Among the pathologies in which the pediatrician can obtain help from molecular genetics are: infectious diseases, with the identification of bacterial and viral agents, then there are genetic diseases. The main objective of clinical genetics is to achieve an accurate diagnosis and identify the etiology of the disease that the patient presents. After taking the

sample, the quality of the DNA does not decrease considerably compared to those processed before said days, although the concentration of DNA in the results does decrease considerably. For the transport of long distances that require the freezing of whole blood samples. The advantages of RT-PCR are fundamentally to present an objective, reproducible result with high sensitivity; these characteristics make it the ideal complement to the classic methods of diagnosis of acute leukemias. Confirmation of the diagnosis of NF1 would facilitate the identification of mutations in the affected person, useful for prenatal and preimplantation diagnoses of their future offspring. Mass sequencing provides new genetic knowledge, allows molecular diagnosis of a larger number of patients, explaining phenotypic variability. A descriptive methodology was applied, with a documentary approach, that is, reviewing sources available on the network, with timely and relevant content to respond to what was discussed in this article.

Keywords: DNA, diagnosis, molecular genetics, leukemia, gene, RT-PCR, NF1, mutation, muscular dystrophy, heredity.

Resumo

O diagnóstico genético refere-se às técnicas de genética molecular, métodos de DNA/RNA que permitem determinar alterações nas sequências de nucleotídeos de alguns genes, que chamamos de mutações. Para aplicar essas técnicas ao diagnóstico clínico, é necessário conhecer os genes e a relação entre uma determinada mutação e uma doença. Dentre as patologias em que o pediatra pode obter ajuda da genética molecular estão: as doenças infecciosas, com a identificação de agentes bacterianos e virais, depois existem as doenças genéticas. O principal objetivo da genética clínica é conseguir um diagnóstico preciso e identificar a etiologia da doença que o paciente apresenta. Após a coleta da amostra, a qualidade do DNA não diminui consideravelmente em relação aos processados antes desses dias, embora a concentração de DNA nos resultados diminua consideravelmente. Para o transporte de longas distâncias que requerem o congelamento de amostras de sangue total. As vantagens do RT-PCR são fundamentalmente apresentar um resultado objetivo, reprodutível e com alta sensibilidade; essas características o tornam o complemento ideal para os métodos clássicos de diagnóstico de leucemias agudas. A confirmação do diagnóstico de NF1 facilitaria a identificação de mutações na pessoa afetada, útil para diagnósticos pré-natais e pré-implantação de seus futuros descendentes. O sequenciamento de massas fornece novos conhecimentos genéticos, permite o diagnóstico molecular de um maior número de pacientes, explicando a variabilidade fenotípica.

Aplicou-se uma metodologia descritiva, com abordagem documental, ou seja, revisando fontes disponíveis na rede, com conteúdo oportuno e relevante para responder ao que foi discutido neste artigo.

Palavras-chave: DNA, diagnóstico, genética molecular, leucemia, gene, RT-PCR, NF1, mutação, distrofia muscular, hereditariedade.

Introducción

Las enfermedades neurológicas en niños y adolescentes abarcan un amplio número de afecciones, (agudas o crónicas), de estructuras del sistema nervioso central y/o periférico. Dichas afecciones obedecen a un gran número de causas: infecciosas, genéticas, traumas, metabólicas y degenerativas, entre otras. La Organización Mundial de la Salud (OMS), estima que estas “8.000 enfermedades afectan al 7% de la población mundial. Según el informe de la Organización Europea de Enfermedades Raras (Eurordis), el 80% de las enfermedades raras son de origen genético” se lee en (Santillan, et al., 2015)

La estrategia de diagnóstico de enfermedades heterogéneas consiste en iniciar el estudio del gen más frecuentemente mutado asociado a la enfermedad mediante secuenciación Sanger. “Si se detecta la variante patogénica, se confirma el diagnóstico molecular “ (Santillan, et al., 2015). De no ser así, se continúa con la secuenciación de los genes más frecuentemente mutados hasta detectar o no el gen y la mutación causante de la enfermedad.

La Neurogenética es la rama de la Genética, que se ocupa del diagnóstico genético en Neurología, se relaciona con las bases y mecanismos de la diferenciación y función del sistema nervioso. Estas se originan por el defecto en uno o más genes que afectan la diferenciación y función del neuroectodermo y sus derivados. Se clasifican en dos grupos:

- a) Las resultantes de la disfunción de un gen expresado en el neuroectodermo (por ejemplo, trastornos en la migración neuronal, enfermedades neuromusculares, algunas lesiones estáticas del Sistema Nervioso.
- b) Aquellas en que la disfunción neurológica no se debe directamente a la expresión de un gen del Sistema Nervioso, sino a la disfunción de un gen no expresado, (no sintetiza la proteína

funcional). “Se destacan en este grupo los defectos enzimáticos de los errores congénitos del metabolismo” (Zaldívar, et al., 2012)

El diagnóstico genético, dentro del método clínico en Neurología, está relacionado con el diagnóstico etiológico, base primordial para poder ofrecer un asesoramiento genético de calidad a las familias con uno o más miembros afectados. Cada condición requiere exámenes especiales, muchos de ellos costosos y no disponibles en centros de atención pública de salud. A continuación se explicara qué alternativas tienen disponible para su diagnóstico en la niñez

Metodología

Esta investigación está dirigida al estudio del tema “*Avances en el Diagnóstico Molecular de Enfermedades Genéticas Pediátricas: Herramientas de Precisión para una atención personalizada en la Niñez*”. Para realizarlo se usó una metodología descriptiva, con un enfoque documental, es decir, revisar fuentes disponibles en la red, cuyo contenido sea actual, publicados en revistas de ciencia, disponibles en Google Académico, lo más ajustadas al propósito del escrito, con contenido oportuno y relevante desde el punto de vista científico para dar respuesta a lo tratado en el presente artículo y que sirvan de inspiración para realizar otros proyectos. Las mismas pueden ser estudiadas al final, en la bibliografía.

Resultados

El diagnóstico genético se refiere a las técnicas de genética molecular, métodos de ADN/ARN que “permiten determinar alteraciones en las secuencias nucleotídicas de algunos genes, las que llamamos mutaciones” (Paz, 2003). Para poder aplicar estas técnicas al diagnóstico clínico es necesario conocer los genes y la relación entre una determinada mutación y una enfermedad. Al solicitar un examen de genética molecular, se realiza para una enfermedad específica, ya que la técnica es válida para un gen determinado o incluso, se busca un punto específico dentro del gen, que es conocido por estudios previos como un lugar más frecuente de presentar la alteración.

Entre las patologías en que el pediatra puede obtener ayuda de la genética molecular, se encuentran: las enfermedades infecciosas, con la identificación de agentes bacterianos y virales, luego están las enfermedades genéticas. “Los laboratorios a nivel mundial ofrecen el estudio para alrededor de treinta

alteraciones, contando estudios de algunos oncogenes importantes en las leucemias y otros tumores” (Paz, 2003).

Las patologías en que se usa en forma más frecuente el diagnóstico por técnicas de genética molecular son (Paz, 2003):

- Fibrosis quística: el diagnóstico con test del sudor sigue siendo eficiente y suficiente, existiendo algunos casos dudosos, donde el estudio molecular puede ser de gran utilidad como lo es también para determinar con mayor propiedad el pronóstico. El gen de la fibrosis quística es muy grande y se han encontrada numerosas diferentes mutaciones, (en los estudios de rutina se estudian las veinte más frecuentemente descritas).
- Hiperplasia Suprarrenal Congénita: se utiliza para el diagnóstico prenatal en aquellas mujeres que tienen un hijo previo con HSRC. Si existe la mutación se puede realizar tratamiento in útero, impidiendo la virilización de los fetos XX, y permitiendo un tratamiento precoz en el período de recién nacido.
- Acondroplasia/hipocondroplasia: son enfermedades que se encuentran en el mismo locus génico pero de diferente pronóstico. A diferencia de otras enfermedades, “el 99% de los pacientes con acondroplasia tiene la mutación en el mismo punto” (Paz, 2003). El diagnóstico clínico no siempre es tan claro en los recién nacidos.
- Deleción del cromosoma Y: es importante realizar la secuencia del cromosoma Y en los casos de pacientes de sexo femenino con algunos grados de virilización, y en los infrecuentes casos de hombres XX. Es muy importante en las pacientes con Síndrome de Turner y virilización.
- Distrofia muscular de Duchenne y Becker, la Distrofia Miotónica, el Síndrome de Xq frágil, el déficit de α_1 - Antitripsina y la Hemocromatosis.

La citogenética molecular, técnica que utiliza pequeñas sondas específicas de DNA marcadas con fluorescencia que hibridiza con los cromosomas metafásicos o con el DNA interfásico. Se le llama FISH (*Fluorescence in situ hybridization*), es usada para detectar pérdidas de segmentos cromosómicos o re-arreglos no visibles al microscopio. Estas sondas hibridizarán o no a los cromosomas y en algunos casos, la presencia o ausencia de la marca fluorescente hará el diagnóstico.

Es la técnica de “elección para el diagnóstico del Síndrome de Di George, Síndrome Velocardiofacial, Síndrome de Williams y Síndrome de Lisencefalia” (Paz, 2003). Es “positivo más o menos en el 50%

de los pacientes con Síndrome de Prader Willi y Síndrome de Angelman” se lee en la misma cita de este párrafo. Es útil como diagnóstico rápido de trisomías en recién nacidos en que deben tomarse decisiones urgentes, en la detección de re-arreglos oncogénicos en enfermedades hematológicas malignas, es muy valorada.

Generalidades de genética

El principal objetivo de la genética clínica es lograr el diagnóstico preciso e identificar la etiología de la enfermedad que presenta el paciente. Para alcanzarlo, se utilizan múltiples métodos diagnósticos clínicos y moleculares, algunos conceptos básicos en genética se describen a continuación (Lores, Pachajoa, Ochoa, & Restrepo, 2023):

- a) Cromosoma: estructura compuesta de ADN empaquetado y ubicado en el núcleo de la célula. El ser humano tiene 23 pares de cromosomas.
- b) ADN (ácido desoxirribonucleico): molécula que contiene la información genética de todos los seres vivos. Se define por 2 cadenas compuestas de 4 nucleótidos (adenina, citosina, guanina y timina) enrolladas en una estructura de doble hélice.
- c) ARN (ácido ribonucleico): similar al ADN, pero compuesta de una sola cadena de 4 nucleótidos (adenina, citosina, guanina y uracilo). Existen múltiples tipos de ARN tales como: mensajero, ribosomal, de transferencia, entre otros.
- d) Locus: localización física específica de un gen u otra secuencia de ADN en un cromosoma.
- e) Gen: unidad física básica de la herencia. Secuencia de ADN que codifica las instrucciones para formar proteínas u otros transcritos funcionales. “Cada gen está compuesto por: exones (segmentos codificantes), intrones (segmentos no codificantes) que se encuentran intercalados con los exones, y otros elementos reguladores como promotores” (Lores, Pachajoa, Ochoa, & Restrepo, 2023).
- f) Alelo: son las 2 o más versiones de un gen. Cada individuo hereda 2 alelos de cada gen, uno del padre y otro de la madre, ubicados en la misma localización dentro del par de cromosomas. Si los 2 alelos son iguales, el individuo es homocigoto para este gen. Si los alelos son diferentes, el individuo es heterocigoto para este gen.
- g) Variante: cambio en la secuencia de ADN. El término mutación se utiliza para indicar que el cambio en la secuencia es causante de alteración.

- h) Variante en el número de copias (CNV): cambio en el número de copias de un gen particular de un individuo. Si se gana una copia adicional de material genético, se utiliza el término duplicación, al contrario, se utiliza el término delección.

La mayoría de las enfermedades son el resultado de la combinación de una carga genética y una ambiental, pero la contribución de cada una de estas partes puede ser mayor o menor. Generalmente, propone (Lores, Pachajoa, Ochoa, & Restrepo, 2023):

“A medida que la manifestación clínica se presenta de manera más temprana, es más probable que la carga genética predomine, aunque se describen factores como bajo peso al nacer o pre-maturez que pueden ser desencadenantes de manifestaciones tempranas en ausencia de causa genética”

Consideraciones que permiten el manejo adecuado de las muestras sin afectar la calidad del DNA

Previo a la extracción de DNA, la sangre completa puede almacenarse temporalmente a temperatura ambiente hasta 24 horas o en el refrigerador (2-8 °C) durante tres a cuatro días, tiempo idóneo para procesarse la muestra, principalmente para estudios de metilación, en caso de no contar con un refrigerador, se pueden alcanzar estas condiciones con uso de hielo simple y una hielera; sin embargo, para estudios de secuenciación es utilizable hasta 15 días a temperatura ambiente.

Después de la toma de muestra, la calidad del DNA no disminuye considerablemente respecto a las procesadas antes de dichos días, aunque la concentración de DNA en los resultados sí se ve disminuida de manera considerable. Para el transporte de grandes distancias que requieran la congelación de muestras de sangre total, se lee en (Cruz, Espinoza, & Medina, 2021)

“deben utilizarse recipientes de polipropileno en lugar de vidrio, y de preferencia dividir las en alícuotas para evitar el congelamiento y descongelamiento de la muestra, ésta es otra opción en la obtención de la capa leucocitaria, pero requerirá de resguardo a -70o y sólo será viable por un par de días. Se recomienda que en sangre total extraída en tubos con EDTA, citrato o heparina no se almacenen más de un día a temperatura ambiente o cinco días a 4 °C, y en caso de requerir una concentración máxima de DNA se recomienda una estancia de sólo tres días a 2-8 °C”

Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA)

Es la neoplasia más frecuente en pediatría. Las distintas alteraciones genético-moleculares le confieren a esta entidad diferentes formas de presentación y respuesta al tratamiento, que reflejan su diversidad biológica. Los re-arreglos moleculares más importantes para LLA por su valor pronóstico y frecuencia “son los genes de fusión BCR/ ABL, MLL/AF4, E2A/PBX1 y TEL/AML1, que corresponden respectivamente a las siguientes translocaciones: t(9;22)(q34;q11), t(4;11)(q21;q23), t(1;19) (q23;p13) y t(12;21)(p13;q22)” (Alonso, Gallego, Alfaro, Rossi, & Felice, 2006). La mayor sensibilidad de las técnicas de biología molecular permite detectar un mayor número de casos que por citogenética convencional, optimizando la estratificación en grupos de riesgo y la adecuación del tratamiento.

La necesidad de la incorporación de los estudios de los distintos re-arreglos fueron estudiados por Retro-transcripción seguida de Reacción en Cadena de la Polimerasa (RT-PCR). BM (RT-PCR). “Las ventajas de la RT-PCR son fundamentalmente para presentar un resultado objetivo, reproducible y con una alta sensibilidad; estas características la convierten en el complemento ideal para los métodos clásicos de diagnóstico de leucemias agudas” (Alonso, Gallego, Alfaro, Rossi, & Felice, 2006).

Utilidad del análisis mutacional para el diagnóstico de la Neuro-fibromatosis tipo 1 (NF1) en niños menores, en el diagnóstico diferencial y en el diagnóstico prenatal o pre-implantacional

El análisis mutacional es útil en niños pequeños con historia familiar negativa y que llenan parcialmente los criterios de diagnóstico NIH, en niños con presentaciones atípicas, en el diagnóstico diferencial o en el diagnóstico genético prenatal o preimplantacional. Aunque los criterios de diagnóstico NIH son útiles para la detección de NF1, “algunos de éstos se manifiestan a una edad superior a los 3 años y están presentes al nacimiento sólo en algunos pacientes” (Gómez & Batista, 2015)

El diagnóstico definitivo, usando dichos criterios puede ser realizado, para la mayoría entre los cuatro y cinco años. “Aproximadamente 46% de los casos esporádicos de NF1, no cumplen con dichos criterios a la edad de un año” (Gómez & Batista, 2015). Seis o más manchas café con leche se presentan desde el nacimiento, “en más de 99% de los casos con NF1 y este criterio es el más frecuente y altamente sugestivo de la enfermedad” mismo autor citado en este párrafo.

Cabe destacar que “cerca del 1% de los niños que manifestarán la enfermedad a edades superiores, podrían presentar un número inferior a seis manchas, lo cual no ayudaría en el diagnóstico clínico” (Gómez & Batista, 2015), porque ese porcentaje de los niños menores de 5 años sin NF1, manifestó más de dos manchas. Otros infantes, cuyos padres no muestran signos de NF1, tienen mancha café con leche, sin otras manifestaciones.

Un análisis mutacional exhaustivo permitiría identificar mutaciones en un poco más de 92% de pacientes que cumplen con los criterios conocidos hasta ahora. Este análisis, permitirá:

“la confirmación del diagnóstico de NF1, facilitaría la identificación de las mutaciones en el afectado, útiles para diagnósticos pre-natales y pre-implantacionales de su futura descendencia debido a que sólo 50% de ésta tiene la probabilidad de tener la enfermedad. Mientras que el resultado del diagnóstico pre-natal podría sugerir a la pareja la interrupción terapéutica del embarazo, el diagnóstico pre-implantacional podría evitarlo” (Gómez & Batista, 2015).

Estos estudios mutacionales apoyarían, “el diagnóstico diferencial de la NF1 respecto a síndromes como Noonan, LEOPARD, síndrome cardiofaciocutáneo, Costello, Legius, entre otros” (Gómez & Batista, 2015). Estas condiciones son similares en estas manifestaciones: dificultad de aprendizaje, defectos cardíacos, dimorfismo facial, baja estatura, macrocefalia y anomalías de la piel. Por ejemplo, pacientes con fenotipo leve, cuyos síntomas se corresponden con los criterios para NF1, podrían padecer el síndrome Legius, caracterizado por mutación en SPRED1.

Distrofias musculares (DM)

Son un grupo heterogéneo de enfermedades, se caracterizan por pérdida y debilidad de la masa muscular. La etiología de la distrofia muscular se ha relacionado con mutaciones en genes “que codifican para proteínas del sarcolema, subsarcolema, citoplasmáticas, sarcoméricas, de matriz extracelular asociadas a glicosilación y retículo sarcoplásmico” (Luna, et al., 2016), lo que dañaría directamente a la función de la fibra muscular.

El diagnóstico molecular de esos tipos de distrofia se ha comenzado a realizar recientemente. Se realiza un escaneo inicial por PCR multiplex, el cual posteriormente se complementa con el

diagnóstico por MLPA (MRC Holland). “La técnica de PCR multiplex permite analizar deleciones de los exones 1, 3, 4, 6, 8, 12, 13, 17, 19, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 50, 51, 52 y 60 del gen DMD” (Luna, et al., 2016). En este estudio, el ADN de los pacientes fue analizado en dos reacciones de PCR multiplex usando los oligonucleótidos descritos previamente por Chamberlain (exones 4, 8, 12, 17, 19, 44, 45, 46, 48 y 51) y Beggs (exones 1, 3, 6, 13, 43, 47, 50, 52 y 60).

Para la reacción de PCR se utilizó el kit Multiplex PCR de Qiagen. Los amplicones obtenidos “fueron analizados en geles de poliacrilamida al 6%, usando como referencia los amplicones obtenidos a partir de la PCR multiplex de la muestra de un individuo sano” (Luna, et al., 2016). El diagnóstico de LGMD consiste en el análisis de proteínas en biopsias musculares a través de técnicas como inmunofluorescencia indirecta y Western blot, para el caso de disferlina, por citometría de flujo en monocitos de sangre periférica.

Para Inmunofluorescencia indirecta se tomaron biopsias musculares de los cuádriceps o deltoides. Las muestras se refrigeraron en isopentano enfriado con nitrógeno líquido para realizar cortes milimétricos de espesor. Se detalla este proceso en (Luna, et al., 2016):

“Los cortes se sometieron a tinciones histológicas de rutina como hematoxilinaeosina y tricrómico modificado por Engel y Cunningham para evaluar la integridad del tejido e identificar cambios distróficos. El inmunomarcaje de las criosecciones se realizó utilizando anticuerpos monoclonales dirigidos contra 14 proteínas de músculo y, posteriormente, se utilizó un segundo anticuerpo marcado con un fluorocromo para evidenciar la unión anticuerpo-proteína con la ayuda de un microscopio de fluorescencia Olympus BX60. El análisis semicuantitativo de la expresión de proteínas por IFI se reportó como expresión normal +++, disminución ++, disminución severa + y ausencia –“.

Desde el Diagnóstico Genético hacia el Diagnóstico Genómico. Indicaciones de estudio

Estudios de un solo gen: se recomienda este tipo de estudios en las siguientes condiciones:

- Cuando la enfermedad se produce por mutaciones específicas producidas en un solo gen, por ejempl, “Acondroplasia producida en el 99% de casos por las mutaciones c.1138G>A (p.Gly380Arg) o c.1138G>C (p.Gly380Arg) del gen FGFR3” (Santillan, et al., 2015).
- Cuando la enfermedad tiene heterogeneidad mínima, (la fibrosis quística producida por el gen CFTR).

- Cuando la metodología molecular a utilizar es diferente de secuenciación Sanger, para estudio de expansiones en “Ataxias espinocerebelosas o síndrome de X Frágil, MLPA en Distrofia muscular de Duchenne/Becker o estudios de metilación en síndromes de Prader Willi o Angelman” (Santillan, et al., 2015).

Paneles de secuenciación masiva paralela: se utilizan preferentemente en las siguientes condiciones, enfermedad con heterogeneidad genética: se incluyen la mayor parte de enfermedades mendelianas en las diferentes especialidades médicas (Santillan, et al., 2015):

“enfermedades cardiogenéticas: miocardiopatías trastornos del ritmo cardiaco, aneurisma de aorta; cáncer familiar, enfermedades neurogenéticas: ataxias, Charcot Marie Tooth, distrofias musculares, paraplejia espástica, distonías, Parkinson; discapacidad intelectual, epilepsias; trastornos mitocondriales de regulación nuclear, trastornos metabólicos, hipoacusias, trastornos visuales, displasias esqueléticas, etc. En esta categoría se incluyen trastornos solapantes ubicados en el diagnóstico diferencial de la patología genética, tal es el caso de miocardiopatías”.

Exoma: recomendado en patología con extrema heterogeneidad, en pacientes con dos o más fenotipos no relacionados o ausencia de características clínicas claves al momento de la prueba. En este diagnóstico, todavía deben desarrollarse estrategias de análisis más eficiente, las diferencias de cobertura que tiene el exoma y la interpretación de resultados.

Conclusión

El principal objetivo de la genética clínica es lograr un diagnóstico preciso e identificar la etiología de la enfermedad que presenta el paciente. Para alcanzarlo, se utilizan múltiples métodos diagnósticos clínicos y moleculares, no siempre económicos y disponibles en los Hospitales o Centros de Salud Pública, ocasionando que esta tecnología no logre estar lo suficientemente disponible a la necesidad de pacientes y grupo familiar.

La existencia de varios métodos moleculares y herramientas bioinformáticas aunadas a una estrategia metodológica bien planificada para la identificación de mutaciones, como en Neuro-fibromatosis tipo 1, permitirán su identificación sin dificultad alguna. Se sugiere considerar los siguientes aspectos: análisis de la región codificante y las regiones limítrofes exón-intrón, aplicar métodos para detectar

Avances en el diagnóstico molecular de enfermedades genéticas pediátricas: herramientas de precisión para una atención personalizada en la niñez

variables puntuales y gruesas, usar la secuencia de referencia genómica apropiada, evaluar los antecedentes e historia familiar del paciente, el tipo de mutación a determinar y evitar la aplicación paralela de técnicas para ahorrar costos. Es preferible aplicarlas de manera paulatina hasta encontrar la mutación, siempre buscado el bienestar del niño.

El campo de las enfermedades renales pediátricas ha evolucionado en los últimos años, en gran parte atribuible a la aplicación de los estudios moleculares y nuevas tecnologías genéticas. El síndrome nefrótico es una entidad frecuente en pediatría. Se determina que es un síndrome nefrótico resistente a esteroides porque no presenta remisión completa posterior a un ciclo de prednisolona entre 4-8 semanas. Existen múltiples causas genéticas monogénicas de esta enfermedad, las cuales se pueden dividir en aisladas y sindromáticas de acuerdo con su asociación a manifestaciones extra-renales.

Como padres es conveniente estar alerta a síntomas clínicos que pueden indicar enfermedades genéticas: retrasos en el desarrollo, retrasos mentales o defectos congénitos. Las dismorfologías y los problemas de crecimiento pueden aproximar un trastorno genético. El componente genético debe tenerse en cuenta como parte del diagnóstico diferencial, más aún cuando el paciente manifiesta diferentes aspectos clínicos que en conjunto indican la presencia de un síndrome (como un retraso mental, rasgos faciales anormales o defectos cardíacos).

Algunos rasgos físicos como ojos caídos u ojos bien separados entre sí, dedos cortos o grandes estaturas pueden aparentar ser únicos o distinguirse de otras personas. Estos simples rasgos no necesariamente sugieren la presencia de una enfermedad genética para el médico de cabecera, un especialista en genética puede evaluarlos y ayudar a detectar una afección heredada. Los avances en la genética en lo relacionado con las enfermedades permite el desarrollo de pruebas de diagnóstico precoz, nuevos tratamientos o intervenciones para evitar la manifestación de la enfermedad o para minimizar su gravedad.

Referencias

- Alonso, C., Gallego, M., Alfaro, E., Rossi, J., & Felice, M. (2006). Caracterización molecular en leucemia linfoblástica aguda pediátrica en una institución hospitalaria. *Hematología*, *10*(1), 8 - 12. Retrieved 2023, from <https://www.sah.org.ar/revistasah/numeros/vol10.n1.8.12.pdf>
- Cruz, J., Espinoza, S., & Medina, E. (2021). mportancia del adecuado protocolo de extracción de DNA. *Alergia Asma Inmunologia Pediatrica*, *30*(2), 50 - 53. doi:doi: 10.35366/101642
- Gómez, M., & Batista, O. (2015). Neurofibromatosis tipo 1 (NF1) y su diagnóstico molecular como estrategia del diagnóstico diferencial y a edades tempranas. *Revista médica de Chile*, *143*(10). doi:http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872015001000011
- Lores, J., Pachajoa, H., Ochoa, V., & Restrepo, J. (2023, Julio 21). Importancia de la genética en la nefrología pediátrica. *Andes Pediatrica*. doi:http://dx.doi.org/10.32641/andespediatr.v94i4.4498
- Luna, A., Suarez, R., Cortez, H., Ruano, L. E., Tapias, Y., & Marquez, L. (2016). Diagnóstico molecular de enfermedades neuromusculares en el Instituto Nacional de Rehabilitación, situación actual y perspectivas. *Investigación en Discapacidad*, *5*(1), 9 - 26. Retrieved 2023, from https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/88898891/ir161b-libre.pdf?1658596447=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DDiagnóstico_molecular_de_enfermedades_ne.pdf&Expires=1691786157&Signature=bofNFw0vpYAD0OtIpt4r3eASqSLpOCCEnznvxEPjPAX-2Q9aJjBQtij
- Paz, C. (2003). ¿En que enfermedades puede hoy el pediatra apoyarse en el diagnóstico genético? *Revista chilena de pediatría*, *74*(2), 206 - 207. Retrieved from https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0370-41062003000200010&script=sci_arttext
- Santillan, S., Álvarez, D., Buades, C., Romera, A., Perez, L., Valero, D., & Cantalapiedra, D. (2015). Diagnóstico Molecular de Enfermedades Geneticas. *Revista Medica. Clinica. Condes*, *26*(4), 458 - 469. Retrieved 2023, from

https://web.archive.org/web/20190416230156id_/https://core.ac.uk/download/pdf/82190013.pdf

Zaldívar, T., Garófalo, N., Vargas, J., Rojas, E., Novoa, L., Bermúdez, V., & Martín, I. (2012). Frecuencia de algunas enfermedades genéticas en Neuropediatría. *Revista Cubana de Pediatría*, 84(4). Retrieved 2023, from http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0034-75312012000400005&script=sci_arttext&tlng=en

©2023 por los autores. Este artículo es de acceso abierto y distribuido según los términos y condiciones de la licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0) (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>).