

# Ciencia e Investigación

Primera revista argentina de información científica / Fundada en enero de 1945



## CÁNCER HEREDITARIO: LA CONFIANZA EN EL CONOCIMIENTO VENCE LAS DUDAS

■ Leandro Gutiérrez, Fernanda S. Jalil y  
Angela R. Solano

## GENÉTICA DE LA AUDICIÓN EN ARGENTINA: ESCUCHANDO AL GENOMA

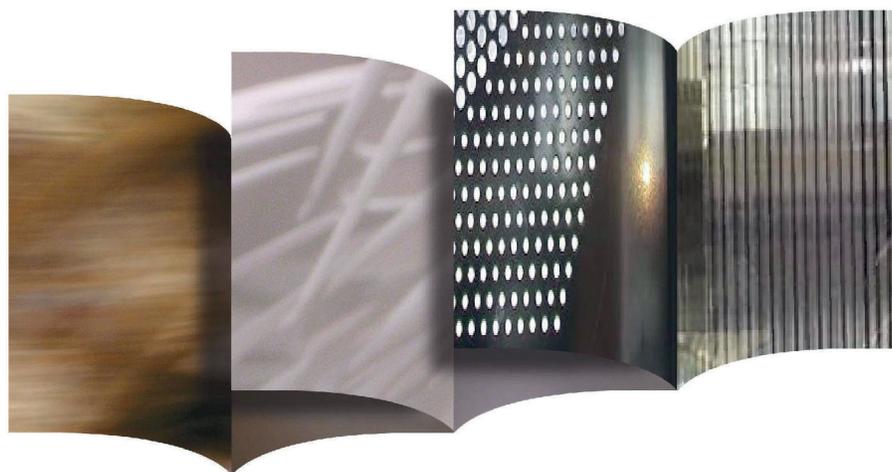
■ Paula Buonfiglio, Ana Belén Elgoyhen y  
Viviana Dalamon

## EL CURIOSO CASO DE LAS DEMENCIAS NEURODEGENERATIVAS: ¿UN CULPABLE O VARIOS SOSPECHOSOS?

■ Matías D. Niikado, Tatiana Itzcovich y  
Ezequiel I. Surace

## ANÁLISIS DE UNA COHORTE ARGENTINA AFECTADA CON DISTROFIA MUSCULAR MEDIANTE SECUENCIACIÓN DE EXOMA COMPLETO

■ Micaela Carcione, Leonela Luce,  
Chiara Mazzanti y Florencia Giliberto



## Desarrollo y gestión de proyectos científicos y tecnológicos innovadores

FUNINTEC es una organización sin fines de lucro creada por la Universidad de San Martín cuyo objetivo es promover y alentar la investigación, el desarrollo tecnológico y la transferencia de conocimientos a los sectores público y privado, sus empresas y en particular a las PyMES.

Dentro de los alcances previstos por la Ley de Innovación Tecnológica, funciona como vínculo entre el sistema científico tecnológico y el sector productivo.

**CONTACTO:**  
[www.funintec.org.ar](http://www.funintec.org.ar)

Fundación  
Innovación  
y Tecnología



**FUNINTEC**

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN

TOMO 70 N°3  
2020

**EDITOR RESPONSABLE**

Asociación Argentina para el Progreso de las Ciencias (AAPC)

**COMITÉ EDITORIAL**

**Editor**

Luis A. Quesada Allué

**Co-Editora**

Nidia Basso

**Editores asociados**

Dr. Gerardo Castro

Dra. Lidia Herrera

Dr. Roberto Mercader

Dra. Alicia Sarce

Dr. Juan R. de Xammar Oro

Dr. Norberto Zwirner

**CIENCIA E INVESTIGACIÓN**

Primera Revista Argentina de información científica.

Fundada en Enero de 1945.

Es el órgano oficial de difusión de La Asociación Argentina para el Progreso de las Ciencias.

A partir de 2012 se publica en dos series, Ciencia e Investigación y Ciencia e Investigación Reseñas.

Av. Alvear 1711, 4° piso,  
(C1014AAE) Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.  
Teléfono: (+54) (11) 4811-2998  
Registro Nacional de la Propiedad Intelectual  
N° 82.657. ISSN-0009-6733.

Lo expresado por los autores o anunciantes, en los artículos o en los avisos publicados es de exclusiva responsabilidad de los mismos.

Ciencia e Investigación se edita on line en la página web de la Asociación Argentina para el Progreso de las Ciencias (AAPC)  
[www.aargentinapciencias.org](http://www.aargentinapciencias.org)

*Rompecabezas de una doble hélice de ADN (Pixabay, licencia libre).*

*Este número de Ciencia e Investigación presenta un grupo particular y, entre sí, muy diferente de enfermedades que son estudiadas y tratadas por diversos especialistas, donde todas comparten la misma base: alteraciones genéticas que se manifiestan con enfermedades en un espectro de áreas médicas muy amplio. La imagen es la analogía perfecta para describir cómo la rama de la ciencia genética representada en la doble hélice del ADN, en la actualidad nos ayuda a completar las piezas de comprensión faltantes de diversas y variadas patologías como los son el Alzheimer, la Sordera, el Cáncer hereditario y las Distrofias Musculares.*



**SUMARIO**

**EDITORIAL**

Genética y Genómica en Salud

**Angela R. Solano y Florencia Giliberto ..... 3**

**ARTÍCULOS**

Cáncer hereditario: La confianza en el conocimiento vence las dudas

**Leandro Gutiérrez, Fernanda S. Jalil y Angela R. Solano ..... 6**

El curioso caso de las demencias neurodegenerativas: ¿Un culpable o varios sospechosos?

**Matías D. Niikado, Tatiana Itzcovich y Ezequiel I. Surace ..... 19**

Genética de la Audición en Argentina: escuchando al genoma

**Paula Buonfiglio, Ana Belén Elgoyhen y Viviana Dalamon ..... 27**

Análisis de una cohorte argentina afectada con distrofia muscular mediante secuenciación de exoma completo

**Micaela Carcione, Leonela Luce, Chiara Mazzanti y Florencia Giliberto ..... 40**

**INSTRUCCIONES PARA AUTORES ..... 49**

*... La revista aspira a ser un vínculo de unión entre los trabajadores científicos que cultivan disciplinas diversas y órgano de expresión de todos aquellos que sientan la inquietud del progreso científico y de su aplicación para el bien.*

**Bernardo A. Houssay**

# Asociación Argentina para el Progreso de las Ciencias

## COLEGIADO DIRECTIVO

Presidente

Dra. Ester Susana Hernández

Vicepresidente

Dra. Ursula Maria Molter

Secretaria

Dra. Alicia María Sarce

Tesorero

Dr. Alberto Antonio Pochettino

Protesorero

Dra. Graciela Noemí Balerio

Miembros Titulares

Dra. Nidia Basso

Dr. Miguel Ángel Blesa

Dra. María Cristina Cambiaggio

Dra. Alicia Fernández Cirelli

Dra. Susana María Gallardo

Dra. María Lidia Herrera

Dr. Mario A.J. Mariscotti

Dr. Luis Alberto Quesada-Allué

Dr. Juan Roberto de Xammar Oro

Miembros Institucionales:

Asociación Argentina de Materiales (SAM):

Dra. Paula Regina Alonso

Asociación Argentina de Ensayos No Destructivos y Estructurales (AAENDE):

Ing. César Gustavo Belinco

Asociación Argentina de Energías Renovables y Ambiente (ASADES):

Dr. Jaime B.A. Moragues

Sociedad Argentina de Genética (SAG):

Dra. Ángela Rosaria Solano

Miembros Fundadores

Dr. Bernardo A. Houssay – Dr. Juan Bacigalupo – Ing. Enrique Butty

Dr. Horacio Damianovich – Dr. Venancio Deulofeu – Dr. Pedro I. Elizalde

Ing. Lorenzo Parodi – Sr. Carlos A. Silva – Dr. Alfredo Sordelli – Dr. Juan C. Vignaux –

Dr. Adolfo T. Williams – Dr. Enrique V. Zappi

AAPC

Avenida Alvear 1711 – 4° Piso

(C1014AAE) Ciudad Autónoma de Buenos Aires – Argentina

[www.aargentinpapciencias.org](http://www.aargentinpapciencias.org)

# GENÉTICA Y GENÓMICA EN SALUD

■ **Angela R. Solano<sup>1,\*</sup> y  
Florescia Giliberto<sup>2,\*\*</sup>**

<sup>1</sup> Miembro Titular, Colegiado Directivo AAPC.

Directora, Genotipificación, Departamento de Análisis Clínicos, CEMIC.

Presidente de la Sociedad Argentina de Genética

<sup>2</sup> Directora, Laboratorio de Distrofinopatías, FFyB UBA. Investigadora adjunta CONICET / Docente Cátedra de Genética, FFyB UBA / Miembro del Instituto INIGEM UBA-CONICET.

E-mail: \* asolano@cemic.edu.ar \*\* gilibertoflor@gmail.com

Es un placer presentar el trabajo de cuatro grupos argentinos de investigadores clínicos en patologías que están asociadas a alteraciones genéticas.

Ante todo, nuestro agradecimiento a los contribuyentes de este número, que debieron escribir sus aportes en plena epidemia de SARS-Covid-2. Esto dificultó las tareas, por las nuevas modalidades de trabajo y ocupaciones, derivadas de una continuada cuarentena. Aun así, el trabajo excelente no deja dudas de la dedicación profesional que siempre los caracteriza.

El gran avance de la genética en los últimos 30 años debe un gran impulso del Proyecto Genoma Humano (Human Genome Project, 1990-2003, NHGRI), tanto por recursos humanos como en la explosión tecnológica que involucró. El conocimiento científico derivado de conocer los 3000 millones de bases del ADN de una célula humana se tradujo en beneficios a la sociedad como la implementación de la medicina de precisión en la práctica médica de las distintas especialidades. Y esto se evidencia en la longevidad del ser humano. Lejos de ser la mejor noticia para muchos gobiernos es un enorme problema, y deseamos q se destinen fondos suficientes para investigación que entre otros hallazgos sea descubierto el gen clave de la inteligencia para implementar un camino de felicidad en vez de un calvario para los años de vida agregados. ¡Cada uno a su Dios se lo pedirá para que sea una realidad bien cercana!

Estos 4 artículo muestran de manera contundente la importancia que los estudios básicos llevados a cabo en laboratorios de investigación son efectivamente una investigación traslacional (en Wikipedia, se define investigación traslacional como: “un esfuerzo para construir sobre la investigación científica básica nuevas terapias, procedimientos médicos o diagnósticos”).

El artículo 1 de Gutiérrez y colaboradores describe los adelantos en implementar los procedimientos preventivos para que una enfermedad como el cáncer hereditario pueda controlarse lo mejor posible. El estudio genético inicial es clave para definir las conductas clínicas aplicando los adelantos metodológicos para el análisis de la secuencia de ADN cuyos resultados son críticos para encontrar un camino decisivo para frenar estas enfermedades neoplásicas. Importante hay que recalcar que en los análisis de enfermedades heredita-

rias resolver el primer caso (caso índice, técnicamente denominado) es clave para el resto de los parientes (no importa el grado o lejano que sea) ya que se determina la predisposición o NO con un análisis 10 veces mas económico y con 100% de certeza, nada menos. El "no" está en mayúsculas porque frecuentemente se olvida la enorme importancia del familiar que no heredó la variante responsable de la enfermedad. Siempre debe tenerse en cuenta la calidad del laboratorio de análisis, crucial para el resultado obtenido.

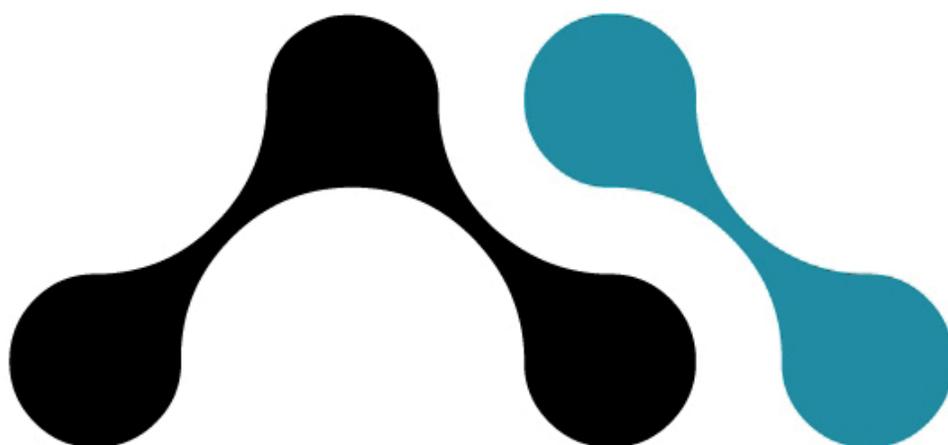
El artículo 2 de Niikado y col. ofrece un panorama del estudio molecular de demencias neurodegenerativas, como por ejemplo la enfermedad de Alzheimer. Si bien al día de hoy no existe una cura, las familias con variantes hereditarias de la enfermedad son candidatas ideales para ensayos clínicos de potenciales drogas terapéuticas. El artículo expone además los casos en los que existen contribuciones de distintos genes, y el ambiente, como desafío en el asesoramiento genético.

El artículo 3 de Carcione y col. está basado en una de las enfermedades hereditarias más frecuentes, la Distrofia Muscular de Duchenne, causada por alteraciones en el gen *DMD*. El trabajo describe la importancia de la detección precoz de la enfermedad y el abordaje molecular utilizado para lograr un diagnóstico diferencial. Existen aproximadamente 50 genes asociados con el desarrollo de distrofias musculares, muchas de ellas presentan síntomas que se solapan haciendo difícil alcanzar un certero diagnóstico basado únicamente en la clínica. Es por ello que los estudios moleculares resultan cruciales para alcanzar un diagnóstico certero. El mismo permite establecer cuáles son los estándares de cuidado específicos para estos pacientes facilitando que alcancen una mejor calidad de vida. Si bien esta severa enfermedad aún no tiene cura, en la actualidad se han desarrollado varias terapias mutación-dependiente, el trabajo explica, además, como la caracterización de la alteración molecular es fundamental para establecer a cuál de estos protocolos terapéuticos aplica cada paciente.

El artículo 4 de Buonfiglio y col. muestra un actualizado resumen de la genética de la audición en la Argentina. El mismo detalla de manera minuciosa, las distintas técnicas y procedimientos utilizados por el laboratorio especializado en Genética de la Audición, en el INGEBI/CONICET para el estudio de pacientes de distintas formas de hipoacusia, así como las implicancias del diagnóstico y sus repercusiones en el tratamiento instaurado y el pronóstico de la patología. El trabajo detalla las distintas formas de identificar, describir y estudiar las variantes genéticas en diversos genes relacionados con la patología. Además, organiza la información, mostrando un algoritmo secuencial para el abordaje multigénico de la hipoacusia, que involucra tanto técnicas rutinarias de biología molecular como estudios de última generación. Por último, el trabajo resume algunos de los resultados del trabajo en el laboratorio analizando más de 600 pacientes con datos novedosos y relevantes en el área.

Agradecemos a cada uno de los autores por el tiempo dedicado a lograr de los trabajos una publicación que pueda difundirse, sin perder la rigurosidad científica acostumbrada con el deseo de que disfruten con la lectura de los cuatro artículos que se presentan, los cuales tratan de enfermedades que nos desvelan por la gravedad y que describen como estos investigadores preocupados desde hace mucho por estas patologías demuestran los avances inimaginables logrados.

Reiteramos entonces el agradecimiento a nuestros lectores por su interés en la revista Ciencia e Investigación y por su contribución para la difusión de estos conocimientos genéticos en enfermedades muy variadas y por ende de un interés muy amplio.



FUNDACION ARGENTINA DE  
**NANOTECNOLOGIA**

(5411) 4518-1715/4518-1716 - 25 de Mayo 1021. C.P. 1650.  
San Martín. Provincia de Buenos Aires. Argentina - [www.fan.org.ar](http://www.fan.org.ar) - [info@fan.org.ar](mailto:info@fan.org.ar)

# CÁNCER HEREDITARIO: LA CONFIANZA EN EL CONOCIMIENTO VENCE LAS DUDAS

Palabras clave: Cáncer hereditario, Genética, Cáncer.  
Key words: Hereditary cancer, Genetics, Cancer.

Este artículo describe la asociación entre genómica y cáncer hereditario y permite comprender la serie de conceptos que ligan estos dos campos de la genética. Explica cuáles son los mecanismos subyacentes y cómo el conocimiento y el manejo de la información relacionada a las variantes genéticas detectadas es importante no sólo en la terapéutica de precisión, sino también en la prevención del desarrollo de este tipo de enfermedades en familiares sanos portadores y el alivio a no portadores que pasan a controles de rutina de la población general.

This article describes the association between genomics and hereditary cancer and provides an understanding of the series of concepts that link these two fields of the genetics. It explains what the underlying mechanisms are and how the knowledge and management of information related to the genetic variants detected is important not only in precision therapy, but also in the prevention of the development of this type of diseases in healthy relative carriers and the relief for the non-carriers who, with this information, will undergo routine population check-ups.

■ Leandro Gutiérrez<sup>1</sup>, Fernanda S. Jalil<sup>1</sup> y Angela R. Solano<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Genotipificación y Cáncer Hereditario, Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas "Norberto Quiro" (CEMIC), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup> Instituto de Investigaciones Biomédicas, CONICET - Universidad de Buenos Aires, Facultad de Medicina, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

E-mail: (\*) asolano@cemic.edu.ar.

## ■ INTRODUCCIÓN

El mundo actual es sin duda alguna deslumbrante y muy diferente del mundo de hace tan sólo 20 años, cuando el fenómeno de la internet era solamente un concepto abstracto que unos pocos conocían, y menos aún comprendían.

Indefectiblemente, la increíble cantidad de información que se produce día a día, y la capacidad de interconexión y comunicación hace que nada pase desapercibido, aunque algunas veces si distorsionado.

El lector se preguntará qué tiene que ver este pequeño párrafo sobre información e interconexión, con el cáncer o la genética; y es que el actual nivel de interconexión, así

como la masiva producción de información viene revolucionando todos los aspectos de la vida del ser humano, no sólo sus aspectos sociales y culturales, sino también los científicos, entre ellos la medicina y la genética.

Los médicos hacen un uso extensivo de la información personal del paciente (historia clínica, examen físico, signos vitales, historia familiar, análisis de laboratorio, etc.) para realizar un diagnóstico o para establecer el riesgo potencial de padecer una enfermedad y desarrollar mecanismos preventivos. En este caso, la revolución tecnológica que inició el proyecto del genoma humano abrió la posibilidad de que los bioquímicos tengan disponible información sobre los genes asocia-

dos a cada enfermedad, llevando el concepto de medicina de precisión a un nivel de práctica de rutina en muchísimos diagnósticos, y se espera en un futuro cercano a la gran mayoría en todas las ramas.

Así que lo invitamos a aprender y comprender conceptos de genética para entender la relación entre los genes y las enfermedades hereditarias. En nuestro caso, los cánceres hereditarios, y cómo el correcto manejo de la información resultado de los análisis genéticos ofrece orientación, no sólo para la toma de decisiones terapéuticas de precisión, sino también en aspectos preventivos. Además, el lector podrá apreciar los riesgos que conlleva el uso de ciertas plataformas de internet que ofrecen análisis genéticos

sin explicar la relevancia de discutir toda esa información bajo el marco del debido asesoramiento clínico-genético.

## ■ ¿QUÉ ES LA GENÉTICA?

...“La vida inteligente sobre un planeta alcanza su mayoría de edad cuando resuelve el problema de su propia existencia”...

Este es el primer párrafo del primer artículo del libro “El gen egoísta” de Richard Dawkins (Dawkins, 1993) y parece adecuada para comenzar a desglosar nuestra pregunta, ya que parte de esa respuesta radica en los genes.

La Genética es la ciencia que estudia y analiza los mecanismos de la herencia (Griffiths, 2009) es decir, estudia los genes, los encargados de transmitir la información genética de padres a hijos. En la actualidad, esta ciencia juega un papel preponderante en la medicina de precisión. Hoy, es posible gracias a las tecnologías disponibles, conocer todos los genes que componen nuestro material genético en pocos días, un aspecto totalmente increíble, ya que la primera secuenciación completa de ADN humano (Proyecto HUGO) tardó poco más de 10 años e incluyó el desarrollo de gran tecnología (Caruz Arcos, 2009), base de los pocos laboratorios proveedores de excelente tecnología como servicios terciarizados en el mundo (la terciarización es una transformación económica y social que consiste en un aumento de las actividades del sector terciario, que llega a ser el ámbito preponderante en la economía).

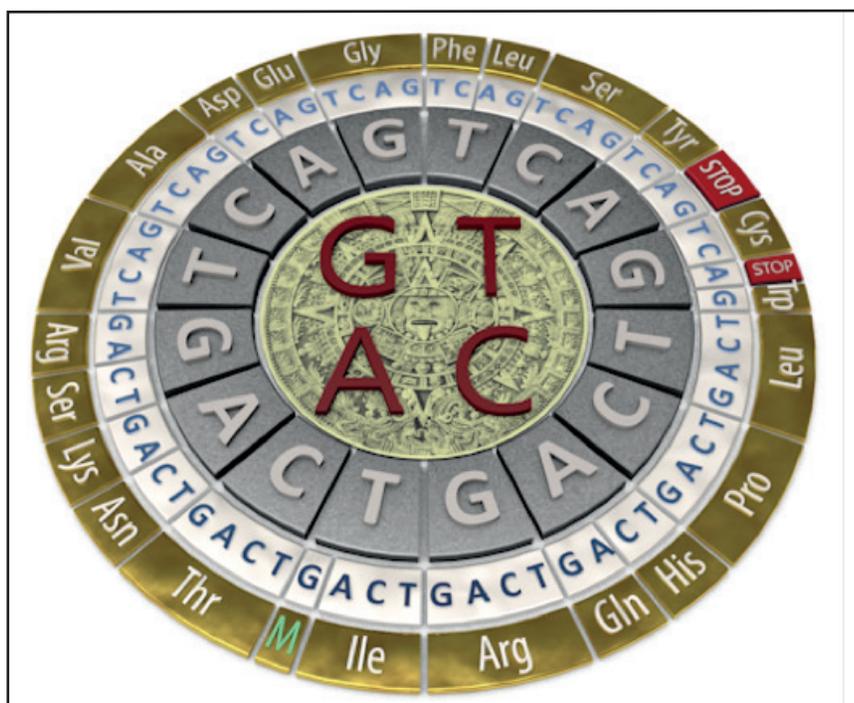
Muchos recordarán el proyecto del genoma humano de 1990, fue un proyecto internacional de investigación científica cuyo objetivo fundamental fue determinar la secuencia de los tres mil millones de

bases nucleotídicas que componen un genoma e identificar y cartografiar los que resultaron en algo más de 20.000 genes (antes del HUGO se estimaban 100.000 genes); publicó sus resultados en el año 2001, y fue concluido en el año 2003, dos años antes de lo programado con una versión final consenso del genoma humano ahorrando un 10% del presupuesto total de este proyecto (International Human Genome Sequencing Consortium, 2001; Venter C, 2001; Hood L, 2013).

La palabra “genoma” define a todo el acervo genético de un ser vivo. Es decir, todos los genes que poseen la información necesaria

para construir y llevar adelante cualquier aspecto funcional necesario de la vida de un ser humano. Esta información, está codificada en una molécula orgánica presente en todas las células del cuerpo y se llama ácido desoxirribonucleico o comúnmente ADN (Lewin B, 2008).

La información codificada en esta molécula se transmite de generación en generación y constituye un sistema universal entre todos los seres vivos del planeta. Como comentario al margen de lo tratado aquí, este aspecto es una de las evidencias que valida la teoría de un origen común de la vida en la Tierra (Mayr, 1982).



**Figura 1:** El código genético son las instrucciones que indican a la célula cómo hacer una proteína específica. Citosina (C), timina (T), guanina (G) y adenina (A) son las "letras" del código del ADN; representan los compuestos químicos que constituyen las bases de nucleótidos del ADN. El código para cada gen combina los cuatro nucleótidos de diferentes maneras para formar "palabras" de tres letras (codones) las cuales especifican qué aminoácidos se necesitan en cada paso de la síntesis de una proteína. En la representación esquemática del código genético, el círculo central representa la primera base nucleotídica del codón, el círculo siguiente la segunda base, el tercer círculo da las opciones posibles para la base de la tercera posición del codón, mientras el círculo más externo define el aminoácido codificado de la combinación de los círculos previos.

Sobre el ADN, se inscribe un código de información de tres mil millones de “letras”, las famosas C, T, G, A (C de Citosina, T de Timina, G de Guanina y A de Adenosina). Estas “letras” corresponden a unas moléculas que forman parte estructural de la doble hélice de ADN, y es su secuencia lineal la que codifica la información (Cabrera, 2006). Para comprender mejor este concepto, imaginemos por un momento un alfabeto de tan solo cuatro letras, (nuestro alfabeto castellano tiene 27), y que con éstas sólo podemos escribir palabras de tres letras (AAA, ACG, ATT, GCT, etc.). Si se permutaran todas las combinaciones posibles, podría formar hasta 64 palabras diferentes. Cada una de estas palabras de tres letras que se llaman codones indican o codifican un aminoácido particular (los aminoácidos son las unidades estructurales de las proteínas), a esta relación de un codón-un aminoácido particular se lo conoce como código genético (**figura 1**). Por consiguiente, usando una secuencia particular de estos codones, se pueden escribir “párrafos” (genes), que, una vez traducidos por la maquinaria celular construye proteínas. Todas las funciones de la vida subyacen en la actividad de las proteínas y la información necesaria está contenida o codificada en la secuencia de ADN.

En resumen, podemos decir que los genes son las unidades básicas de información, que su forma física recae sobre las moléculas de ADN, y es el conjunto de ellos el componente del genoma de cada una de las células de todos los organismos vivos (Cabrera, 2006). Estos genes están incluidos en los cromosomas que están en pares, excepto los cromosomas sexuales: XX femenino y XY masculino. Cabe destacar que las células reproductivas, óvulo (X) y espermatozoide (X ó Y) tiene un solo cromosoma de cada par, se denomi-

nan haploides y así cuando se unen para formar el embrión devienen diploides porque tienen el bagaje completo de par de cromosomas. Los 3 mil millones de bases corresponden a las células haploides.

Si bien las variaciones en la secuencia de ADN son las responsables de toda la variedad de vida que observamos, especies diferentes, seres humanos, etc., es cierto también que son las que se relacionan al desarrollo de patologías, ya que estas variaciones pueden traducirse en proteínas con modificaciones que llevan adelante su función en forma anómala o bien no pueden realizarla.

Con esta breve descripción de lo que es un genoma y cómo el código genético codifica y transmite esta información entre los seres humanos, podemos establecer la relación que una enfermedad como el cáncer tiene con nuestros genes, pero más importante, de qué manera la información de nuestro genoma nos da hoy en día las herramientas para comprender los mecanismos subyacentes de esta enfermedad y cómo esta misma información puede contener la clave para el desarrollo de terapias dirigidas y de precisión, así como para la prevención de algunos tipos de cánceres.

### ■¿QUÉ ES EL CÁNCER?

El segundo concepto por definir es “cáncer” y plantea un desafío difícil. Bajo este nombre genérico, se engloban en realidad a un conjunto de patologías que tienen como punto común un crecimiento celular descontrolado, acompañado, en algunos casos, de una expansión a otros tejidos del cuerpo humano (proceso conocido como metástasis). Todo este proceso patológico es iniciado por un cambio deletéreo en la secuencia de ADN de una célula,

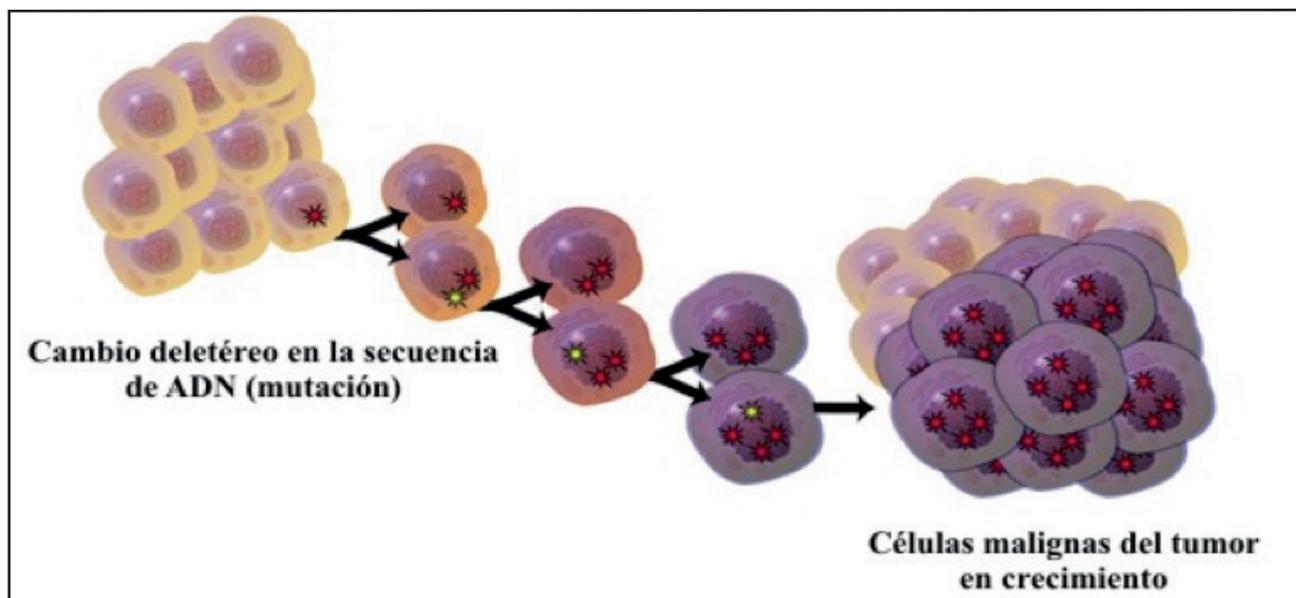
produciendo proteínas con una actividad nula o trunca, descontrolando el ciclo celular por aceleración de las etapas (proceso de crecimiento y división celular) alterando así el desarrollo tisular (Cabrera, 2006; National Cancer Institute, 2019).

Por consiguiente, podemos decir que el cáncer tiene sus bases en la genética, es decir, es causado por cambios en los genes que controlan la forma en que funcionan nuestras células, en particular los procesos de crecimiento y división (**figura 2**).

### ■¿CÓMO APARECE EL CÁNCER?

Los cánceres tienen su inicio con variantes genéticas patogénicas (mutaciones) en los genes. La célula inicial portadora de esta variante crece y se divide con mayor rapidez, sin control, formando una masa celular o tumor primario. Estas masas pueden invadir el tejido circundante a la célula inicial. Además, al crecer estos tumores, algunas células cancerosas pueden desprenderse y migrar a distintas zonas del cuerpo y formar nuevos tumores (metástasis) (National Cancer Institute, 2019).

Las variantes genéticas patogénicas son producidas como resultado del “insulto” al ADN por agentes de variada naturaleza y características (el insulto mejor conocido es el cigarrillo directamente asociado como causa del cáncer de pulmón), así como por errores espontáneos no reparados (por deficiencias varias) derivados de procesos celulares fisiológicos encargados de replicar el ADN durante la división celular. Del último párrafo se desprende que, independientemente del origen, todos los cánceres tienen su origen en modificaciones directas de la secuencia de ADN de una célula. Sin embargo, no todo cambio en los genes involucrados en los procesos de división celular en los tejidos del cuerpo es



**Figura 2:** El cáncer se caracteriza por un crecimiento celular descontrolado. Empieza cuando una célula determinada sufre suficientes mutaciones genéticas como para provocar una ruptura de los procesos normales que mantienen a la división celular bajo control, sin poder frenar la división celular una y otra y otra vez de forma descontrolada, hasta formar un tumor. Las mutaciones pueden ser heredadas. Es decir, podrían estar ya presentes en el ADN de la madre o del padre o bien, pueden ser causadas por errores en la replicación del ADN, o sea esporádicas (no hereditarias) ya que la maquinaria de la célula responsable de la duplicación del material genético no siempre funciona perfectamente, o ser debidas a la exposición a ciertos agentes (mutágenos) como algunos productos químicos peligrosos o el insulto por el cigarrillo.

canceroso, pueden ser cambios benignos, evolutivos, que representa la variabilidad de los individuos y se conocen como polimorfismos (National Cancer Institute, 2019; National Human Genome Research Institute, 2020).

Ya describimos que puede haber distintas causas asociadas al origen del cáncer, siendo las genéticas las más contundentes en alterar el ADN y así desencadenar el proceso oncogénico. En este punto es importante remarcar que las variantes genéticas patogénicas son cruciales en el desarrollo del cáncer ya sean puntualmente en el tejido (cáncer esporádico) o heredadas (cáncer hereditario).

En la figura 3 se diagrama la relación del efecto oncogénico (fenotípico) de un gen (manifestación tumoral asociada al gen) y la frecuencia poblacional. Los genes nombrados son algunos de los candidatos más

comúnmente encontrados. Los genes de alta penetrancia y baja frecuencia poblacional detectados por secuenciación, son los de mayor gravedad por su alta manifestación oncogénica. En el otro extremo están los genes de baja penetrancia y alta frecuencia (identificados en estudios de asociación de análisis poblacionales) los cuales en general necesitan de asociaciones para que se inicie la enfermedad. En ambos grupos hay genes asociados al cáncer hereditario y genes asociados al cáncer esporádico (**figura 3**)

### ■¿QUÉ CLASES DE CÁNCERES EXISTEN?

El cáncer es una enfermedad multifactorial, con diferentes grados de complejidad dadas las múltiples circunstancias que pueden afectar su inicio y desarrollo (Cabrera, 2006, National Cancer Institute, 2019).

Normalmente, las células humanas crecen y se dividen para formar nuevas células a medida que el cuerpo las necesita. Cuando las células normales envejecen o se dañan, mueren y las células nuevas las reemplazan. En el cáncer, este proceso se descontrola, y a medida que avanza el proceso oncogénico las células acumulan variantes patogénicas que resultan más anormales, las células dañadas sobreviven cuando deberían morir, y células nuevas se forman cuando no son necesarias. Algunos cánceres forman tumores sólidos, los cuales son masas de tejido. Otros, pueden afectar células que están en suspensión como la sangre (leucemias) (National Cancer Institute, 2019). Si bien el cáncer puede comenzar en cualquier tejido del cuerpo humano, los tipos de cáncer reciben, en general, el nombre de los órganos o tejidos en donde se originan la célula (de mama, de páncreas, etc).



las mujeres y XY para los varones). Es un proceso de división específico llamado meiosis en un conjunto particular de células (óvulos y espermatozoides) donde los pares de cromosomas se separan y estas células quedan con la mitad del número de cromosomas, y será durante la fecundación donde al fusionarse las células sexuales, se restituirá la cantidad diploide de material genético.

Cada cromosoma porta una copia de cada uno de los genes del genoma (por lo que cada gen se encuentra duplicado). Cada una de estas copias de un gen se conoce como alelo y es heredado de cada uno de los padres. Para explicar las relaciones entre los dos pares de cromosomas, existen los términos dominancia y recesividad. Cuando los alelos de un gen son heterocigotos, y sólo uno de los alelos es capaz de expresarse, ese alelo es dominante sobre el otro (**figura 4**). Cuando un único alelo es incapaz de expresarse decimos que ese alelo es recesivo (Griffiths, 2009) y para expresarse necesita de ambos alelos con variante patogénica (la misma variante: homocigota, o distinta variante: doble heterocigota, siempre en el mismo gen).

Una parte importante de la genética del cáncer hereditario es la identificación de estas variantes alélicas patogénicas, su relación con el cáncer y posibles acciones terapéuticas, así como también, la identificación de portadores de variantes en grupos familiares donde el riesgo de recurrencia aumenta y es necesario ofrecer un asesoramiento (Solano, 2017; National Comprehensive Cancer Network, 2020).

Es notable que los cánceres más frecuentes en la población humana (mama, ovario, colon, y próstata) son los que poseen un fuerte componente genético hereditario asocia-

do a un alto índice de antecedentes familiares. Es en este sentido que la genética constituye una herramienta fundamental para predecir y anticipar la aparición de este tipo de cánceres. En estos casos, se estudian los marcadores de riesgo genético, que son aquellas variantes que siguen un modelo de herencia autosómica dominante/recesivo y en los que el análisis genético determina su manejo clínico (Shimelis, 2018; Kurian, 2019; National Comprehensive Cancer Network, 2020).

### ■ CÁNCER DE MAMA Y OVARIO

Si bien nuestro laboratorio trabaja con una amplia gama de genes asociados a diversos cánceres, nos enfocaremos en el cáncer de mama y el cáncer de ovario como paradigmas de este tipo de enfermedades que son los más frecuentes. Nuestro laboratorio (el laboratorio de mayor experiencia en el país) lleva en la actualidad cerca de 4000 pacientes analizados desde el descubrimiento de los genes asociados a estas enfermedades.

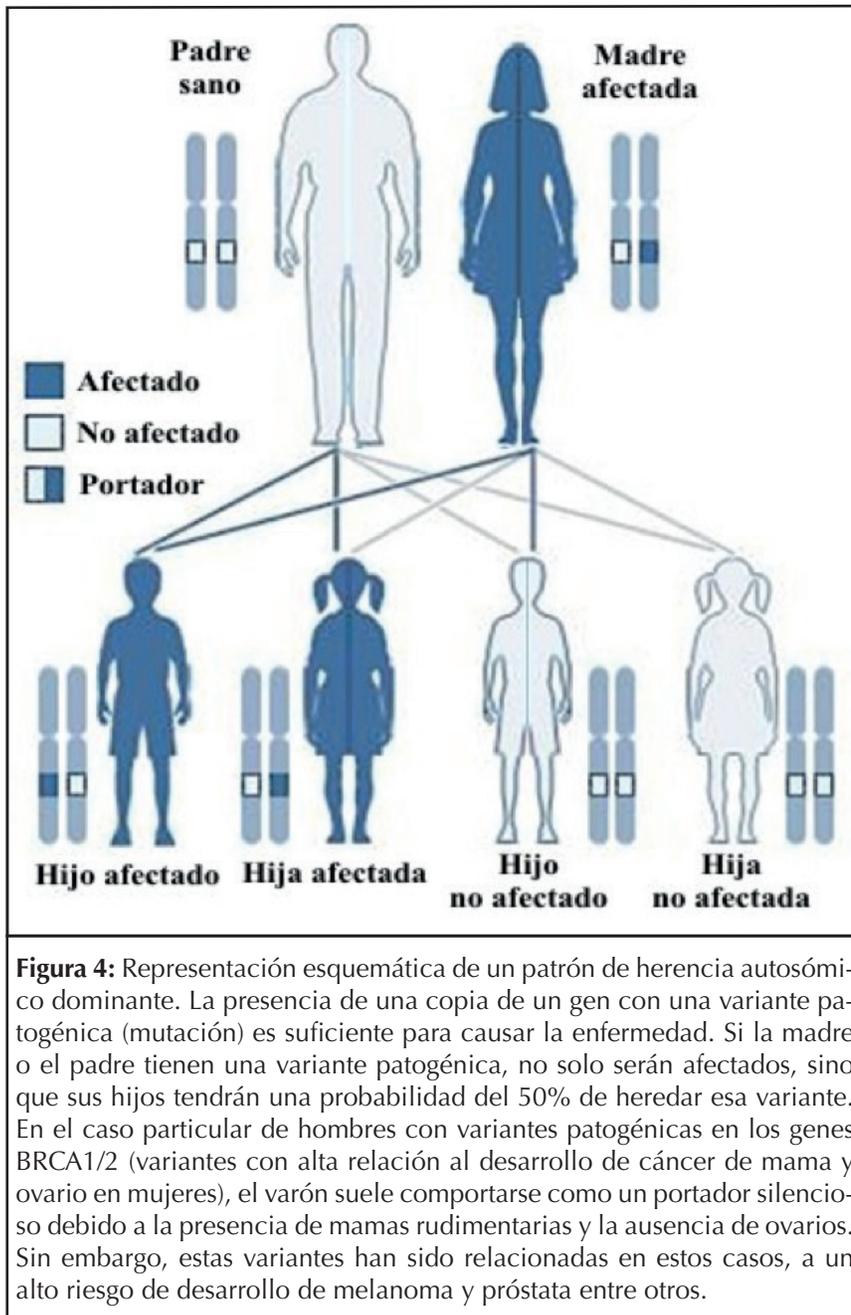
Los genes que se asocian al cáncer de mama/ovario hereditario se descubrieron hace no demasiado: el *BRCA1* (17q21, MIM\* 113705) en 1994 (Miki, 1994) y el *BRCA2* (13q14, MIM\* 600185) en 1995 (Wooster, 1995), dando lugar al mayor avance en la prevención de ambos cánceres y sus tumores asociados. Los primeros años fueron difíciles, dedicados casi exclusivamente a la detección precoz, aunque con el tiempo, los avances fueron extraordinarios y hoy día no sólo hay prevención sino tratamientos de precisión que se asocian a variantes patogénicas en cualquiera de los dos genes.

El cáncer de mama es el cáncer más frecuente en la mujer. Si bien existe un riesgo base en la población

general (1 de cada 8 mujeres en la post-menopausia, cáncer esporádico) de desarrollar esta enfermedad, del total de casos, sólo el 5-10% se considera hereditario, y en el 25-50% de estos casos, este riesgo está asociado principalmente a variantes patogénicas en dos genes particulares, los genes *BRCA1* y *BRCA2*: el resto, o sea 50-75% es en la actualidad considerado genéticamente indeterminado (Roma, 2009; Kurian 2019).

Una característica importante de los casos de cáncer de mama hereditario es la presentación de una historia familiar con recurrencia de la enfermedad, una edad precoz de diagnóstico (<40 años) y la presencia de casos entre los hombres de la familia (Solano, 2017; National Comprehensive Cancer Network, 2020).

Las variantes genéticas en *BRCA1/2* se heredan siguiendo un patrón autosómico dominante (**figura 4**). Las variantes patogénicas detectadas en casos índice (primera persona con enfermedad analizada en una familia) en estos genes se las considera de alto riesgo y con alta penetrancia (o sea con manifestación de cáncer en alto porcentaje), no sólo de mama, sino también de ovario, y en el caso de los hombres, cáncer de mama y de próstata, entre los más frecuentes, aunque como se mencionó pueden haber otros tipos de tumores. Es bueno hacer notar en este punto que, si bien las variantes patogénicas en *BRCA1/2* tienen una fuerte relación con el desarrollo de cáncer de mama/ovario hereditario, estos no son los únicos genes cuyas variantes pueden vincularse a esta enfermedad, un ejemplo más de lo variadas y complejas que pueden ser las interacciones del genoma. Entre estos podemos mencionar genes como *TP53*, *PTEN*, *CHEK2*, *STK11* entre otros (Norquist, 2016;



*MLH1*, *MSH2*, *MSH6* y *PMS2* son la principal causa de esta enfermedad, y se caracteriza por un riesgo elevado a desarrollar principalmente cáncer de colon a una edad más temprana que la población general, o sea antes de los 50 años y otros tumores como de endometrio, ovario, etc (Chialina, 2006).

#### ■¿SI TENGO UNA VARIANTE PATOGENICA EN LOS GENES ASOCIADOS A CÁNCER HEREDITARIO, VOY A TENER CÁNCER?

La respuesta es variable, hubo tantos progresos en pocos años que hoy pueden asociarse variantes genéticas con manifestaciones clínicas; variantes que no son igualmente penetrantes y se agregan a otras características modulantes genéticas particulares de cada individuo. En nuestro ADN existen variaciones de persona a persona que nada tienen que ver con enfermedades, sino que son el producto de procesos evolutivos y son los responsables de la gama de variedades en las personas. En los casos de variantes patogénicas donde la enfermedad se desarrolla, esta misma información tiene un valor significativo, ya que, en el paradigma actual de medicina de precisión, puede ayudar en la elección del tratamiento terapéutico más adecuado (Snyder, 2016).

#### ■¿PUEDO PADECER OTROS CÁNCERES SI TENGO ALGUNA VARIANTE PATOGENICA?

Sí, todos los portadores (tanto mujeres como varones) de variantes patogénicas en *BRCA1/2* presentan además de un riesgo aumentado de cáncer de mama, una mayor predisposición al cáncer de ovario, melanoma, próstata, estómago y páncreas (Struewing, 2001; Thompson, 2002; Roma, 2009; Solano, 2017; Kurian 2019; Vallon-Christersson, 2019; Conxi, 2019).

Kurian, 2019; Solano et al., 2020, en preparación).

Así también variantes patogénicas en *BRCA1/2* han sido encontradas y asociadas a un riesgo aumentado de desarrollo de cánceres como el cáncer de próstata, melanoma y cáncer de páncreas (Roma, 2009; Kurian, 2019).

Como en el caso del cáncer de mama hereditario, podemos encon-

trar muchos ejemplos más donde la presencia de variantes patogénicas se asocia al riesgo aumentado de desarrollo de cánceres y, donde nuestro primer indicio es una historia familiar con recurrencia de la patología.

Otro ejemplo es el cáncer Colorrectal Hereditario No Polipósico o el Síndrome de Lynch, donde variantes patogénicas germinales que se detectan en los genes

## ■¿CÓMO PUEDO SABER SI TENGO ALGUNA VARIANTE QUE AUMENTE MI RIESGO DE PADECER CÁNCER DE MAMA?

Las indicaciones del NCCN (*National Comprehensive Cancer Network*) que redacta y actualiza las guías para la prevención, detección y reducción del riesgo de los distintos tipos de cáncer, son empleadas por los médicos para estar actualizados respecto de los requerimientos asociados a mujeres con cáncer de mama y/u ovario y/o antecedentes familiares de cánceres asociados; y a los hombres con cáncer de mama.

Es importante un asesoramiento oncológico genético, y en algunos casos, el estudio de secuenciación de genes asociados a cánceres hereditarios, que se efectúa más frecuentemente con el ADN extraído de los glóbulos blancos de sangre (Tejada Mínguez, 2019; National Comprehensive Cancer Network; Solano, 2017).-

Si bien la obtención de la muestra es fácil, el análisis *per se*, es más complejo y requiere algún tiempo. El ADN extraído es sometido a un proceso que amplifica las secuencias a ser analizadas y compara éstas contra una secuencia consenso de referencia (puede imaginarse esta secuencia como si se tratara del metro patrón en el museo de pesos y medidas en París), con un genoma humano patrón, que puede consultarse en diferentes bases de datos: National Center for Biotechnology Information (NCBI), Ensembl, pudiendo detectar qué letras varían respecto del patrón correspondiente. Posteriormente, con estudios de asociación y búsqueda en bases de datos científicas, se establece si las variantes detectadas en la secuencia son patogénicas (den Dunnen, 2016). Es indispensable en todos los reportes de estudios genéticos referir

la versión usada para la denominación de la variante informada ya que el avance de los conocimientos genéticos es vertiginoso y sigue reglas estrictas de nomenclatura que deben respetarse y actualizarse, por ello el número de la versión utilizada deviene fundamental para especificar de qué variante se trata.

Muchas veces los resultados no son tan claros y, como en cualquier sistema complejo, las excepciones a la regla aparecen con frecuencia. Este tipo de variantes se conocen como VUS (del inglés: *variants of unknown significance*), y son variantes cuyo significado es incierto, es decir, no podemos establecer una relación directa que la vincule a una enfermedad, como tampoco podemos descartar que no posea un efecto (Cardoso, 2018; Pineda 2019; Chern, 2019).

Es muy importante al momento de redacción del informe genético, que la información respecto de cuáles son variantes benignas, las VUS y las patogénicas encontradas sea muy claro y que sea interpretada por un profesional, ya que cuando tenemos la presencia de una variante patogénica, esta persona tiene altísima probabilidad de desarrollar cáncer de mama y ovario (Solano, 2017; Conxi, 2019). Además, tienen 50% de probabilidad de transferir esta variante a sus descendientes, con todo lo que ello significa.

En condiciones óptimas de trabajo el estudio tiene un 100% de especificidad. Es decir, si la variante patogénica existe en las secuencias del genoma analizadas no hay manera de no detectarla, pero siempre es necesario confirmarla por secuenciación de Sanger (esta reacción es una de las pocas, si no la única, que no necesita control de calidad, ya que se evidencian las bases compo-

nentes del fragmento analizado y se visualiza directamente la alteración genética; por ello se la conoce como estándar "oro"). Por consiguiente, cuando se detecta una variante patogénica en los genes *BRCA1/2*, ésta es determinante, ya sea que la persona sea sana o enferma, hombre o mujer, y la presencia de esta variante aumenta la probabilidad de padecer un cáncer. Además, la detección de una variante tiene gran relevancia, ya que los posteriores análisis en los familiares en búsqueda de la variante detectada posee dos consecuencias importantes, por un lado, los costos de los estudios genéticos en estos familiares se reducen significativamente, y segundo, el hecho de no encontrar la variante en estos familiares, da un 100% de certeza de que esta persona tiene el mismo riesgo de desarrollar algún cáncer asociado a *BRCA1/2* que la población general, y que sus hijos no heredarán esta variante patogénica. Es el resultado que se conoce como verdadero negativo.

Por otro lado, que sucede si en el caso índice no detectamos ninguna variante patogénica? Eso no significa que la persona tenga un resultado "normal", sobre todo en personas con cáncer a edad joven y con antecedentes familiares, sino que cae en un grupo de pacientes con una incertidumbre en el resultado que describimos como indeterminado genéticamente. La variante estaría en otra región del genoma no analizada por lo que la búsqueda debe continuar ampliando las regiones y genes analizados.

## ■¿CÓMO PUEDO PREVENIR PADECER UN CÁNCER HEREDITARIO?

Uno de los aspectos más relevantes de disponer tecnología de última generación para secuenciación e

identificación de variantes patogénicas asociadas a cáncer, es el efecto preventivo que ello implica. Son decisiones de acuerdo con la variante patogénica detectada, ya que los 25 años desde el descubrimiento de los genes *BRCA1* y *BRCA2* fueron determinantes en los avances para las decisiones clínicas a tomar, siempre en consenso con los pacientes y portadores sanos bajo un consejo clínico-genético con profesionales expertos (Roma 2009; Snyder, 2016; Conxi 2019).

Dado que las variantes patogénicas de los genes como *BRCA1/2* incrementan el riesgo de neoplasias de mama y ovario, el objetivo más claro de los controles periódicos es promover la detección precoz de las neoplasias en pacientes, en particular en personas portadoras de variantes patogénicas porque están expuestas a un mayor riesgo.

Cuando se realiza un estudio de secuenciación completa de genes en el caso índice (primera persona que se analiza, joven con enfermedad y antecedentes familiares) y se obtiene un resultado "negativo" o "secuencia normal" para variantes en *BRCA1/2*, es un resultado de gran incertidumbre; son cerca del 60% y se consideran resultados indeterminados genéticamente como mencionamos, y la búsqueda de la variante patogénica debe continuar. Por el contrario, un resultado positivo, con la identificación de una variante patogénica confirmada por Sanger como debe ser siempre, tiene un 100% de certidumbre, y habilita seguir con un asesoramiento genético no solo para la persona afectada, sino para todo el grupo familiar que lo desee para continuar con el estudio y analizar si es portador o no de la variante patogénica para discutir la estrategia futura.

### ■ CIRUGÍA REDUCTORA DE RIESGO, "EL EFECTO JOLIE"

La aplicación de la cirugía preventiva constituye la estrategia más efectiva de que disponemos en la actualidad para disminuir el riesgo de cáncer de mama y ovario, logrando una reducción de riesgo superior al 90% en las mujeres portadoras de variantes patogénicas de los genes *BRCA1/2*. Los expertos la ofrecen como una opción preventiva, en un marco fruto de una decisión madurada, reflexiva y bien informada (Roma, 2009; Conxi, 2019).

Una anécdota que refleja este punto sucedió hace algunos años con la famosa actriz Angelina Jolie. En 2014, la actriz decidió someterse a una cirugía preventiva de mamas, decisión tomada luego de que un análisis genético la identificara como portadora de una variante patogénica. Si bien la decisión fue de ámbito personal, el hecho de que la actriz hiciera pública su decisión, así como diversas declaraciones explicando los beneficios de la cirugía preventiva, han animado a muchas mujeres a imitar su actitud, dejando de lado los tabúes sociales y estéticos asociados a esta situación. Si bien es una decisión particular, siempre es ejecutada por profesionales expertos. El hecho de que una figura pública haya tomado una decisión de estas características ha sido positivo, animando a muchas mujeres en una situación de riesgo similar.

Es importante recalcar que, en la actualidad, las cirugías estéticas están mucho más al alcance del público general, con un impacto que puede ayudar a minimizar los efectos psicológicos que la cirugía preventiva tiene sobre la imagen corporal de una mujer.

En el caso del cáncer de ovario asociado a variantes patogénicas

en *BRCA1/2*, la opción quirúrgica preventiva tiene un elevado valor protector en personas que no tuvieron cáncer, ya que es un cáncer asintomático en cerca del 98% de los casos. Por ello y en especial en mujeres con variantes patogénicas asociadas a cáncer de mama u ovario constituye una buena opción preventiva una vez que la mujer ha satisfecho sus deseos reproductivos.

La misma actriz Angelina Jolie, también se sometió a una cirugía de extirpación de ovarios y trompas de Falopio para reducir el riesgo al desarrollo de cáncer de ovario dada la variante patogénica de la que es portadora.

### ■ CARACTERÍSTICAS DE LOS ANÁLISIS GENÉTICOS Y EL MANEJO DE LA INFORMACIÓN

Finalmente, en esta sección, queremos dedicar unos párrafos a discutir y a transmitir al lector una idea sobre la problemática actual que el manejo de los datos genéticos genera.

El aspecto más importante sobre el que queremos llamar la atención es que absolutamente toda la información obtenida de los análisis genéticos requiere el análisis y la adecuada interpretación por profesionales calificados. En la mayoría de los casos, los datos obtenidos de secuenciación de genomas plantean interrogantes cuyas respuestas tendrán un profundo impacto sobre la vida de un paciente, ya sea sobre decisiones terapéuticas directas o sobre aquellas que afectarán a los familiares. Es indispensable que un especialista evalúe los resultados de este tipo de análisis.

Por qué recalamos este último punto? En la actualidad existen empresas que ofrecen, directo al consumidor, la realización de estudios

genéticos que proveen una serie de resultados inmediatos, sin interpretación profunda de esta información, y más aún, sin la necesaria confirmación por un laboratorio autorizado de las variantes genéticas reportadas. En casos recientes, incluyen en sus reportes, el análisis de variantes asociadas a cáncer. Esto nos da lugar a mencionar brevemente el panel askenazí de variantes en *BRCA* ya que son algunas de las variantes que adicionaron en los estudios directo al consumidor. Hay grupos étnicos que están poco o nada expuestos a intercambio genético con otras poblaciones ya que se casan entre sí y por ello las variantes genéticas están reiteradas y son muy conocidas. Así pueden diagramarse paneles de pocas variantes genéticas patogénicas que detectan la gran mayoría de los individuos portadores del grupo étnico. Las variantes en *BRCA1/2* para las personas de origen askenazi son sólo tres variantes (dos en *BRCA1* y una en *BRCA2*) con una frecuencia de 1 cada 40 personas; en tanto que para las personas no askenazi hay que secuenciar ambos genes completos porque se conocen más de seis mil variantes distintas y tienen una frecuencia de 1/300 a 1/800. En Argentina no hay panel de variantes posible porque la heterogeneidad es muy alta y las variantes reiteradas no cubren más del 4%. En nuestro laboratorio, con el mayor número de casos secuenciados en el país (cerca de 4000) podemos asegurar que no hay panel de variantes posible y por ello es que alertamos la falencia de analizar el “panel Hispánico” que con un nombre tan amplio es ofrecido en algunos servicios, así como en plataformas, donde confunde a pacientes y médicos, no nos representa genéticamente ya que no existe evidencia científica que valide variantes exclusivas para un “panel Hispánico”, como si es el caso de las variantes patogénicas de

*BRCA1/2* encontradas en personas de origen askenazi (Solano, 2012; Solano, 2017).

Todos los cambios que se detectan al analizar un genoma surgen al comparar los resultados de la muestra con una secuencia de ADN de referencia. Las variaciones “benignas” encontradas en la población humana se conocen como polimorfismos y las variantes que han sido asociadas a procesos patológicos se conocen como las variantes patogénicas. Como mencionamos, también existen variaciones en el genoma cuya significancia no puede asociarse a ninguna de las situaciones anteriores y se las conoce como VUS por la denominación en inglés de variantes de significado incierto (Cardoso, 2018; Staaf, 2019; Pineda 2019; Chern, 2019).

La diferenciación entre la calificación clínica patogénica de una variante detectada en una persona requiere un análisis minucioso, no sólo una búsqueda en bases de datos internacionales que los científicos actualizan constantemente, sino también el estudio de cómo las variaciones en la secuencia del ADN son efectivamente traducidas en variaciones en las proteínas con un efecto deletéreo. Además, la identificación de nuevas variantes, requieren estudios donde ésta es analizada en un grupo grande de personas que padecen la patología, así como el análisis de su frecuencia poblacional y otras consideraciones hechas por expertos (Solano, 2017; Cardoso, 2018). Cabe destacar que hay profesionales llamados curadores de genes cuya actividad reside justamente en asegurar la clasificación clínica de las variantes por todos los métodos que existan. Participan directa o indirectamente de los avances en las validaciones experimentales del efecto de las variantes

genéticas sobre el tumor específico; es un trabajo intenso que sólo permite a un curador llevar adelante uno o unos pocos genes como tarea específica.

El análisis de una secuencia, así como la interpretación del hallazgo de una variante es un proceso técnico laborioso y complejo con la indefectible necesidad de ser realizada por profesionales expertos, no solo en la etapa de detección e investigación de las variantes genéticas, sino de la interpretación y la devolución que se realiza al paciente. La metodología brinda un cúmulo de información que el profesional experimentado puede interpretar para darle valor real al informe.

Para concluir, difundir las iniciativas globales son el fundamento para una actividad genético-clínica de primer nivel especialmente en el intercambio de datos: “sharing data”, que es clave para el desarrollo mundial de los avances en genética. Compartir no es el estándar, y es uno de los objetivos del Nodo Argentino del Proyecto Varioma Humano (<https://humanvariomeprojectargentina.org.ar/>), que tiene laboratorios depositantes de todo el país (Solano, 2019).

Desde el Nodo depositamos las variantes en la LOVD (Leiden Open Variation Database), y además tenemos nuestra página nacional ([ar.lovd.org](http://ar.lovd.org)) para tener reunidos los depósitos de Argentina en un sitio web.

Esta generosidad es una satisfacción compartida por todos, y persigue el mejor interés clínico para los pacientes; además, es democratizar el conocimiento imprescindible para clasificar los tres mil millones de nucleótidos que componen nuestro genoma.

## ■ BIBLIOGRAFIA

- **Alamut Visual** (2020). SOPHiA GENETICS, version 2.15. Lausanne, Switzerland. <https://www.interactive-biosoftware.com/products/>.
- **Caruz Arcos AJ** (2009). Proyecto genoma humano. Editorial online de la Universidad de Jaén. [http://www.ujaen.es/investiga/inmunoge/gmo/tema\\_genoma\\_humano.pdf](http://www.ujaen.es/investiga/inmunoge/gmo/tema_genoma_humano.pdf)
- **Cabrera LJ, Herraes A** (2006). Biología Molecular e Ingeniería Genética. Conceptos, Técnicas y Aplicaciones en Ciencias de la Salud. Editorial Elseiver.
- **Cardoso FC, Goncalves S, Mele P, et al** (2018). BRCA1 and BRCA2 mutations and clinical interpretation in 398 ovarian cancer patients: comparison with breast cancer variants in a similar population. *Hum Genomics*; 12: 1–8.
- **Chen S, Parmigiani G** (2007). Meta-analysis of BRCA1 and BRCA2 penetrance. *J Clin Oncol*; 25(11):1329-33.
- **Chern JY, Lee SS, Frey MK, et al** (2019). The influence of BRCA variants of unknown significance on cancer risk management decision-making. *J Gynecol Oncol*; 30(4):e60.
- **Chialina SG, Fornes CC, Solano AR, et al.** (2006) Microsatellite instability analysis in hereditary non-polyposis colon cancer using the Bethesda consensus panel of microsatellite markers in the absence of proband normal tissue. *BMC Medical Genetics*, 7:5.
- **Conxi L, Teulé, A** (2019). Cáncer Hereditario - Genes de Predisposición hereditaria y riesgo poligénico. Cáncer hereditario 3º Ed. Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM).
- **Dawkins R.** (1993) El gen egoísta 3º Ed. Oxford University Press.
- **den Dunnen JT, Dalgleish R, Maglott DR, et al** (2016). . HGVS Recommendations for the Description of Sequence Variants: 2016 Update. *Hum Mutat*; 37(6):564-9.
- **Easton DF, Ford D, Bishop DT.** (1995). Breast and ovarian cancer incidence in BRCA1-mutation carriers. Breast Cancer Linkage Consortium. *Am J Hum Genet*; 56(1):265-71.
- **Griffiths AJ, Lewontin R; Carroll SB, et al** (2009). Genética 9º Ed. Editorial McGraw Hill.
- **Hood L, Rowen L** (2013). The Human Genome Project: big science transforms biology and medicine. *Genome Medicine*; 79(5).
- **International Human Genome Sequencing Consortium** (2001). Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409: 860-921.
- **King R, Stansfield WD, Mulligan PK** (2006). A dictionary of genetics. 7º Ed. Oxford University Press.
- **Kurian AW, MD, Ward KC, Howlander N, et al** (2019). Genetic Testing and Results in a Population-Based Cohort of Breast Cancer Patients and Ovarian Cancer Patients. *Journal of Clinical Oncology*, 37 (15): 1305-1315.
- **Lewin B.** (2008). Genes IX. Jones and Bartlett Publishers, Inc.
- **Mayr E.** (1982) The growth of biological thought: diversity, evolution and inheritance. Harvard University Press, Cambridge, Mass.
- **Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, et al** (1994) A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science* 266(5182):66–71
- **Narod SA, Dube MP, Klijn J, et al** (2002). Oral contraceptives and the risk of breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *J Natl Cancer Inst*; 94(23):1773-9.
- **National Cancer Institute (NIH)** (2019). Precision Medicine in Cancer Treatment. <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>.
- **National Human Genome Research Institute (NHGRI)** (2020). Talking Glossary of Genetic Terms/ Polymorphism. <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Polymorphism>.
- **National Comprehensive Cancer Network (NCCN)** (2020). NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®). [https://www.nccn.org/global/?https://www.nccn.org/global/international\\_adaptions.aspx/spanish\\_translations&gclid=CjwKCAjw1ej5BRBhEiwA-fHyh1HqTyzoAzQD2AnupTjQI-BORxA511NtHx54C7UKKiiFA7tbpOjEA4DRoCseYQAvD\\_BwE](https://www.nccn.org/global/?https://www.nccn.org/global/international_adaptions.aspx/spanish_translations&gclid=CjwKCAjw1ej5BRBhEiwA-fHyh1HqTyzoAzQD2AnupTjQI-BORxA511NtHx54C7UKKiiFA7tbpOjEA4DRoCseYQAvD_BwE).
- **National Library of Medicine U.S.** (2020). Digital collections. <https://collections.nlm.nih.gov/>

- **Norquist** MB, Harrell MI, Brady MF, et al (2016) Inherited Mutations in Women With Ovarian Carcinoma. *JAMA Oncol*; 2(4):482-90.
  - **Pineda** M, Capellá G (2019). Cáncer Hereditario - Criterios para la clasificación de las variantes genéticas según su significado clínico. *Cáncer hereditario* 3° Ed. Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM).
  - **Roma** AP, Barberá VM, Juan MB, et al (2009). Guía de Práctica clínica en Cáncer Hereditario 2°Ed. Generalitat. Conselleria de Sanitat. Generalitat Valenciana.
  - **Shimelis** H, LaDuca H, Hu C, et al (2018). Triple-negative breast cancer risk genes identified by multigene hereditary cancer panel testing. *Journal Natl Cancer Inst* 110:855-862.
  - **Snyder** M (2016). *Genomics & Personalized Medicine. What everyone needs to know.* Oxford University Press.
  - **Solano** AR, Aceto GM, Delettieres D, et al (2012). BRCA1 And BRCA2 analysis of Argentinean breast/ovarian cancer patients selected for age and family history highlights a role for novel mutations of putative south-American origin. *Springerplus*; 1:20.
  - **Solano** AR, Cardoso FC, Romano V, et al. (2017). Spectrum of BRCA1/2 variants in 940 patients from Argentina including novel, deleterious and recurrent germline mutations: the impact in health care and clinical practice. *Oncotarget*; 8:60487-60495
  - **Solano** AR, Liria NC, Jalil FS, et al (2018). BRCA1 and BRCA2 Mutations Other Than the Founder Alleles Among Ashkenazi Jewish in the Population of Argentina. *Front Oncol*; 8:323.
  - **Solano** AR, Garrido M, Mele PG, et al (2019). The human varrome project country node of Argentina in the first two years of activity: past, present and future. *Journal of Basic and Applied Genetics*; (30)2: 1852-6233.
  - **Solano** A; Novelli G; Baghat S; et al (2019). Meeting report: the Human Genome Meeting (HGM) 2019 in Seoul, Korea. *Human Genomics*; 35(13) and *Eur J Hum Genet*; 28(1): 122-125.
  - **Solano** AR, Palmero EI, Delgado L, et al (2020). Sequencing technology status of BRCA1/2 testing in Latin American Countries. *NPJ Genom Med*; 2 (5):22.
  - **Solano** AR, Jalil FS, Gutierrez LG, Liria NC et al (2020) NGS multiple-gene panels in an Argentinian population-based cohort of Breast Cancer Patients and Ovarian Cancer Patients. Re-evaluating a paradigm about the use of NGS and information. En preparación.
  - **Staaf** J, Glodzik D, Bosch A, et al (2019) Whole-genome sequencing of triple-negative breast cancers in a population-based clinical study *Nat Med*; (10):1526-1533.
  - **Stadler** ZK, Thom P, Robson ME (2010). Genome-Wide Association Studies of Cancer. *Journal of Clinical Oncology*; (28)27: 4255-4267.
  - **Struwing** JP, Hartge P, Wacholder S, et al. (2001). The risk of cancer associated with specific mutations of BRCA1 and BRCA2 among Ashkenazi Jews. *N Engl J Med*; 336(20):1401-8.
  - **Tejada Mínguez** I, Beristain Mendizabal E, Martínez Bouzas C, et al (2019). *Cáncer Hereditario - Técnicas de Diagnóstico molecular en Oncología.*
  - **Thompson** D, Easton D. (2002) Variation in BRCA1 cancer risks by mutation position. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*; 11(4):329-36.
  - **Vallon-Christersson** J, Häkkinen J, Hegardt C, et al (2019). Cross comparison and prognostic assessment of breast cancer multi-gene signatures in a large population-based contemporary clinical series. *Sci Rep*; 9(1):12184
  - **Venter** C, Adams MD, Myers EW et al. (2001). The sequence of the human genome. *Science*; 291: 1304-1351.
  - **Wooster** R, Bignell G, Lancaster J, et al (1995) Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. *Nature* 378(6559):789-792
- **GLOSARIO**
- **Ácido desoxirribonucleico (ADN):** Molécula que almacena y codifica la información genética.
  - **Alelo:** una de las posibles formas alternativas de la secuencia de un gen.
  - **Cromosoma:** en los núcleos celulares, estructura en forma de hilo visible durante los procesos de división celular, conformada por ADN/proteínas, que porta la información genética en una secuencia lineal.
  - **Dominante:** cuando un alelo manifiesta su fenotipo aún en heterocigosis.

- **Genética:** Ciencia que estudia los mecanismos y formas de la herencia en los seres vivos.
- **Genoma:** conjunto de todo el acervo de material genético presente en una célula u organismo.
- **Heterocigota:** Cada alelo de un gen en particular se hereda de cada progenitor. Si ambos alelos para ese gen en particular son diferentes en su secuencia, entonces el organismo es heterocigoto.
- **Homocigota:** Cada alelo de un gen en particular se hereda de cada progenitor. Si ambos alelos para ese gen en particular son iguales, entonces el organismo es homocigoto.
- **Variante genética patogénica (antes denominada Mutación patogénica):** proceso por el cual la estructura de un gen es modificada.
- **Recesivo:** en un organismo diploide, un gene que solo se manifiesta fenotípicamente en un estado homocigoto y que es enmascarado en presencia de un alelo dominante.
- **Variantes genéticas:** cambios en las bases del ADN que se manifiestan en el producto final, la proteína y de acuerdo con el efecto en ella pueden ser: benignas, inciertas o patogénicas.

# EL CURIOSO CASO DE LAS DEMENCIAS NEURODEGENERATIVAS: ¿UN CULPABLE O VARIOS SOSPECHOSOS?

**Palabras clave:** Demencia, Neurodegeneración, Poligénico, Monogénico.  
**Key words:** Dementia, Neurodegeneration, Polygenic, Monogenic.

La demencia es la principal causa de discapacidad en adultos a nivel mundial. El número de personas con demencia ha incrementado considerablemente, lo que implica un importante reto para la salud pública.

Grandes esfuerzos se han hecho en los últimos años para mejorar los sistemas de diagnóstico, prevención y tratamiento.

En el ámbito clínico, muchas personas realizan consultas preocupados por sus antecedentes familiares de demencia, buscando saber si pueden haber heredado la enfermedad. Lamentablemente, esta respuesta no es tan sencilla.

Se suelen estudiar principalmente los casos cuyo inicio de síntomas ocurre antes de los 65 años (comienzo temprano). Y en estas familias, el modo en el que se está transmitiendo la enfermedad y la edad de comienzo de síntomas son algunos de los datos necesarios para el correcto diseño del estudio genético.

Las dos demencias de comienzo temprano más comunes son la Enfermedad de Alzheimer (EA) y la Demencia Frontotemporal (DFT).

Hay descritos 6 genes, en los cuales una mutación patogénica en alguno de estos podría ser suficiente para explicar casos de EA y DFT familiar. Estas son las demencias con un tipo de herencia monogénica.

Nuevos avances en las técnicas de secuenciación han permitido describir genes de "riesgo" y ha evidenciado que ciertos casos de demencia podrían ser explicados por una sumatoria de mutaciones en estos genes. Estas serían las demencias con un tipo de herencia poligénica.

Un mayor entendimiento de estas enfermedades a partir de un enfoque poligénico permitirá en un futuro, mejorar el diagnóstico y el tratamiento.

Dementia is the leading cause of disability in adults worldwide. The prevalence of dementia has increased considerably, which implies a major challenge for public health. In the last few years, great efforts have been made to improve diagnosis, prevention and treatment. In the clinical setting, people come concerned about their family history of dementia, seeking to know if they may have inherited the disease. Unfortunately, this answer is not so straightforward. Usually we study family cases whose symptoms onset occurs in early stages of life (<65 years). The correct design of the genetic testing depends on the information given regarding the type of disease inheritance and the age of onset of each family member. Alzheimer's Disease (AD) and Frontotemporal Dementia (FTD) are known to be the two most common early-onset dementias.

Six genes have already been associated with familial AD and FTD. Thus, having a pathogenic mutation in any of these could explain the cause of the disease. This would be the case of dementias with a monogenic type of inheritance.

New advances in sequencing techniques have made it possible to describe genes with the role of "risk factors". Thereby, there are cases of dementia that may be explained by a combination of mutations in these genes giving evidence of a polygenic type of inheritance. A better understanding of diseases from a polygenic approach will allow in the future to improve diagnosis and treatment.

■ **Matías D. Niikado, Tatiana Itzcovich, Ezequiel I. Surace\***

Fleni, Montañeses 2325, CABA

E-mail: (\*) [esurace@fleni.org.ar](mailto:esurace@fleni.org.ar)

## ■ GENERALIDADES

La genética médica es una rama joven de la medicina cuya signi-

ficanza comenzó a ser tenida en cuenta hace no mucho más que 50 años atrás. -

Esta rama se encarga de estudiar los desórdenes genéticos. Hoy en día en el estudio de patologías

donde se sospecha una causa genética es necesario estudiar el modo de herencia de la misma. Para esto es necesario el estudio tanto de la persona afectada (caso índice) como también el de su familia. De esto se encarga la genética médica humana.

¿Cómo se llega a un diagnóstico genético? ¿Qué importancia tiene la genética en los casos de demencia neurodegenerativa? Para poder comprender esto es importante repasar algunos conceptos básicos sobre genética, herencia y neurodegeneración.

## ■ INTRODUCCIÓN A LA GENÉTICA Y HERENCIA

Una forma sencilla de entender y visualizar estos conceptos es comprender qué ocurre primero a nivel celular y luego escalarlo a un organismo complejo. Como bien sabemos, cada célula de nuestro cuerpo contiene en el núcleo ADN (ácido desoxirribonucleico) el cual sirve como un instructivo para sintetizar biomoléculas (como, por ejemplo, ácido ribonucleico y proteínas) con funciones determinadas. Este ADN se encuentra empaquetado en estructuras llamadas cromosomas, y cada cromosoma tiene miles de segmentos llamados genes.

La información contenida en los genes está escrita en forma de un código de 4 letras (A, T, C y G) cuya secuencia particular (genotipo) determina cómo una célula va a construir sus componentes necesarios. A nivel de un organismo complejo, las interacciones de distintas biomoléculas codificadas en el ADN, tanto entre ellas como con el medio ambiente se manifiestan como características tales como el color de ojos, la altura, etc. A la interacción entre genotipo y ambiente, que da una característica particular, se la conoce

como el fenotipo. Si bien los seres humanos compartimos más del 99% de la secuencia del genoma, pueden existir variaciones (variantes de secuencia) entre individuos. Estas variantes pueden ser responsables de diferencias en fenotipos o incluso en la aparición de alguna enfermedad.

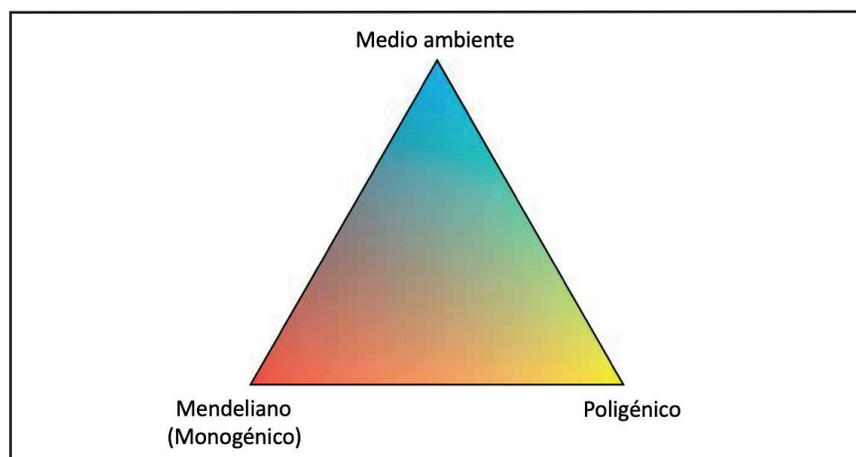
Aunque es una pequeña porción de todo el ADN, entre dos personas existen aproximadamente 3 millones de variantes o diferencias en su secuencia de ADN. Si bien la gran mayoría no van a tener importancia y van a pasar desapercibidos a nivel de salud, podría ocurrir que haya alguna variante que afecte una porción de un gen que sea fundamental. Si esto ocurre, el gen va a ser defectuoso y va a generar una biomolécula (p. ej., proteína) que no será funcional, lo cual llevará a una alteración del correcto funcionamiento de la célula. En estos casos se dice que la variante es patogénica y comúnmente se la denomina mutación.

Existen caracteres o enfermedades que pueden ser explicadas por

una variante (mutación) en un solo gen, llamadas caracteres o enfermedades monogénicas (o mendelianas por seguir las leyes de Mendel); y otros que necesitan ser explicados por la acción conjunta de mutaciones en varios genes, llamadas poligénicas.

Entonces podría considerarse a estas dos categorías como dos extremos de un modelo teórico bastante útil.

Pero, ¿es suficiente pensar únicamente en el componente genético para poder explicar la causa de cierta enfermedad? Definitivamente hay que tener en cuenta el efecto ambiental (como puede ser el estilo de vida, la dieta, el ejercicio, la exposición a distintos contaminantes, etcétera). De esta forma la etiología de cualquier enfermedad podría estar representada por cualquier punto dentro de un triángulo (como muestra la figura 1) en cuyos extremos estarían las enfermedades monogénicas, poligénicas y 100% ambientales.



**Figura 1:** La etiología de cualquier enfermedad puede ser representada como un punto en cualquier lugar dentro de este triángulo. En los extremos encontramos caracteres explicados por factores medioambientales, por mutaciones en un solo gen (monogénicos) o por pequeñas contribuciones de distintos genes (poligénico). En cambio, en caracteres o enfermedades representados dentro del triángulo va a haber un balance o contribución de cada componente al fenotipo final.

¿Cómo encarar un estudio genético habiendo tantas opciones posibles? Una historia familiar detallada podrá dar las primeras pistas: información sobre antecedentes familiares si es que los hubiera, así como la forma en que la enfermedad se fue transmitiendo de generación en generación son de fundamental importancia. Por ejemplo, los casos con un tipo de herencia autosómica dominante (ver tabla 1) fueron y son muy estudiados en el ámbito científico. Se sabe que las demencias neurodegenerativas que siguen un patrón de herencia autosómico dominante tienen una etiología monogénica.

Sabiendo que el ser humano tiene aproximadamente 23 mil genes, ¿cómo sabemos cuál es el responsable de la enfermedad? Para eso hay que tener un gran entendimiento de cómo es la enfermedad, que células afecta y cuáles son los mecanismos de la patología.

### ■ LAS DEMENCIAS NEURODEGENERATIVAS

Las enfermedades neurodegenerativas del adulto son un conjunto de enfermedades caracterizadas por la pérdida progresiva de diversas poblaciones neuronales del sistema nervioso central o periférico. Al estar ligadas al envejecimiento, estas

enfermedades son cada vez más frecuentes debido al aumento de la expectativa de vida de la población mundial.

De acuerdo a las características clínicas primarias y dependiendo qué región del sistema nervioso está afectado, pueden ser clasificadas en síndromes motrices o cognitivos (también conocidas como demencias).

En las enfermedades caracterizadas por una disminución de las capacidades motrices generalmente hay una pérdida progresiva de neuronas llamadas neuronas motoras, que son las encargadas de controlar la actividad muscular. Funciones que se encuentran alteradas en estos casos pueden ser el habla, la marcha, la respiración y la deglución.

Por el contrario, la demencia, es un término general que describe una amplia gama de síntomas asociados con el deterioro de la memoria y otras habilidades del pensamiento, que llevan a reducir la capacidad de una persona de realizar sus actividades diarias (Alzheimer's Association, 2020).

Entonces, ¿en qué punto del triángulo (Figura 1) podríamos ubicar a las demencias neurodegenerativas? Si bien hasta hace unos años atrás

se consideraba que las demencias neurodegenerativas se encontraban, o bien en el extremo medioambiental (demencias esporádicas), o en el extremo monogénico (demencias hereditarias), últimamente se sumó evidencia, y cada vez son más los casos con causa poligénica. Por esto mismo, es que actualmente se la considera una enfermedad con una etiología compleja.

A nivel científico y médico, se subclasifican las demencias según de la edad a la cual el paciente comienza con síntomas. De modo arbitrario, se llegó a un consenso que las edades de comienzo mayores a 65 años son demencias de comienzo tardío mientras que las demencias que inician a una edad menor a 65 años son de comienzo temprano.

¿Por qué esta división? Si pensamos que la edad o el envejecimiento es el principal factor de riesgo, sumado a otros como pueden ser factores ambientales y de estilo de vida, entonces es esperable encontrar casos en adultos mayores de 65 años. Por el contrario, llama la atención cuando el comienzo de síntomas se da en forma temprana debido a que el/los factor/es genético/s tendrían un mayor peso en el desarrollo de la enfermedad.

**Tabla 1. Resumen del modo de herencia autosómico dominante**

- Una persona afectada tiene generalmente al menos un progenitor afectado.
- Afecta indistintamente a ambos sexos.
- Se transmite independientemente del sexo.
- Una persona con un progenitor afectado y otro padre no afectado, tiene un 50% de chances de heredar la enfermedad.

**Tabla 1:** Características y patrones de herencias que se observan en árboles genealógicos cuyo modo de herencia de la patología es autosómico dominante (AD)

## ■ DEMENCIAS DE COMIENZO TEMPRANO: ENFERMEDAD DE ALZHEIMER Y DEMENCIA FRONTOTEMPORAL

Las dos demencias de comienzo temprano más comunes son la Enfermedad de Alzheimer y la Demencia Frontotemporal. En la Enfermedad de Alzheimer los casos de comienzo temprano son realmente muy raros, entre el 1 al 5% del total de casos (Goldman et al, 2011) mientras que los casos de comienzo temprano en Demencia Frontotemporal son aproximadamente el 75% de los casos (Sang Won Seo et al, 2018). Incluso el comienzo de los síntomas de la DFT se suele manifestar a edades más tempranas en comparación a la EA.

Como mencionamos anteriormente, al tratarse de enfermedades neurodegenerativas, existirán regiones del cerebro que se verán afectadas y dependiendo de cuáles sean, se manifestarán distintos síntomas. Por ejemplo, en la enfermedad de Alzheimer la región del cerebro llamada hipocampo es la primera en sufrir daños. La misma es el centro de memoria y aprendizaje, de ahí la pérdida de memoria como uno de los síntomas comunes y tempranos del Alzheimer. La Demencia Frontotemporal, como su nombre lo indica, evidencia daños en los lóbulos frontales y temporales del cerebro. Esto lleva a cambios en el comportamiento y alteraciones en el lenguaje, mientras que la memoria y las funciones visuoespaciales se conservan en general intactas.

Entonces, ¿valdrá la pena analizar genéticamente a un paciente siendo un caso de comienzo temprano? Sí, sin duda es candidato a estudiar variantes genéticas conocidas asociadas a la enfermedad. Y, ¿es necesario que se estudien todos los familiares? Depende del resultado del paciente y de su historia

familiar. Veamos algunos ejemplos de lo que se podría presentar en la práctica clínica.

## ■ DE LA TEORÍA A LA PRÁCTICA: PRIMERAS HERRAMIENTAS EN EL ESTUDIO GENÉTICO

Las personas con historia familiar de demencia podrían estar preocupadas por su propio riesgo o el de otros familiares de desarrollar la enfermedad. Por eso es común que se acerquen a una consulta genética con el objetivo de averiguar las probabilidades de herencia de la enfermedad. Esto pone al médico o genetista en un rol de detective, que estudiará el caso y evaluará el riesgo de cada uno de los familiares.

Como ya mencionamos, hay un paso clave a la hora de decidir cómo encarar el asesoramiento genético: la confección del árbol genealógico. Para esto, el médico y/o genetista realizará un interrogatorio mediante el cual tratará de recopilar la máxima información posible. Las preguntas seguramente estén enfocadas a saber si hay más afectados en la familia e identificar las relaciones entre ellos; reportar si hay casos de consanguinidad; determinar si la enfermedad afecta en la misma proporción hombres y mujeres; conocer las edades de comienzo de los síntomas de cada uno de ellos y, si hay más información acerca de la evolución de la enfermedad, aún mejor.

Dato curioso: puede que el paciente o algún integrante familiar no sea hijo biológico de uno o ambos padres de crianza ya sea por adopción o por las múltiples opciones de reproducción asistida. Es fundamental dar esa información para poder realizar el correcto asesoramiento genético.

El diseño del árbol genealógico

se realiza en base a una serie de reglas y convenciones que fueron propuestas por la "National Society of Genetic Counselors" en el año 2008 y siguen vigentes hasta el día de hoy (Bennett et al, 2008).

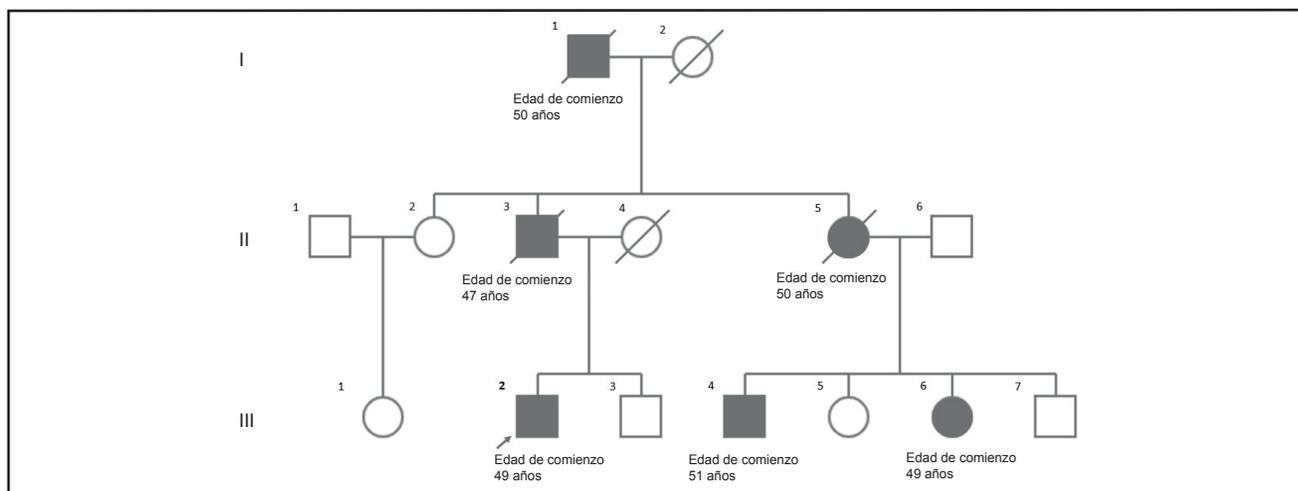
Veamos algunos testimonios y armemos el árbol de la misma forma que lo haríamos en un consultorio o en el laboratorio.

### CASO NÚMERO 1: Demencia Frontotemporal Familiar

*Testimonio (hermano del caso índice): "Hoy acompaño a mi hermano que fue diagnosticado con demencia frontotemporal hace unos años. Esta enfermedad nos viene persiguiendo durante muchos años y yo estoy muy preocupado por mi salud y la de mis futuros hijos. Mi papá y su hermana mayor la sufrieron, deterioraron muy rápido. Ahora algunos de mis primos ya están con síntomas. El registro más antiguo que tengo de esta enfermedad es el de mi abuelo, que no se sabía bien qué es lo que tenía en su momento, pero ahora suponemos que lo mismo que mi papá y hermano".*

Luego de recopilar un poco más de información se pudo confeccionar el árbol de la Figura 2. A simple vista se puede ver que hay varios afectados en la familia. En este caso, cada individuo enfermo fue diagnosticado con Demencia Frontotemporal. Llama la atención que hay afectados en cada una de las generaciones sin importar el sexo del individuo. Si se entra en detalle, no solo se ve que las edades de comienzo de síntomas son muy similares entre los afectados (entre 47 a 51 años) sino que también son edades de comienzo muy tempranas.

Este es un claro ejemplo de una enfermedad con un tipo de herencia autosómica dominante. Hay



**Figura 2:** Árbol genealógico del caso N°1. Personas coloreadas están afectadas con Demencia Frontotemporal. Los círculos representan a individuos de sexo femenino y los cuadrados individuos del sexo masculino. Aunque con el fin de preservar la confidencialidad de los individuos se recomienda representarlos con un rombo. Con la flecha se indica el caso índice. La línea diagonal que atraviesa a las figuras indica que el individuo ha fallecido. Los números romanos indican el número de generación.

informes que indican que, en estos casos, las probabilidades de encontrar una mutación patogénica son del 40-80% (Goldman et al, 2011). Dado este panorama, es altamente probable que en esta familia exista una causa genética para DFT.

Luego de un asesoramiento genético y de los correspondientes consentimientos informados se diseñó el análisis genético. Lógicamente, siempre se empieza estudiando los genes que se encuentran más comúnmente afectados en esta patología.

En esta familia, se encontró una variante patogénica en un gen llamado *MAPT* en todos los afectados. Su nombre se debe a las siglas en inglés del gen que codifica para la proteína tau asociada a microtúbulos. La proteína tau ayuda a estabilizar los microtúbulos, que representan el andamiaje y estructura de los axones neuronales. Es de esperar que defectos en esta proteína afecte a la conectividad neuronal. Hemos encontrado al primer sospechoso. Considerando que esta misma mu-

tación ya fue descrita en otros casos muy similares y que el gen *MAPT* está muy estudiado y asociado a Demencia Frontotemporal, bastaría con además comprobar que la mutación está ausente en los familiares sin síntomas como para considerarlo el único responsable. Estamos frente a una enfermedad de causa **monogénica**.

¿Qué quiere decir este hallazgo en esta familia? ¿Cuáles son las probabilidades de que un padre afectado le transmita la enfermedad a sus hijos? Cada individuo afectado y portador de la mutación encontrada tiene un 50% de chances de transmitir el gen defectuoso a cada uno de sus hijos. Como tirar una moneda y que caiga en cara o seca.

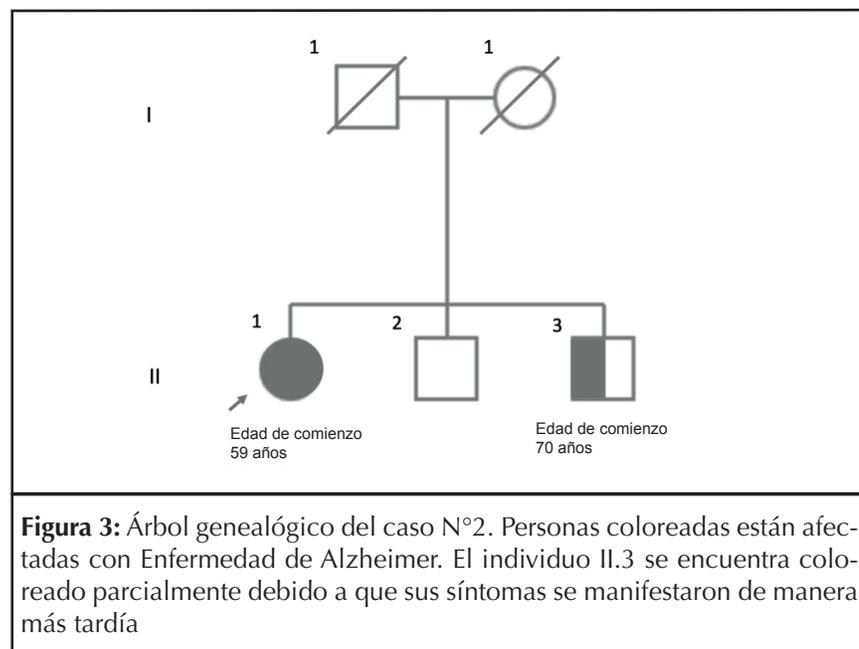
¿De qué sirve la información genética en esta familia? Quizás sea una pregunta que se debería hacer y tener en cuenta antes de realizar el análisis genético. Por un lado, en las personas sintomáticas ayuda a confirmar el diagnóstico e identificar la causa de la demencia que muchas veces no es algo menor consideran-

do la ardua odisea que atraviesan los pacientes por falta de diagnóstico certero. Por más que hoy en día no existe un tratamiento para la demencia, el diagnóstico genético permitirá el acceso a ciertos ensayos clínicos para potenciales abordajes terapéuticos.

Por otro lado, en familiares asintomáticos permite una detección temprana y minimizar la odisea del diagnóstico, acceso a ensayos de prevención y tomar decisiones a futuro que incluyan por ejemplo una planificación familiar.

## CASO NÚMERO 2: Enfermedad de Alzheimer

*Testimonio (hermano del caso índice): "Acompañé a la consulta a mi hermana quien fue diagnosticada a los 60 años con demencia. Ella había estado desde hace un año con problemas de memoria y ahora ya ni siquiera me reconoce. Empezó muy temprano y su evolución fue muy rápida. Mis padres fueron dos personas muy sanas. La enfermedad de mi hermana nos sorprendió a todos. Di-*



*ría que fue el primer caso de demencia en mi familia, aunque, ahora que lo pienso bien, mi hermano menor empezó el año pasado a manifestar problemas en algunas actividades cotidianas”.*

Con un poco más de detalle se obtuvo el árbol genealógico de la Figura 3. En la familia se registran dos hermanos afectados. El caso índice (mujer indicada con la flecha) presentó un cuadro de Alzheimer a la edad de 59 años. Su hermano menor, presentó cambios cognitivos leves a una edad más avanzada (70 años). Sus padres fueron individuos sanos, o eso reflejaron hasta el momento de su muerte.

¿Vale la pena hacer un análisis genético en este caso? ¿Qué información adicional nos puede brindar? Dado que el caso índice tuvo un inicio de síntomas a una edad temprana, por más de que no hay una clara herencia familiar debido a que sus padres fueron aparentemente asintomáticos, se decide analizar en este caso los tres genes más frecuentemente mutados que podrían explicar un comienzo temprano. En los casos de Alzheimer, estos tres

genes son *PSEN1*, *PSEN2* y *APP*. Recordemos que de todos los casos de Alzheimer de comienzo temprano, estos 3 genes permiten explicar solo entre el 5 al 10% de los casos (Rita Cacace et al 2016).

La secuenciación y el análisis de estos tres genes en el caso índice muestran una secuencia normal. Es decir, en este caso no se puede explicar la patología ni el comienzo temprano por tener uno de estos genes tan estudiados defectuosos. Por lo tanto, este paciente pertenece al 90-95% de pacientes con comienzo de síntomas temprano que hasta el momento no puede ser explicado por una etiología monogénica.

¿Qué se puede hacer en estos casos? ¿Dejamos el caso inconcluso? La respuesta es no. Aunque no podemos encontrar hoy en día un único responsable, podemos decir que hay varios sospechosos. Las nuevas tecnologías para secuenciar el ADN hoy en día permiten analizar varios genes (por no decir todos) al mismo tiempo. Por lo tanto, a pesar de no haber encontrado mutaciones en los 3 genes más importantes, sí se encontraron variantes en otros. Se trata

de genes que hasta el momento no han sido descritos como responsables del desarrollo de Alzheimer sino que, más bien, han sido asociados a la enfermedad como factores de riesgo.

Así como la edad, fumar, la diabetes, la falta de actividad física, una mala alimentación son factores de riesgo para estas enfermedades neurodegenerativas, se puede pensar de la misma forma a algunas variantes genéticas. Por más que no hayan sido reportadas como patogénicas en esta enfermedad, la ciencia ha demostrado que las mismas pueden ejercer un efecto menor, funcionar como variantes de riesgo y conferir una susceptibilidad más alta a desarrollar la patología. La sumatoria de factores de riesgo puede determinar la aparición o no de síntomas.

Entonces, volviendo a la familia, el caso índice (señalado con una flecha en el árbol genealógico) presenta 3 variantes en tres de estos genes que confieren distintos niveles de riesgo. Mientras que el hermano, más levemente afectado, presentó dos de estas variantes. Obviamente estas variantes en genes fueron heredadas de uno o ambos padres. Sin embargo, tiene sentido pensar que las variantes en los padres no hayan sido suficientes para desarrollar la enfermedad por lo menos hasta el momento de su muerte.

¿Qué información nos brindó este estudio genético? A nivel individual hay mucha controversia respecto al asesoramiento genético en estos casos donde no hay una variante patogénica reportada como tal. Pero el aporte y la información es importante en el ambiente científico donde se sigue sumando evidencia de casos de demencia de comienzo temprano con una sumatoria de factores de riesgo genéticos, es decir, con una etiología **poligénica**.

## ■ ¿ENFERMEDAD MONOGENICA O POLIGENICA? ¿UN CULPABLE O VARIOS SOSPECHOSOS?

Tiene que quedar claro que suelen existir casos en los cuales el culpable está a la luz de los hechos, pero lamentablemente para los detectives de la genética estos no suelen ser la mayoría. La mayoría de los casos que presentan suelen ser complejos, como este último ejemplo, donde no parece haber un único culpable si no que hay varios sospechosos trabajando conjuntamente. Hoy por hoy, resulta difícil determinar el grado de culpabilidad de cada uno de estos sospechosos, pero no cabe duda que desenmascararlos es un gran avance e incluso puede llegar a solucionar muchos casos futuros.

El campo de la herencia poligénica en enfermedades neurodegenerativas está en pleno esplendor y presupone dejar en "stand by" la herencia monogénica que ya ha sido muy estudiada. Hay muchas expectativas puestas en el estudio de estos casos; primero, porque quizás empiecen a poder explicarse algunos que antes quedaban inconclusos y, segundo, porque permitirá tener un entendimiento genético más abarcativo y un impacto a nivel clínico en el futuro.

Se espera que, en un futuro no tan lejano, una persona pueda analizar todo su ADN, es decir todos sus genes, y se pueda calcular un valor que indique la susceptibilidad a desarrollar la enfermedad. Este valor, o en ciencia llamado PRS (puntaje de riesgo poligénico) tendrá en cuenta todas las variantes, evaluará el peso de cada una y arrojará un valor que permitirá saber si el paciente o sus familiares se encuentran en un grupo de alto o bajo riesgo. Cabe enfatizar que un puntaje de riesgo alto no significa que la persona indefectiblemente desarrollará la enfermedad, ni que la de bajo riesgo nunca

presentará síntomas. Sin embargo, podría ser importante a la hora de adoptar cambios en el estilo de vida.

## ■ ¿QUÉ NOS DEPARA LA CIENCIA EN EL CAMPO DE LA NEURODEGENERACIÓN?

Imaginemos el siguiente panorama: si cada vez más grupos de investigación ponen énfasis en el descubrimiento de genes y mutaciones tanto causales como de riesgo va a haber más información de cuáles son los componentes que al verse afectados confieren riesgo de desarrollo de la enfermedad. Al identificarlos, el próximo paso es identificar todas las vías celulares en las que estos están involucradas y así poder dilucidar los mecanismos de las patologías.

¿Para qué sirve esto? No solo para la búsqueda de alternativas terapéuticas sino para desarrollar nuevas formas de monitorear las enfermedades e incluso poder identificar pacientes antes del inicio de síntomas.

¿Qué pasaría si el diagnóstico de demencia se hace antes del comienzo de los síntomas? Futuros tratamientos podrían ser utilizados en estas etapas, aún antes que el daño cerebral irreversible y el deterioro cognitivo ocurra.

Adoptando un abordaje más amplio, si a todos los hallazgos a nivel genético, le sumamos los avances que se están dando en el área de la proteómica, transcriptómica, metilómica, nuevos desarrollos de fármacos y de factores ambientales, se podrán implementar en el mediano plazo nuevas estrategias preventivas y de tratamiento.

## ■ GLOSARIO:

**ADN (ácido desoxiribonucleico):** Macromolécula compuesta por una

cadena de nucleótidos. Los cuatro nucleótidos que forman estas cadenas son adenina (A), timina (T), citosina (C) y guanina (G). Constituye el almacenamiento del material hereditario de una célula.

**Árbol genealógico:** representación gráfica de los vínculos familiares y la historia de fenotipo(s) característico(s)

**Axón:** Larga prolongación de una célula nerviosa capaz de conducir con rapidez impulsos nerviosos a largas distancias, proporcionando señales a otras células.

**Consanguinidad:** relación o unión familiar entre personas que tienen un antepasado en común.

**Demencia:** término general que describe una amplia gama de síntomas asociados con el deterioro de la memoria y otras habilidades del pensamiento, que llegan a reducir la capacidad de una persona de realizar sus actividades diarias.

**Ensayo clínico:** Estudios de investigación que se realizan en individuos, los cuales se diseñan con el fin de responder preguntas científicas y para encontrar nuevos y mejores tratamientos para ayudar a quienes padecen distintas enfermedades.

**Etiología:** Parte de la medicina que estudia el origen o las causas de las enfermedades.

**Fenotipo:** Características observables y/o cuantificables producto de la interacción entre genotipo y ambiente.

**Gen:** Unidad biológica de información genética. Se localiza en una posición definida (locus) en un cromosoma determinado y contiene la información para obtener un producto funcional.

**Generación:** Grupo de individuos genéticamente relacionados que constituyen un nivel dentro de la línea de descendencia.

**Genotipo:** Conjunto de genes que tiene una célula individual o un organismo. También se utiliza para designar secuencias específicas de regiones acotadas en el genoma.

**Herencia:** Características fisiológicas, morfológicas o bioquímicas que los progenitores transmiten a través de las generaciones.

**Hipocampo:** Región del cerebro que es el centro del aprendizaje y la memoria.

**Neurona:** Célula nerviosa con sus prolongaciones colaterales y terminal; unidad estructural del sistema nervioso

**Proteína:** Principal constituyente macromolecular de las células. Polímero lineal de aminoácidos unidos entre sí mediante enlaces peptídicos, siguiendo una secuencia determinada.

**Secuenciación:** Determinación del orden de nucleótidos de una molécula de ADN.

**Variante (mutación):** Cambio en la secuencia del ADN con respecto a una secuencia de referencia.

**Vía celular:** Serie de reacciones que ocurren entre moléculas dentro de una célula que lleva a la obtención de un producto o a un cambio a nivel celular. Pueden desencadenar la síntesis de nuevas moléculas o, incluso, llevar a la expresión o silenciamiento de genes.

#### ■ BIBLIOGRAFÍA:

Alzheimer's Association (2020). Alzheimer's Disease Facts and Figures. *Alzheimer's Dement* 2020;16(3):391+.

Bennett, RL (2008). Standardized human pedigree nomenclature: update and assessment of the recommendations of the National Society of Genetic Counselors. *Journal of genetic counseling* vol. 17,5.:424-33.

Cacace, R (2016). Molecular genetics of early-onset Alzheimer's disease revisited. *Alzheimer's & dementia: the journal of the Alzheimer's Association* vol. 12,6: 733-48.

Goldman, JS (2011). Genetic counseling and testing for Alzheimer disease: joint practice guidelines of the American College of Medical Genetics and the National Society of Genetic Counselors. *Genetics in medicine: official journal of the American College of Medical Genetics* vol. 13,6: 597-605.

Seo, SW (2018). Early vs late age at onset frontotemporal dementia and frontotemporal lobar degeneration. *Neurology* vol. 90,12: e1047-e1056.

Strachan, T. (2018) Human molecular genetics 5th ed. Garland Science.

# GENÉTICA DE LA AUDICIÓN EN ARGENTINA: ESCUCHANDO AL GENOMA

Palabras clave: Hipoacusia, sordera, genes, diagnóstico molecular.  
Key words: Hearing loss, deafness, genes, molecular diagnosis.

La hipoacusia es el desorden neurosensorial más común que afecta aproximadamente a 460 millones de personas en el mundo. En más de la mitad de los casos la causa de la sordera es de origen genético y su prevalencia aumenta con la edad. Se conocen actualmente más de 100 genes que pueden relacionarse con el daño auditivo. La mayoría de los pacientes no evidencian ningún otro síntoma asociado (forma no sindrómica, 70%) y presentan un tipo de herencia autosómica recesiva (80%). Los genes que se encuentran más frecuentemente alterados en individuos con hipoacusia no sindrómica de herencia recesiva son *GJB2* y *GJB6*, que en algunas poblaciones alcanza el 30-50% del diagnóstico. La detección temprana es fundamental, ya que el tratamiento inmediato tiene un impacto exponencial en el desarrollo de las distintas habilidades de la audición y el lenguaje. Es por esto, que entender las causas subyacentes de la hipoacusia hereditaria se convierte en un tema de importancia mayor. En este trabajo resumimos las distintas formas de identificar, describir y estudiar las variantes genéticas en diversos genes relacionados con la patología. Además, diseñamos un algoritmo secuencial para el abordaje multigénico de la hipoacusia, que involucra tanto técnicas rutinarias de biología molecular como estudios de última generación. De este modo, logramos un diagnóstico molecular certero, y en consecuencia, un preciso asesoramiento genético y clínico para el paciente.

■ **Paula Buonfiglio, Ana Belén Elgoyhen y Viviana Dalamon\***

Laboratorio de Fisiología y Genética de la Audición. Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular "Dr Héctor Torres" - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas - INGENI / CONICET - Vuelta de Obligado 2490, CABA

E-mail: [vivaldamon@gmail.com](mailto:vivaldamon@gmail.com)\*

Hearing loss is the most common sensory disorder affecting approximately 460 million people worldwide. In more than half of the cases, the cause of hearing impairment is genetic and to date more than 100 genes have been related to hearing damage. Most of the patients do not exhibit any other associated symptoms (non-syndromic form, 70%) and present an autosomal recessive mode of inheritance (80%). *GJB2* and *GJB6* are the most frequently altered genes in individuals with recessive inherited non-syndromic hearing loss, which in some populations reach 30-50% of diagnosis rate. Early detection results essential, since treatment has an exponential impact on the development of hearing and language skills. This is the reason why understanding the underlying causes of hereditary hearing loss becomes a major issue. In this work we summarize possible ways to identify, describe and study the prevalence of genetic variants in genes related to the disease. In addition to design a suitable algorithm for the sequential multigenic approach of hearing loss that involves both everyday routine molecular biology techniques and next generation sequencing techniques. In this way, we achieve an accurate molecular diagnosis, and hence, a precise clinical and genetic counseling for the patient.

## ■ INTRODUCCIÓN:

La pérdida auditiva es el defecto neurosensorial más frecuente en los países desarrollados, se estima que 1 de cada 500 recién nacidos posee una pérdida de audición bilateral moderada en forma permanente, provocando en el afectado dificultades en la producción del lenguaje y el habla, como también en su

desarrollo cognitivo, psico-social y académico, limitando su calidad de vida. La disfunción auditiva es causada tanto por factores ambientales como genéticos y la proporción de casos que pueden ser atribuidos a causas hereditarias aumenta en forma continua.

Acorde a los datos de la OMS, se

calcula que afecta a más de 460 millones de personas en el mundo (más del 5% de la población mundial), de las cuales 34 millones son niños; y se estima que en 2050, más de 900 millones de personas —es decir, una de cada 10— sufrirá una pérdida de audición discapacitante (*Sordera y Pérdida de la Audición*, n.d.). La situación de las personas que padecen

pérdida de audición cambia radicalmente mediante la utilización de audífonos, implantes cocleares y otros dispositivos de ayuda auditiva. Actualmente se encuentran en estudio y desarrollo nuevas estrategias de terapia génica para restaurar y prevenir distintas formas de hipoacusia neurosensorial. Varios trabajos han demostrado el potencial poder terapéutico de agentes moleculares dirigidos al oído interno, corrigiendo o previniendo la hipoacusia y volviendo realidad lo que hasta hace poco parecía imposible (Farooq et al., 2020; Hampton, 2012; Kim et al., 2019; Lustig & Akil, 2019; Omichi et al., 2019). Las nuevas terapias génicas resultan prometedoras ya que ofrecen restaurar la audición, basándose en una terapia dirigida acorde al tipo de variante genética presente en el paciente, volviendo una vez más al estudio genético como punto crítico para el tratamiento futuro (Chien et al., 2015; Ren et al., 2019).

En más de la mitad de los casos la causa de la hipoacusia es genética y se conocen actualmente más de 100 genes que pueden relacionarse con el daño auditivo. Gracias a los programas obligatorios de exploración auditiva en recién nacidos que se han implementado en todo el mundo, es posible detectar la pérdida auditiva de manera temprana, momento en el cual la intervención en cualquiera de sus formas tiene sus mejores resultados. Se ha demostrado que la estimulación temprana es crítica para el desarrollo de los centros corticales involucrados en la audición, facilitando la plasticidad neuronal y favoreciendo la interpretación posterior del sonido. En consecuencia, el conocimiento profundo de las causas genéticas de cada una de las hipoacusias y la implicancia funcional sobre los distintos componentes del sistema auditivo, tiene un impacto inmediato en la implementación de las distintas

terapias (Trumpp & Kiefer, 2018).

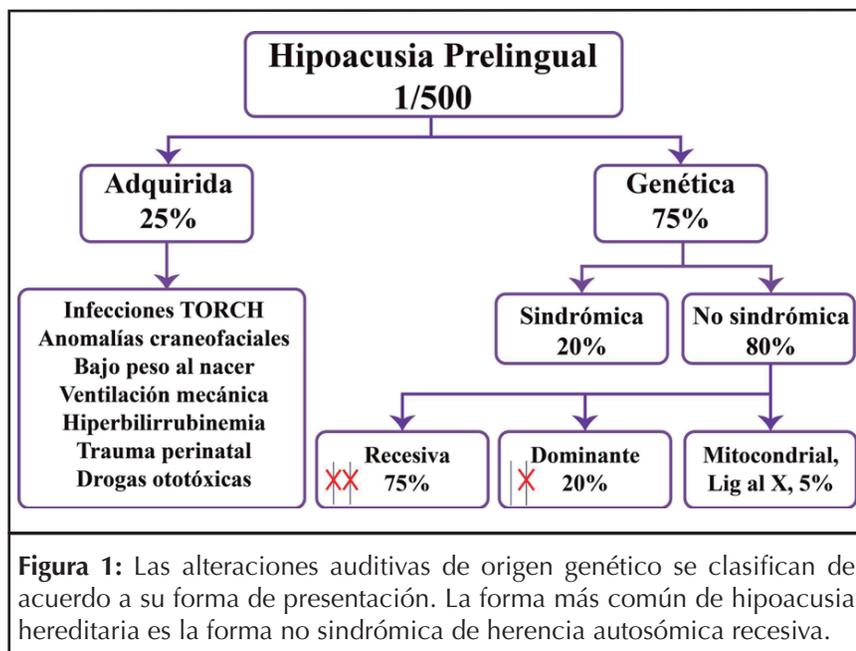
El objetivo principal de los estudios genéticos en pacientes con hipoacusia es elucidar el rol que juegan determinadas alteraciones genéticas en la generación, progresión y severidad de la hipoacusia en humanos. Además, encontrar marcadores de evolución de la enfermedad y del tratamiento instaurado, así como decidir sobre el mejor tratamiento a seguir. El diagnóstico genético impacta en la toma de decisiones personales del afectado y su familia, y por otro lado también permite ahorrar dinero al sistema de salud al dirigir la evaluación clínico-terapéutica y obviar tests innecesarios. Por otro lado, se ha visto que en un gran porcentaje de casos el estudio genético permite la identificación de síndromes que no han sido detectados por la clínica, permitiendo el manejo temprano y la toma de decisiones (Kimberling et al., 2010).

El advenimiento de las técnicas de secuenciación masiva, ha revolucionado el estudio y tratamiento de los pacientes con hipoacusia al convertir los test genéticos en algo cercano y posible (Hilgert, Smith, & Camp, 2009; Shearer et al., 2015). Los estudios genéticos se han vuelto moneda corriente y es por ello que se ha vuelto accesible secuenciar y estudiar la totalidad del genoma, y por ende la cantidad de genes que se desee para la patología. En este trabajo presentaremos los aspectos generales de las hipoacusias hereditarias (tanto sindrómicas como no sindrómicas), así como también el algoritmo de estudio diseñado en nuestro Laboratorio de Fisiología y Genética de la Audición, INGEBI/ CONICET - Buenos Aires, Argentina. Además, algunos resultados del estudio de más de 600 pacientes en nuestro laboratorio en los últimos años.

## ■ PREVALENCIA, ETIOLOGÍA Y TIPOS DE PRESENTACIÓN:

Se considera que 1 de cada 500-1.000 recién nacidos posee algún tipo de deficiencia auditiva, aunque la prevalencia de la hipoacusia neurosensorial continúa aumentando durante la infancia hasta alcanzar valores de 2,7 de cada 1.000 niños menores a 5 años y 3,5 de cada 1.000 durante la adolescencia (Morton & Nance, 2006). Este aumento de la prevalencia con la edad refleja claramente el impacto de la interacción de la genética con el ambiente, como se demuestra en la ototoxicidad generada por los aminoglucósidos, la otitis media secretora y la otoesclerosis (Hilgert, Smith, & Van Camp, 2009).

En los países desarrollados, cerca del 75% de los casos de hipoacusia se atribuyen a causas genéticas. Son muy heterogéneas en su forma de presentación, y son trastornos monogénicos, es decir, causados por mutaciones en un solo gen. La forma más común de hipoacusia hereditaria es la forma no sindrómica (sin otro signo asociado) de herencia autosómica recesiva (80%), es decir en donde ambos padres poseen alguna alteración genética que transmitieron a su descendencia (aún cuando ellos no necesariamente presenten síntomas). El 20% restante se distribuye entre las formas autosómica dominante (12-15%), en donde sólo uno de los progenitores posee alguna alteración genética y su transmisión es suficiente para la aparición de los síntomas, aquellas ligadas al cromosoma X (1-5%) y las de herencia materna por mutaciones en el ADN mitocondrial (1-5%). Son menos frecuentes las formas sindrómicas de la hipoacusia (30%), entre los más vistos tenemos al Síndrome de Pendred (con acueducto vestibular agrandado y alteraciones tiroideas), Usher (retinitis pigmentosa), Waar-



denburg (anormalidades de pigmentación) y el braquio-oto-renal (BOR) (Figura 1). Información detallada puede encontrarse en la página “Hereditary Hearing Loss Homepage” (Welcome to the Hereditary Hearing Loss Homepage, n.d.) .

#### ■ TIPOS DE PÉRDIDA AUDITIVA:

Los individuos con distintas formas de hipoacusia son evaluados audiológicamente mediante distintos estudios que establecen no sólo la severidad de la afección, sino también su localización, las frecuencias afectadas y su evolución en el tiempo. Se clasifican de acuerdo con su severidad en: leve, moderada, severa y profunda. Las curvas audiométricas se clasifican según las frecuencias en que se produce la pérdida auditiva: con caída en agudos, chata, con caída en graves, en U (caída en tonos medios). Según la edad de inicio de la hipoacusia se dividen en: prelingual (antes de la adquisición del habla), perilingual (entre los 2 y 5 años) y postlingual (posterior a la adquisición del habla).

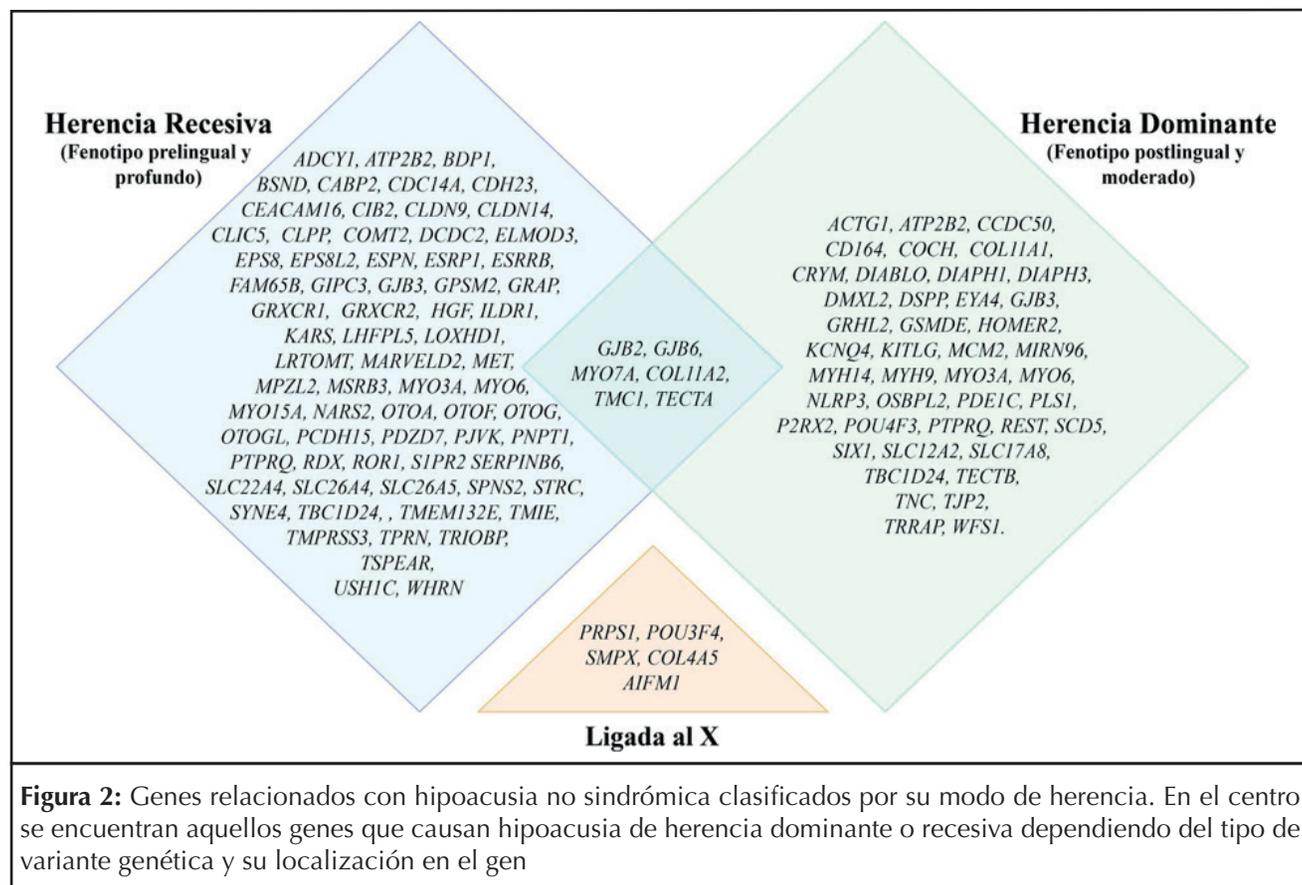
#### ■ CON TANTOS GENES INVOLUCRADOS, ¿CUÁLES SON LOS PRIMEROS EN ESTUDIARSE?

Aproximadamente, el 70% de las hipoacusias hereditarias son no sindrómicas y hasta la fecha se han identificado 121 genes relacionados con la misma: 76 con un modo de herencia recesivo, 49 dominantes y 5 ligados al cromosoma X (algunos genes puede causar hipoacusia de herencia dominante o recesiva dependiendo de cuál sea la mutación que presenten) (Website, n.d.) (Figura 2). Con respecto a la clínica o la forma de presentación, si bien es muy difícil hacer generalizaciones, podríamos decir que la mayoría de las variantes de secuencia en los genes de herencia autosómica dominante se relacionan con hipoacusia postlingual moderada y la mayoría de las alteraciones en los genes de herencia recesiva causan hipoacusia prelingual severa-profunda. Si bien hay algunas excepciones, en la mayoría es posible correlacionar la presentación clínica con la causa genética, lo que permite orientar el estudio genético posterior. Los genes ligados al cromosoma X pueden ser

pre o post linguales y de diversas severidades.

Cabe destacar, que la forma del audiograma puede volverse útil para predecir genes candidatos para el estudio genético. Por ejemplo, los pacientes con variantes genéticas en el gen *WFS1* (hipoacusia no sindrómica de herencia autosómica dominante) poseen un audiograma que afecta inicialmente las frecuencias bajas, pero mantiene las altas frecuencias normales. Otro ejemplo, es el de determinadas mutaciones en el gen *TECTA* que producen un cambio característico en forma de U en el audiograma (al afectar sólo a las frecuencias medias- se lo denomina en “cookie bite”). Características de los audiogramas y los genes a los que se los relaciona pueden deducirse relativamente utilizando el programa “audiogene” de la Universidad Iowa (<https://audiogene.eng.uiowa.edu/audioprofiles>).

Puede decirse en forma muy resumida, que la estrategia diagnóstica se basa primero en encontrar o descartar las causas genéticas más frecuentes, para luego ampliar el estudio en caso de que el paciente resulte negativo en esos genes. En la mayoría de las poblaciones estudiadas, el mayor porcentaje diagnóstico se debe a variantes genéticas en los genes *GJB2* y *GJB6*, que codifican para las proteínas conexina 26 y conexina 30 respectivamente (Dalmón et al., 2010; Estivill et al., 1998; Kelsell et al., 1997; Lee et al., 1992; R. Rabionet et al., 2000a; Sloan-Heggen et al., 2016; Zelante et al., 1997). Las variantes de secuencia en estos dos genes son responsables del 10-25% de las hipoacusias no sindrómicas, por lo que siguen siendo hoy en día el primer blanco de estudio en todos los laboratorios de genética clínica (Kenneson et al., 2002). En varios trabajos publicados



por nuestro laboratorio, hemos podido establecer que las mutaciones en ambos genes son también las más frecuentes en nuestra población, detectando 48 mutaciones distintas en *GJB2* y reportando 4 mutaciones nuevas que fueron subidas a las bases de datos para ser contrastadas en otras poblaciones (Buonfiglio et al., 2020; Dalamon et al., 2016; Dalamon et al., 2005, 2009, 2013; Dalamon et al., 2016).

Hasta la fecha se han detectado más de 300 variantes genéticas distintas en el gen *GJB2* (se pueden consultar en las bases de datos ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>) y "Deafness Variation Database" (<http://deafnessvariation-database.org>). Claramente, existen variantes genéticas que se presentan con mayor frecuencia en determinadas poblaciones. Así, se ha descrito que una delección puntual de la guanina en la posición 35 del gen

(c.35del) es responsable del 80% de los alelos mutados en la población Caucásica, la delección de la citosina 235 (c.235del) es la de mayor frecuencia en Japón, China y Corea; y la delección de una timina en la posición 167 del gen (c.167del), se encuentra presente en el 4% de la población de judíos Ashkenazi (Gasparini et al., 2000; Rabionet et al., 2000b; Rabionet et al., 2000; Xia et al., 2019).

En la población Española, se han reportado dos grandes delecciones de 309Kb y 232Kb en el gen *GJB6*, las cuales resultan las mutaciones más frecuente, luego de la c.35del en la conexina 26. Se las denomina del(*GJB6-D13S1830*) y del(*GJB6-D13S1854*) y se las encuentra frecuentemente con otras mutaciones en *GJB2* (del Castillo et al., 2005; Del Castillo et al., 2003; Marlin et al., 2005).

Es preciso mencionar como otro blanco importante de estudio a una delección que involucra a todo el gen *STRC* ubicado en el cromosoma 15q15.3. La incidencia de grandes delecciones en *STRC* sería cercana al 5%, posicionándolo como la segunda causa de sordera genética luego de las mutaciones puntuales en *GJB2* (Francey et al., 2012; Morgan et al., 2020; Shearer et al., 2014; Vona et al., 2015; Yokota et al., 2019). Se ha reportado que algunas delecciones que inactivan al gen *STRC* afectarían al gen vecino *CATSPER2*, involucrado en la motilidad del esperma, por lo que se han relacionado no sólo con hipoacusia sino también con infertilidad en hombres (Zhang et al., 2007).

Otro blanco de estudio que cobra relevancia para la hipoacusia recesiva no sindrómica se encuentra en el gen *OTOF*. Esto se debe a que la mutación Q829X (también llamada

Gln829\*) sería la tercera causa más frecuente de sordera en la población Española (Yasunaga, Grati et al. 1999, Migliosi, Modamio-Hoybjor et al. 2002, Rodríguez-Ballesteros, del Castillo et al. 2003).

Por lo tanto, podemos resumir diciendo que los estudios genéticos siguen hoy un algoritmo diagnóstico que involucra primero el estudio de unos pocos genes y una vez descartados, se prosigue con el estudio de la mayoría o todos los genes reportados mediante secuenciación masiva.

### ■¿PUEDE EL ESTUDIO GENÉTICO AYUDARME A DECIDIR MI TRATAMIENTO?

Más allá de la gran cantidad de genes relacionados con la pérdida auditiva, algunos genes siguen siendo de interés diagnóstico o pronós-

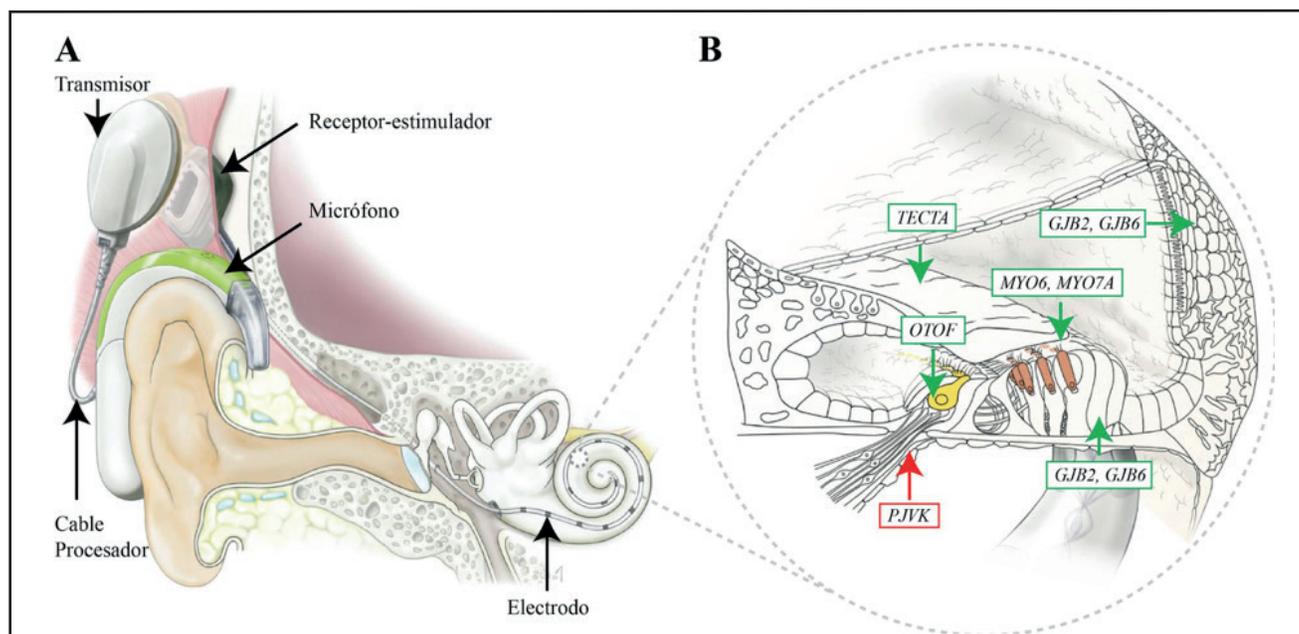
tico, ya que permiten la toma de decisiones con respecto a la evolución de la patología y a la respuesta al tratamiento instaurado. Entre ellos encontramos a determinados genes relacionados con la neuropatía auditiva, el implante de cóclea o a aquellos relacionados con la ototoxicidad a determinadas drogas.

En forma resumida podría decirse que aquellos pacientes con variantes de secuencia identificadas en genes que se expresan en el epitelio sensorial del oído interno, adquirirán mejores y mayores capacidades auditivas y/o lingüísticas comparados con aquellos que posean alteraciones en genes implicados en la funcionalidad de la parte neural; sugiriendo por lo tanto que la identificación de los antecedentes genéticos facilita la predicción de la performance post-implante (Miyagawa et al., 2016). Es

decir, el resultado del implante coclear podría predecirse, en caso de conocer la localización de la lesión o disfunción auditiva (**Figura 3**).

Por ejemplo, los pacientes con alteraciones pre-sinápticas como es el caso de aquellos con variantes genéticas detectadas en el gen *OTOF*, se verían beneficiados por el implante; mientras que se presume que aquellos pacientes con alteraciones en el gen *PJVK* no tendrían un buen pronóstico al implante de cóclea, ya que la localización de la lesión puede considerarse en el nervio auditivo, el cual conduce la señal nerviosa hacia los centros corticales (Park et al., 2017; Rahbar et al., 2006).

Lo que es más, varios autores han sugerido que el diagnóstico molecular debería ser implementado como parte de las evaluaciones pre-quirúr-



**Figura 3:** A: Oído humano con implante coclear colocado, la parte externa consta de un procesador de audio y un transmisor y en la parte interna un electrodo que se introduce en la cóclea y que se conecta con el nervio auditivo. B: Zoom sobre el órgano de Corti que se encuentra dentro de la cóclea. En color rojo se marca la flecha que indica la parte neural del sistema auditivo (fibras aferentes nerviosas) mientras que en verde se indican algunos componentes del epitelio sensorial (células ciliadas y células de soporte). Aquellos pacientes con variantes de secuencia identificadas en genes que se expresan en el epitelio sensorial del oído interno (verde), adquirirán mejores capacidades auditivas comparados con aquellos que posean mutaciones en genes que alteren la funcionalidad de la parte neural (rojo); sugiriendo por lo tanto que la identificación del antecedente genético facilita la predicción de la performance post-implante. Imagen editada de (Usami et al., 2020).

gicas del implante, ya que se considera que puede proveer información pronóstica y permitiría dimensionar las expectativas al tratamiento en forma más realista y cuantificable (Yan et al., 2013; Yoshida et al., 2013).

**■ GENÉTICA + AMBIENTE. LOS ANTIBIÓTICOS Y LA SORDERA:**

Se ha establecido que determinadas mutaciones en el ADN mitocondrial sensibilizarían a las células del oído interno a la toxicidad por aminoglucósidos, utilizadas en el tratamiento contra bacilos gram negativos (como la gentamicina). La hipoacusia es generalmente bilateral y severa-profunda, con un inicio dentro de los días a semanas luego de la administración aún en una sola dosis y en rangos terapéuticos (Prezant et al., 1993; S. Usami et al., 1997; S.-I. Usami & Nishio, 2004). Estas drogas generarían la destrucción de las células ciliadas del oído interno y de neuronas de esa región, con la consecuente pérdida permanente de la audición. La presencia de determinadas mutaciones serían altamente predictivas de riesgo de hipoacusia adquirida post tratamiento antibiótico. En particular las mutaciones m.A1555G, m.C1494T y m.961delT+C(n) en el gene *MT-RNR1* son los primeros blancos de estudio al analizar la hipersensibilidad a aminoglucósidos, que conlleva a la pérdida auditiva. Por ejemplo, la presencia de la variante m.A1555G produce una modificación en el 12 rRNA (ácido ribonucleico), haciendo que su estructura sea muy similar a la región blanco de *E. coli* (bacteria muy común) 16S rRNA, y por lo tanto blanco vulnerable de estos antibióticos (Guaran et al., 2013; Wu et al., 2018).

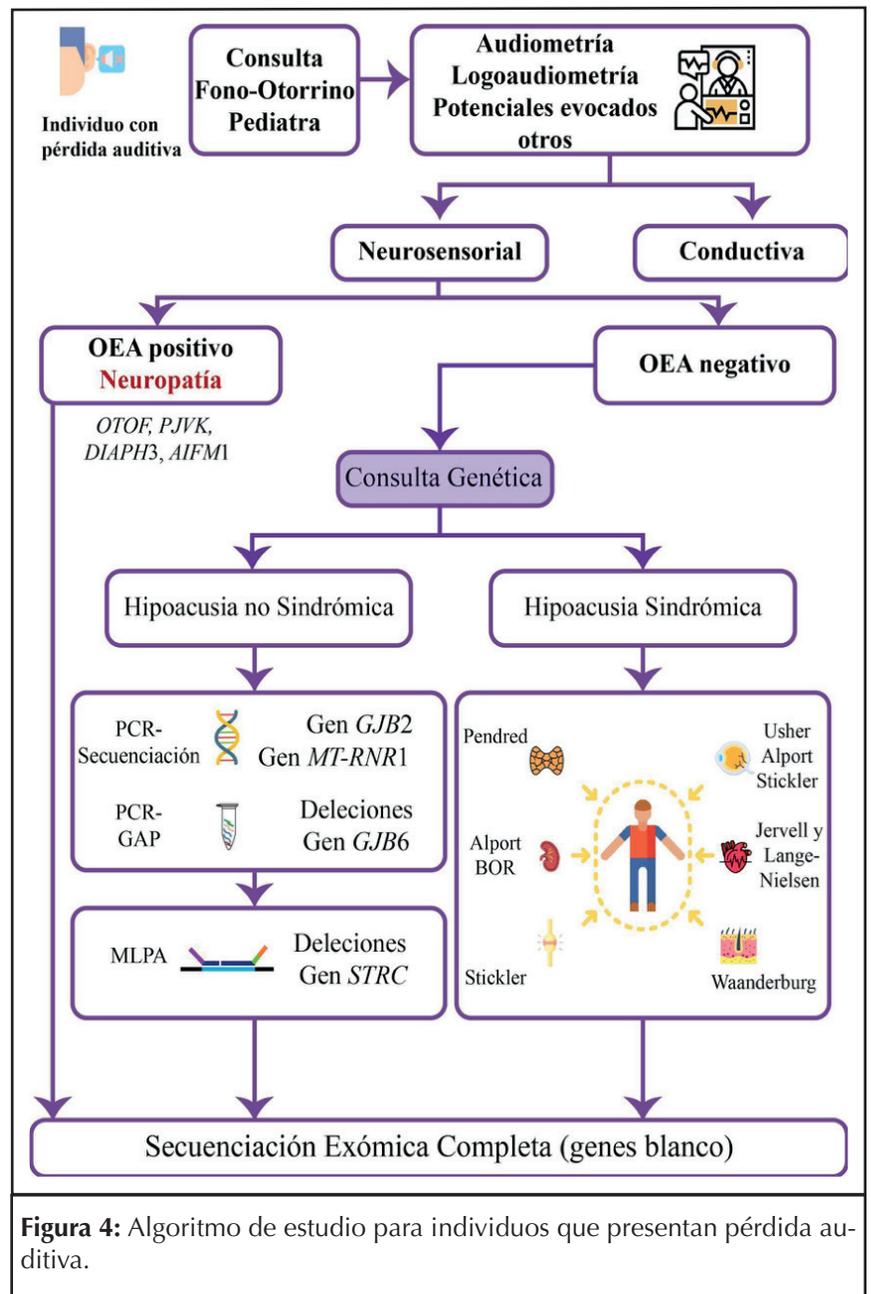
Por otro lado, ya que el tratamiento con inyecciones de gentamicina trans-timpánica es una opción

importante para aliviar la sintomatología de pacientes con vértigo, el estudio genético de susceptibilidad a la ototoxicidad se realiza en forma previa a realizar el tratamiento, como forma de disminuir el riesgo a perder la audición.

**■ HIPOACUSIA SINDRÓMICA:**

Las hipoacusias sindrómicas dan cuenta del 30% de los casos, con más de 400 síndromes descriptos. En las formas sindrómicas, la hi-

poacusia es acompañada por signos clínicos adicionales en otros órganos, los más frecuentes involucran la visión, riñones, sistema nervioso, músculo-esquelético, pigmentación, tiroides, etc. (Parker et al., 2015; Toriello & Smith, 2013). Los más frecuentes son de herencia autosómica recesiva, aunque existen de todos los tipos de herencia, severidades y tipos. Entre las formas dominantes, los más frecuentes son el síndrome de Waardenburg (WS) y el Braquio-oto-renal (BOR); entre las formas re-



**Figura 4:** Algoritmo de estudio para individuos que presentan pérdida auditiva.

cesivas el Síndrome de Pendred, el Jervell-lange-Nielsen y Stickler. En muchas de estas formas se conoce el o los genes causales, por lo que se analiza directamente los genes relacionados. Sus características genéticas asociadas pueden encontrarse en la base de datos OMIM (<https://www.omim.org>).

### ■ ALGORITMO DE ESTUDIO EN ARGENTINA: CON TANTOS GENES DESCRIPTOS, ¿POR DONDE EMPIEZO?

Para decidir si estudiar unos pocos genes o elegir una técnica de secuenciación masiva, se tiene en cuenta y evalúa la frecuencia de aparición de mutaciones en cada gen, las características clínicas del paciente y el tiempo y costo del estudio.

Por este motivo, hemos diseñado un algoritmo de estudio secuencial (**Figura 4**) que establece:

1) el estudio de los genes *GJB2* y *GJB6* como primer test genético a todos los pacientes que acu-

den al laboratorio (buscando no sólo las mutaciones frecuentes, sino también analizando exones no codificantes y sitios de corte y empalme críticos para la maduración de la expresión de los genes).

2) analizar los genes relacionados con neuropatía en pacientes a ser implantados (como *OTOF* y *PJVK*), y el gen mitocondrial *MT-RNR1* en pacientes que sufrieron internaciones y pudieran haber recibido antibióticos ototóxicos.

3) estudiar las grandes deleciones en el gen *STRC* (especialmente si el paciente presenta hipoacusia moderada).

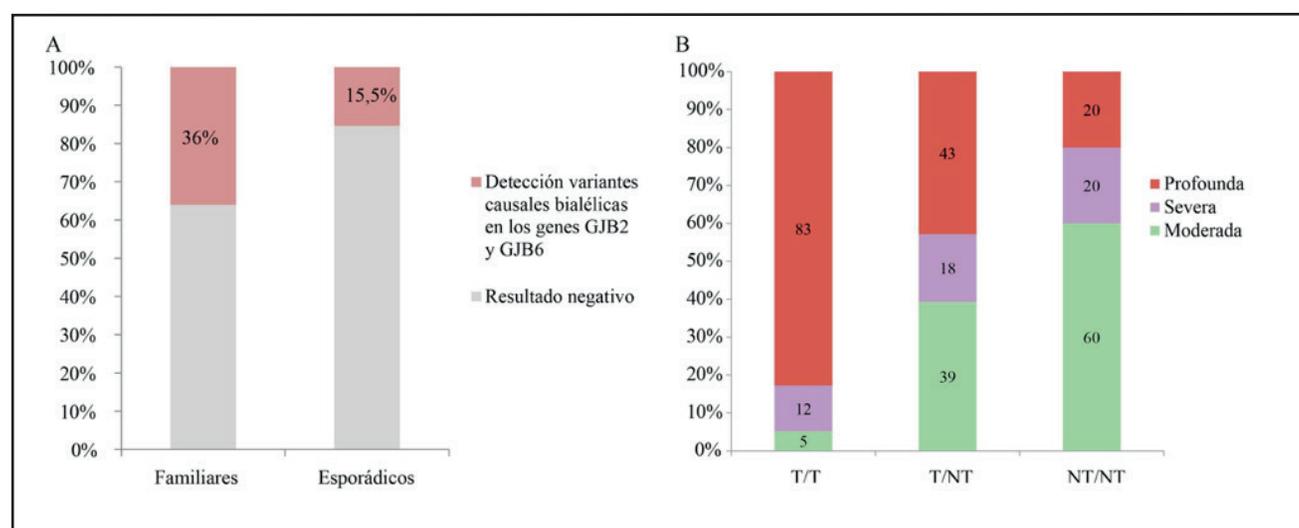
4) secuenciación exómica completa para estudiar todos los genes relacionados con la hipoacusia.

5) en caso de que paciente presentara signos y síntomas compatibles con un determinado síndrome, se estudiarán los genes blanco para cada caso.

Siguiendo este algoritmo diagnóstico hemos estudiado en el laboratorio más de 600 pacientes con distintas formas de hipoacusia y se ha probado su eficacia costo-beneficio.

### ■ ALGUNOS RESULTADOS DE NUESTRO LABORATORIO:

Un total de 600 pacientes con hipoacusia no sindrómica se remitieron al Laboratorio de Fisiología y Genética de la Audición en el IN-GEBI / CONICET. Siguiendo nuestro algoritmo de estudio, comenzamos analizando los genes *GJB2* y *GJB6* mediante PCR-Secuenciación y PCR-GAP (técnicas de análisis de genes), respectivamente. Incluimos no sólo las mutaciones frecuentes, sino también otras zonas no codificantes y sitios de corte y empalme (como ya mencionamos). De los pacientes testeados, se diagnosticaron el 36% de los casos familiares (con antecedentes de hipoacusia en la familia) y el 15.5% de los casos esporádicos (sin antecedentes) (**Figura 5A**). Encontramos también mutaciones nuevas, y probamos con experimen-



**Figura 5:** Algunos resultados de nuestro laboratorio. A: Screening de variantes genéticas frecuentes en los genes *GJB2* y *GJB6*. B: En aquellos pacientes en donde ambas mutaciones en el gen *GJB2* eran truncantes (T/T) se observó mayormente un fenotipo más severo y profundo. En los pacientes con dos mutaciones no truncantes (NT/NT) los fenotipos fueron más moderados.

tos en células que estas mutaciones nuevas eran realmente patológicas. Una descripción detallada de los genotipos (o sea la variante genética) detectados, su relación con el fenotipo (es la característica asociada a la variante genética) así como también la interpretación rigurosa de las variantes genéticas identificadas en ambos genes se puede encontrar en nuestras publicaciones (Buonfiglio et al., 2020; Dalamon et al., 2016; Dalamón et al., 2010, 2013). Por otro lado, pudimos establecer que aquellos pacientes en donde ambas mutaciones en el gen *CJB2* eran truncantes (es decir que hacían perder parte de la proteína o generaban que el gen no pueda expresarse), se relacionaban con fenotipos mucho más severos (el 83% de los pacientes tenían hipoacusia profunda); mientras que cuando los pacientes tenían dos mutaciones no-truncantes (cambio

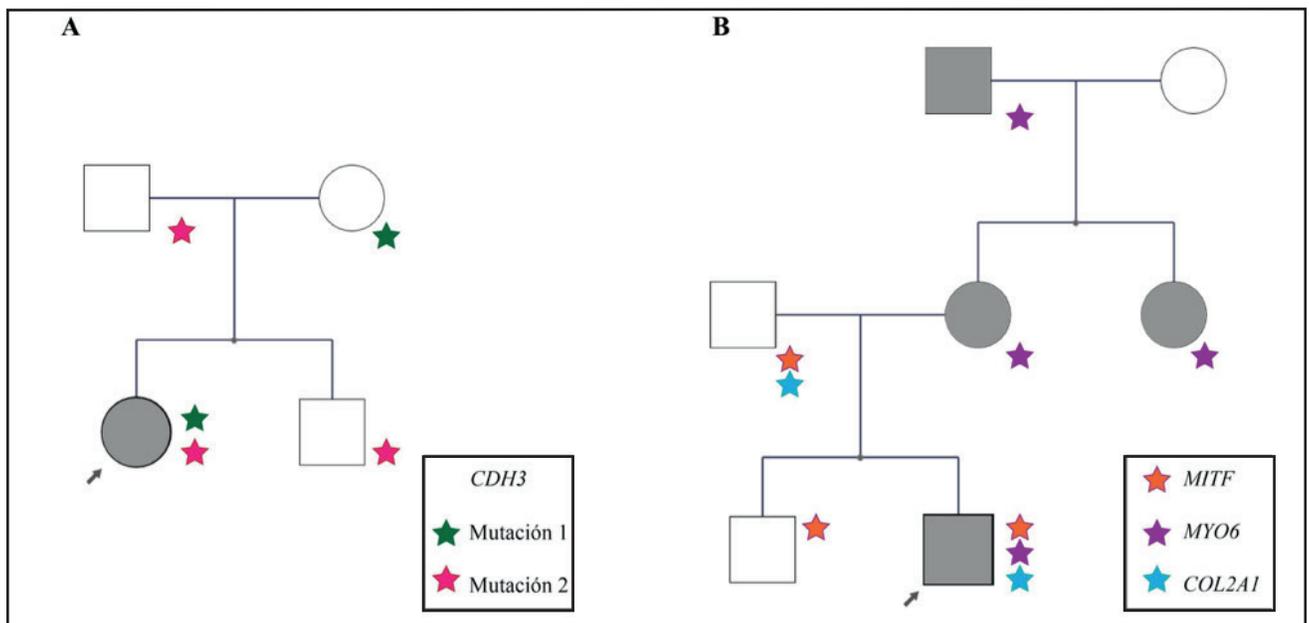
un aminoácido por otro) el grado de sordera era mayormente moderado (Figura 5B).

Al analizar todos los genes reportados para hipoacusia mediante secuenciación exómica completa, se detectaron las variantes genéticas causales de patología en el 53% de los individuos estudiados, confirmando su diagnóstico clínico, siendo los casos familiares y sindrómicos aquellos con mayores tasas de éxito de diagnóstico genético.

Es interesante mencionar, que en aquellos pacientes que exhibían formas no sindrómicas de la patología (es decir que al momento del estudio sólo tenían hipoacusia), el 18% de los mismos presentaron variantes genéticas patológicas en genes relacionados con el Síndrome de Usher (Hipoacusia + Retinitis Pigmento-

sa). Es decir que, sorpresivamente, permitieron redefinir el diagnóstico clínico del paciente y por consiguiente, el seguimiento clínico y asesoramiento genético. Se muestra en la (Figura 6A) un caso esporádico de hipoacusia, en donde se analizó por secuenciación exómica, a una paciente que presentaba sólo hipoacusia congénita. Se identificaron dos variantes genéticas patológicas conocidas en el gen *CDH23*. La paciente debe entonces recibir asesoramiento genético y clínico, ya que se presume desarrollará alteraciones visuales y probablemente ceguera en los próximos años. Se analizó a su hermano, quien resulta portador de una de las mutaciones, por lo tanto, se lo asesora sobre el riesgo de transmisión.

Por otra parte, en una familia con hipoacusia no sindrómica, luego de



**Figura 6:** Árbol genealógico y segregación de variantes. **A.** En una familia con hipoacusia no sindrómica, se identificaron dos variantes patológicas conocidas en un gen relacionado con una forma sindrómica de la patología (Síndrome de Usher: Hipoacusia + Retinitis pigmentosa) redefiniendo el diagnóstico clínico. Se estableció al hermano como portador de una variante. **B.** En color gris se señalan aquellos miembros de la familia que presentan hipoacusia postlingual no sindrómica. Se identificaron 3 posibles variantes genéticas en distintos genes y mediante la segregación, fue posible establecer que sólo la variante representada por la estrella color violeta se encontraba presente en todos los afectados de la familia (y ausente en los sanos). Por el contrario, la falta de correlación de las variantes representadas con la estrella celeste y estrella roja, permitieron descartarlas como relacionadas con el desarrollo de la patología.

realizar el estudio de secuenciación exómica, se identificaron 3 variantes genéticas que resultaron candidatas a ser la causa de la patología en la familia. Sin embargo, una de ellas (*COL2A1*) fue descartada al estar relacionada con el síndrome de Stickler, que no concordaba con el fenotipo no sindrómico de la familia. En este caso, fue posible establecer cuál de las otras dos variantes era la causa de la patología en cuestión, al realizar la segregación en los demás miembros de la familia. Al contar con el grupo familiar, fue posible establecer cuál de las variantes era compartida por todos los afectados (como se puede ver en la (Figura 6B), todos los afectados compartían la variante para el gen *MYO6*; mientras que para la variante en el gen *MTF*, varios sanos de la familia resultaban portadores pero no estaba en los afectados, permitiendo por lo tanto descartarla).

#### ■ COMENTARIOS FINALES:

La hipoacusia hereditaria es una condición compleja debido al gran número de genes implicados y la variabilidad de expresión del fenotipo. Sin embargo, el algoritmo de estudio genético resulta beneficioso para identificar las causas genéticas de hipoacusia en nuestra población. Este abordaje genético secuencial resultó en una buena relación costo-beneficio. Realizar los test en laboratorios especializados en genética de la audición es altamente recomendado ya que, los mismos poseerán la capacidad de evaluar con mayor criterio y rigurosidad los resultados obtenidos y tendrán establecidos algoritmos diagnósticos específicos para cada uno de los genes a analizar, derivando en mayor precisión y certeza de la interpretación de las variantes genéticas detectadas (Committee & ACMG Working Group on Update of Genetics Evaluation Guidelines for the Etiologic Diagnosis

of Congenital Hearing Loss; for the Professional Practice and Guidelines Committee, 2014; Shearer et al., 2011). El trabajo interdisciplinario entre el médico otorrinolaringólogo, las fonoaudiólogas, el médico genetista y el laboratorio de biología molecular es una pieza fundamental para alcanzar una correcta correlación genotipo/fenotipo y en consecuencia, un adecuado asesoramiento tanto clínico como genético para el paciente.

#### ■ GLOSARIO

**Hipoacusia:** Se denomina sordera o hipoacusia al déficit funcional que ocurre cuando una persona pierde capacidad auditiva en menor o mayor grado. Puede presentarse en forma unilateral, cuando afecta a un solo oído, o bilateral, cuando afecta ambos oídos. El umbral considerado normal es 0 a 20 dB.

**Audición:** es un proceso en el que las ondas sonoras se convierten en señales eléctricas, que luego el nervio auditivo envía del oído al cerebro. La capacidad de oír depende del correcto funcionamiento de la estructura del oído, del nervio auditivo y del área del cerebro encargada de recibir e interpretar los sonidos.

**Cóclea:** Es una estructura en forma de tubo espiralado situado en el oído interno y que contiene al Órgano de Corti, el cual es el órgano receptor de la audición.

**OEAS:** Estudio de otoemisiones acústicas, que permite detectar tempranamente la pérdida auditiva en neonatos, evaluando el funcionamiento de unas células denominadas "células ciliadas externas" que se encuentran en la cóclea dentro del oído interno.

**Neuropatía auditiva:** Es un trastorno de la audición en el cual el oído in-

terno puede detectar el sonido pero no puede transmitirse hacia el sistema nervioso central.

**Otitis media secretora:** Es una alteración en la cual se acumula líquido en el oído medio.

**Otoesclerosis:** Es una afectación ósea que causa la fijación de los huesecillos localizados en el oído medio resultando en una pérdida auditiva.

#### ■ BIBLIOGRAFÍA

Buonfiglio, P., Bruque, C. D., Luce, L., Giliberto, F., Lotersztejn, V., Menazzi, S., Paoli, B., Elgoyhen, A. B., & Dalamón, V. (2020). GJB2 and GJB6 Genetic Variant Curation in an Argentinean Non-Syndromic Hearing-Impaired Cohort. In *Genes* (Vol. 11, Issue 10, p. 1233). <https://doi.org/10.3390/genes11101233>

Chien, W. W., Monzack, E. L., McDougald, D. S., & Cunningham, L. L. (2015). Gene therapy for sensorineural hearing loss. *Ear and Hearing*, 36(1), 1–7.

Committee, A. W. G. on U. of G. E. G. F. T. E. D. of C. H. L. F. T. P. P. A. G., & ACMG Working Group on Update of Genetics Evaluation Guidelines for the Etiologic Diagnosis of Congenital Hearing Loss; for the Professional Practice and Guidelines Committee. (2014). American College of Medical Genetics and Genomics guideline for the clinical evaluation and etiologic diagnosis of hearing loss. In *Genetics in Medicine* (Vol. 16, Issue 4, pp. 347–355). <https://doi.org/10.1038/gim.2014.2>

Dalamon, V., Béhèran, A., Diamante, F., Pallares, N., Diamante, V., & Elgoyhen, A. B. (2005). Preva-

- lence of GJB2 mutations and the del(GJB6-D13S1830) in Argentinean non-syndromic deaf patients. *Hearing Research*, 207(1-2), 43–49.
- Dalmon, V., Fiori, M. C., Figueroa, V. A., Oliva, C. A., Del Rio, R., Gonzalez, W., Canan, J., Elgoyhen, A. B., Altenberg, G. A., & Retamal, M. A. (2016). Gap-junctional channel and hemichannel activity of two recently identified connexin 26 mutants associated with deafness. *Pflügers Archiv: European Journal of Physiology*, 468(5), 909–918.
- Dalmon, V., Florencia Wernert, M., Lotersztejn, V., Craig, P. O., Diamante, R. R., Barteik, M. E., Curet, C., Paoli, B., Mansilla, E., & Elgoyhen, A. B. (2013). Identification of four novel connexin 26 mutations in non-syndromic deaf patients: genotype-phenotype analysis in moderate cases. *Molecular Biology Reports*, 40(12), 6945–6955.
- Dalmon, V. K., Buonfiglio, P., Larralde, M., Craig, P., Lotersztejn, V., Choate, K., Pallares, N., Diamante, V., & Elgoyhen, A. B. (2016). Connexin 26 (GJB2) mutation in an Argentinean patient with keratitis-ichthyosis-deafness (KID) syndrome: a case report. *BMC Medical Genetics*, 17(1), 37.
- Dalmon, V., Lotersztejn, V., Bèherán, A., Lipovsek, M., Diamante, F., Pallares, N., Francipane, L., Frechtel, G., Paoli, B., Mansilla, E., Diamante, V., & Elgoyhen, A. B. (2010). GJB2 and GJB6 genes: molecular study and identification of novel GJB2 mutations in the hearing-impaired Argentinean population. *Audiology & Neuro-Otology*, 15(3), 194–202.
- Dalmon, V., Lotersztejn, V., Lipovsek, M., Bèherán, A., Mondino, M. E., Diamante, F., Pallares, N., Diamante, V., & Elgoyhen, A. B. (2009). Performance of speech perception after cochlear implantation in DFNB1 patients. *Acta Oto-Laryngologica*, 129(4), 395–398.
- del Castillo, F. J., Rodríguez-Balasteros, M., Alvarez, A., Hutchin, T., Leonardi, E., de Oliveira, C. A., Azaiez, H., Brownstein, Z., Avenarius, M. R., Marlin, S., Pandya, A., Shahin, H., Siemering, K. R., Weil, D., Wuyts, W., Aguirre, L. A., Martín, Y., Moreno-Pelayo, M. A., Villamar, M., ... del Castillo, I. (2005). A novel deletion involving the connexin-30 gene, del(GJB6-d13s1854), found in trans with mutations in the GJB2 gene (connexin-26) in subjects with DFNB1 non-syndromic hearing impairment. *Journal of Medical Genetics*, 42(7), 588–594.
- Del Castillo, I., Moreno-Pelayo, M. A., Del Castillo, F. J., Brownstein, Z., Marlin, S., Adina, Q., Cockburn, D. J., Pandya, A., Siemering, K. R., Chamberlin, G. P., Ballana, E., Wuyts, W., Maciel-Guerra, A. T., Alvarez, A., Villamar, M., Shohat, M., Abeliovich, D., Dahl, H.-H. M., Estivill, X., ... Moreno, F. (2003). Prevalence and evolutionary origins of the del(GJB6-D13S1830) mutation in the DFNB1 locus in hearing-impaired subjects: a multicenter study. *American Journal of Human Genetics*, 73(6), 1452–1458.
- Estivill, X., Fortina, P., Surrey, S., Rabionet, R., Melchionda, S., D'Agsuma, L., Mansfield, E., Rappaport, E., Govea, N., Milà, M., Zelante, L., & Gasparini, P. (1998). Connexin-26 mutations in sporadic and inherited sensorineural deafness. In *The Lancet* (Vol. 351, Issue 9100, pp. 394–398). [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(97\)11124-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(97)11124-2)
- Farooq, R., Hussain, K., Tariq, M., Farooq, A., & Mustafa, M. (2020). CRISPR/Cas9: targeted genome editing for the treatment of hereditary hearing loss. *Journal of Applied Genetics*, 61(1), 51–65.
- Francey, L. J., Conlin, L. K., Kadesch, H. E., Clark, D., Berrodin, D., Sun, Y., Glessner, J., Hakonarson, H., Jalas, C., Landau, C., Spinner, N. B., Kenna, M., Sagi, M., Rehm, H. L., & Krantz, I. D. (2012). Genome-wide SNP genotyping identifies the Stereocilin (STRC) gene as a major contributor to pediatric bilateral sensorineural hearing impairment. In *American Journal of Medical Genetics Part A* (Vol. 158A, Issue 2, pp. 298–308). <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.34391>
- Gasparini, P., the Genetic Analysis Consortium of GJB235delG, Rabionet, R., Barbujani, G., Melchionda, S., Petersen, M., Brøndum-Nielsen, K., Metspalu, A., Oitmaa, E., Pisano, M., Fortina, P., Zelante, L., & Estivill, X. (2000). High carrier frequency of the 35delG deafness mutation in European populations. In *European Journal of Human Genetics* (Vol. 8, Issue 1, pp. 19–23). <https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5200406>
- Guaran, V., Astolfi, L., Castiglione, A., Simoni, E., Olivetto, E., Galasso, M., Trevisi, P., Busi, M., Volinia, S., & Martini, A. (2013). Association between idiopathic hearing loss and mitochondrial DNA mutations: A study on 169 hearing-impaired subjects. In *International Journal of Molecular Medicine* (Vol. 32, Issue

- 4, pp. 785–794). <https://doi.org/10.3892/ijmm.2013.1470>
- Hampton, T. (2012). Gene Therapy for Hearing Loss. In *JAMA* (Vol. 308, Issue 9, p. 853). <https://doi.org/10.1001/2012.jama.10869>
- Hilgert, N., Smith, R., & Camp, G. (2009). Function and Expression Pattern of Nonsyndromic Deafness Genes. In *Current Molecular Medicine* (Vol. 9, Issue 5, pp. 546–564). <https://doi.org/10.2174/156652409788488775>
- Hilgert, N., Smith, R. J. H., & Van Camp, G. (2009). Forty-six genes causing nonsyndromic hearing impairment: which ones should be analyzed in DNA diagnostics? *Mutation Research*, 681(2-3), 189–196.
- Kelsell, D. P., Dunlop, J., Stevens, H. P., Lench, N. J., Liang, J. N., Parry, G., Mueller, R. F., & Leigh, I. M. (1997). Connexin 26 mutations in hereditary nonsyndromic sensorineural deafness. In *Nature* (Vol. 387, Issue 6628, pp. 80–83). <https://doi.org/10.1038/387080a0>
- Kenneson, A., Van Naarden Braun, K., & Boyle, C. (2002). GJB2 (connexin 26) variants and nonsyndromic sensorineural hearing loss: A HuGE review. In *Genetics in Medicine* (Vol. 4, Issue 4, pp. 258–274). <https://doi.org/10.1097/00125817-200207000-00004>
- Kimberling, W. J., Hildebrand, M. S., Eliot Shearer, A., Jensen, M. L., Halder, J. A., Trzuppek, K., Cohn, E. S., Weleber, R. G., Stone, E. M., & Smith, R. J. H. (2010). Frequency of Usher syndrome in two pediatric populations: Implications for genetic screening of deaf and hard of hearing children. In *Genetics in Medicine* (Vol. 12, Issue 8, pp. 512–516). <https://doi.org/10.1097/gim.0b013e3181e5afb8>
- Kim, M.-A., Kim, S. H., Ryu, N., Ma, J.-H., Kim, Y.-R., Jung, J., Hsu, C.-J., Choi, J. Y., Lee, K.-Y., Wangemann, P., Bok, J., & Kim, U.-K. (2019). Gene therapy for hereditary hearing loss by SLC26A4 mutations in mice reveals distinct functional roles of pendrin in normal hearing. *Theranostics*, 9(24), 7184–7199.
- Lee, S. W., Tomasetto, C., Paul, D., Keyomarsi, K., & Sager, R. (1992). Transcriptional downregulation of gap-junction proteins blocks junctional communication in human mammary tumor cell lines. In *Journal of Cell Biology* (Vol. 118, Issue 5, pp. 1213–1221). <https://doi.org/10.1083/jcb.118.5.1213>
- Lustig, L., & Akil, O. (2019). Cochlear Gene Therapy. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 9(9). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a033191>
- Marlin, S., Feldmann, D., Blons, H., Loundon, N., Rouillon, I., Albert, S., Chauvin, P., Garabédian, E.-N., Couderc, R., Odent, S., Joannard, A., Schmerber, S., Delobel, B., Leman, J., Journal, H., Catros, H., Lemarechal, C., Dollfus, H., Eliot, M.-M., ... Denoyelle, F. (2005). GJB2 and GJB6 mutations: genotypic and phenotypic correlations in a large cohort of hearing-impaired patients. *Archives of Otolaryngology-Head & Neck Surgery*, 131(6), 481–487.
- Miyagawa, M., Nishio, S.-Y., & Usami, S.-I. (2016). A Comprehensive Study on the Etiology of Patients Receiving Cochlear Implantation With Special Emphasis on Genetic Epidemiology. In *Otology & Neurotology* (Vol. 37, Issue 2, pp. e126–e134). <https://doi.org/10.1097/mao.0000000000000936>
- Morgan, A., Lenarduzzi, S., Spediacati, B., Cattaruzzi, E., Murru, F. M., Pelliccione, G., Mazzà, D., Zolli-no, M., Graziano, C., Ambrosetti, U., Seri, M., Faletra, F., & Giroto, G. (2020). Lights and Shadows in the Genetics of Syndromic and Non-Syndromic Hearing Loss in the Italian Population. *Genes*, 11(11). <https://doi.org/10.3390/genes11111237>
- Morton, C. C., & Nance, W. E. (2006). Newborn Hearing Screening — A Silent Revolution. In *New England Journal of Medicine* (Vol. 354, Issue 20, pp. 2151–2164). <https://doi.org/10.1056/nejmra050700>
- Omichi, R., Shibata, S. B., Morton, C. C., & Smith, R. J. H. (2019). Gene therapy for hearing loss. *Human Molecular Genetics*, 28(R1), R65–R79.
- Parker, M. J., Fryer, A. E., Shears, D. J., Lachlan, K. L., McKee, S. A., Magee, A. C., Mohammed, S., Vasudevan, P. C., Park, S.-M., Benoit, V., Lederer, D., Maystadt, I., DDD study, & FitzPatrick, D. R. (2015). De novo, heterozygous, loss-of-function mutations in SYNGAP1 cause a syndromic form of intellectual disability. In *American Journal of Medical Genetics Part A* (Vol. 167, Issue 10, pp. 2231–2237). <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.37189>
- Park, J. H., Kim, A. R., Han, J. H., Kim, S. D., Kim, S. H., Koo, J.-W., Oh, S. H., & Choi, B. Y. (2017). Outcome of Cochlear Implantation in Prelingually Deafened Children According to Molecular

- Genetic Etiology. In *Ear and Hearing* (Vol. 38, Issue 5, pp. e316–e324). <https://doi.org/10.1097/aud.0000000000000437>
- Prezant, T. R., Agapian, J. V., Bohlman, M. C., Bu, X., Oztas, S., Qiu, W. Q., Arnos, K. S., Cortopassi, G. A., Jaber, L., & Rotter, J. I. (1993). Mitochondrial ribosomal RNA mutation associated with both antibiotic-induced and non-syndromic deafness. *Nature Genetics*, 4(3), 289–294.
- Rabionet, R., Gasparini, P., & Estivill, X. (2000). Molecular genetics of hearing impairment due to mutations in gap junction genes encoding beta connexins. In *Human Mutation* (Vol. 16, Issue 3, pp. 190–202). [https://doi.org/3.0.co;2-i">10.1002/1098-1004\(200009\)16:3<190::aid-humu2>3.0.co;2-i](https://doi.org/3.0.co;2-i)
- Rabionet, R., Zelante, L., López-Bigas, N., D'Agruma, L., Melchionda, S., Restagno, G., Arbonés, M. L., Gasparini, P., & Estivill, X. (2000a). Molecular basis of childhood deafness resulting from mutations in the GJB2 (connexin 26) gene. In *Human Genetics* (Vol. 106, Issue 1, pp. 40–44). <https://doi.org/10.1007/s004399900192>
- Rabionet, R., Zelante, L., López-Bigas, N., D'Agruma, L., Melchionda, S., Restagno, G., Arbonés, M. L., Gasparini, P., & Estivill, X. (2000b). Molecular basis of childhood deafness resulting from mutations in the GJB2 (connexin 26) gene. In *Human Genetics* (Vol. 106, Issue 1, pp. 40–44). <https://doi.org/10.1007/s004399900192>
- Rahbar, R., Rouillon, I., Roger, G., Lin, A., Nuss, R. C., Denoyelle, F., McGill, T. J., Healy, G. B., & Garabedian, E.-N. (2006). The Presentation and Management of Laryngeal Cleft. In *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery* (Vol. 132, Issue 12, p. 1335). <https://doi.org/10.1001/archotol.132.12.1335>
- Ren, Y., Landegger, L. D., & Stankovic, K. M. (2019). Gene Therapy for Human Sensorineural Hearing Loss. In *Frontiers in Cellular Neuroscience* (Vol. 13). <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00323>
- Shearer, A. E., Eliot Shearer, A., & Smith, R. J. H. (2015). Massively Parallel Sequencing for Genetic Diagnosis of Hearing Loss. In *Otolaryngology–Head and Neck Surgery* (Vol. 153, Issue 2, pp. 175–182). <https://doi.org/10.1177/0194599815591156>
- Shearer, A. E., Hildebrand, M. S., Sloan, C. M., & Smith, R. J. H. (2011). Deafness in the genomics era. *Hearing Research*, 282(1-2), 1–9.
- Shearer, A. E., Kolbe, D. L., Azaiez, H., Sloan, C. M., Frees, K. L., Weaver, A. E., Clark, E. T., Nishimura, C. J., Black-Ziegelbein, E. A., & Smith, R. J. H. (2014). Copy number variants are a common cause of non-syndromic hearing loss. *Genome Medicine*, 6(5), 37.
- Sloan-Heggen, C. M., Bierer, A. O., Shearer, A. E., Kolbe, D. L., Nishimura, C. J., Frees, K. L., Ephraim, S. S., Shibata, S. B., Booth, K. T., Campbell, C. A., Ranum, P. T., Weaver, A. E., Black-Ziegelbein, E. A., Wang, D., Azaiez, H., & Smith, R. J. H. (2016). Comprehensive genetic testing in the clinical evaluation of 1119 patients with hearing loss. *Human Genetics*, 135(4), 441–450.
- Sordera y pérdida de la audición. (n.d.). Retrieved November 3, 2020, from <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/deafness-and-hearing-loss>
- Toriello, H. V., & Smith, S. D. (2013). *Hereditary Hearing Loss and Its Syndromes*. Oxford University Press.
- Trumpp, N. M., & Kiefer, M. (2018). Functional reorganization of the conceptual brain system after deafness in early childhood. In *PLOS ONE* (Vol. 13, Issue 7, p. e0198894). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198894>
- Usami, S., Abe, S., Kasai, M., Shinkawa, H., Moeller, B., Kenyon, J. B., & Kimberling, W. J. (1997). Genetic and clinical features of sensorineural hearing loss associated with the 1555 mitochondrial mutation. *The Laryngoscope*, 107(4), 483–490.
- Usami, S.-I., & Nishio, S.-Y. (2004). Nonsyndromic Hearing Loss and Deafness, Mitochondrial. In M. P. Adam, H. H. Ardinger, R. A. Pagon, S. E. Wallace, L. J. H. Bean, K. Stephens, & A. Amemiya (Eds.), *GeneReviews*. University of Washington, Seattle.
- Usami, S.-I., Nishio, S.-Y., Moteki, H., Miyagawa, M., & Yoshimura, H. (2020). Cochlear Implantation From the Perspective of Genetic Background. *Anatomical Record*, 303(3), 563–593.
- Vona, B., Hofrichter, M. A. H., Nemer, C., Schröder, J., Gehrig, A., Hennermann, J. B., Kraus, F., Shehata-Dieler, W., Klopocki, E., Nanda, I., & Haaf, T. (2015). DFNB16 is a frequent cause of congenital hearing impairment: implementation of STRC muta-

- tion analysis in routine diagnostics. In *Clinical Genetics* (Vol. 87, Issue 1, pp. 49–55). <https://doi.org/10.1111/cge.12332>
- Website. (n.d.). Retrieved October 25, 2020, from Van Camp G, Smith RJH. Hereditary Hearing Loss Homepage. <https://hereditaryhearingloss.org>. (If you are referring to specific data, please add the month and year when you retrieved the data.)
- Welcome to the Hereditary Hearing Loss Homepage. (n.d.). Retrieved November 4, 2020, from <https://hereditaryhearingloss.org/>
- Wu, L., Li, R., Chen, J., Chen, Y., Yang, M., & Wu, Q. (2018). Analysis of mitochondrial A1555G mutation in infants with hearing impairment. In *Experimental and Therapeutic Medicine*. <https://doi.org/10.3892/etm.2018.6078>
- Xia, H., Huang, X., Xu, H., Zhou, Y.-A., Gong, L., Yang, Z., Lv, J., & Deng, H. (2019). GJB2 c.235delC variant associated with autosomal recessive nonsyndromic hearing loss and auditory neuropathy spectrum disorder. In *Genetics and Molecular Biology* (Vol. 42, Issue 1, pp. 48–51). <https://doi.org/10.1590/1678-4685-gmb-2017-0318>
- Yan, F., Li, J., Xian, J., Wang, Z., & Mo, L. (2013). The Cochlear Nerve Canal and Internal Auditory Canal in Children with Normal Cochlea but Cochlear Nerve Deficiency. In *Acta Radiologica* (Vol. 54, Issue 3, pp. 292–298). <https://doi.org/10.1258/ar.2012.110596>
- Yokota, Y., Moteki, H., Nishio, S.-Y., Yamaguchi, T., Wakui, K., Kobayashi, Y., Ohyama, K., Miyazaki, H., Matsuoka, R., Abe, S., Kumakawa, K., Takahashi, M., Sakaguchi, H., Uehara, N., Ishino, T., Kosho, T., Fukushima, Y., & Usami, S.-I. (2019). Frequency and clinical features of hearing loss caused by STRC deletions. *Scientific Reports*, 9(1), 4408.
- Yoshida, H., Takahashi, H., Kanda, Y., & Usami, S.-I. (2013). Long term speech perception after cochlear implant in pediatric patients with GJB2 mutations. In *Auris Nasus Larynx* (Vol. 40, Issue 5, pp. 435–439). <https://doi.org/10.1016/j.anl.2013.01.006>
- Zelante, L., Gasparini, P., Estivill, X., Melchionda, S., D'Agruma, L., Govea, N., Milá, M., Monica, M. D., Lutfi, J., Shohat, M., Mansfield, E., Delgrosso, K., Rappaport, E., Surrey, S., & Fortina, P. (1997). Connexin26 mutations associated with the most common form of non-syndromic neurosensory autosomal recessive deafness (DFNB1) in Mediterraneans. *Human Molecular Genetics*, 6(9), 1605–1609.
- Zhang, Y., Malekpour, M., Al-Madani, N., Kahrizi, K., Zanganeh, M., Lohr, N. J., Mohseni, M., Mojahedi, F., Daneshi, A., Najmabadi, H., & Smith, R. J. H. (2007). Sensorineural deafness and male infertility: a contiguous gene deletion syndrome. *Journal of Medical Genetics*, 44(4), 233–240.

# ANÁLISIS DE UNA COHORTE ARGENTINA AFECTADA CON DISTROFIA MUSCULAR MEDIANTE SECUENCIACIÓN DE EXOMA COMPLETO

**Palabras clave:** Distrofia muscular, Distrofinopatías, Secuenciación de Exoma Completo, Duchenne.  
**Key words:** Muscular dystrophy, Dystrophinopathies, Whole Exome Sequencing, Duchenne.

Las distrofias musculares son patologías hereditarias que ocasionan debilidad y degeneración progresiva del músculo esquelético. Dentro de ellas se destaca un subgrupo por su alta frecuencia, las Distrofinopatías, causadas por alteraciones en el gen *DMD*. Dado que los síntomas clínicos de estas patologías se superponen, dificultando el diagnóstico diferencial, es de suma importancia realizar estudios moleculares para poder diferenciar el tipo de distrofia muscular y así establecer el estándar de cuidado adecuado. Además, como gran parte de los protocolos terapéuticos que se están comenzando a implementar son mutación-dependientes, se debe conocer la alteración molecular del paciente. A su vez, es de gran importancia académico-científica el estudiar y caracterizar las variantes de secuencia halladas hasta el momento en el gen *DMD* con el fin de contribuir con el entendimiento de las bases genético-moleculares de estas patologías. Por un lado, se analizó una cohorte de 154 pacientes con distrofia muscular confirmándose el diagnóstico de Distrofinopatía en el 77% de ellos y de otras distrofias musculares en el 11% de los mismos, alcanzando una tasa de detección del 88%. Por otro lado, se analizaron unas 3.060 variantes de secuencia provenientes de la base de datos LOVD no detectándose *hotspots* (zona del gen propensa a sufrir alteraciones) del gen, y también se realizó un estudio de desequilibrio de ligamiento (estudio de alta complejidad para detectar la naturaleza hereditaria de una enfermedad, "linkage" en inglés) detectando 4 haplotipos co-segregantes en nuestra población. Finalmente, nuestro trabajo contribuye con la caracterización de la población argentina afectada con Distrofinopatías y conduce a una mayor comprensión de las alteraciones pequeñas que tienen lugar en el gen *DMD*.

Muscular Dystrophies (MD) are a group of inherited diseases that cause weakness and progressive degeneration of muscle tissue. Among them, Dystrophinopathies are the most prevalent type of MD and are caused by mutations in the *DMD* gene. However, the clinical symptoms of these pathologies overlap, hindering differential diagnosis, which is of paramount importance to establish the standard of care. Therefore, it is essential to carry out molecular studies to be able to differentiate between each type of MD. As mutation-dependent protocols are being implemented, the patient's molecular alteration must be characterized. Moreover, it is of great academic-scientific importance to study and characterize sequence variants found in the *DMD* gene in order to contribute to the understanding of the genetic/molecular basis of these pathologies. On one hand, a cohort of 154 patients with MD were analyzed, corroborating Dystrophinopathy diagnosis in 77% of them and other MDs in 11%, reaching a detection rate of 88%. On the other hand, 3,060 sequence variants from the LOVD database were analyzed, not detecting hotspots in the *DMD* gene. Also, a linkage disequilibrium study was carried out, detecting 4 cosegregating haplotypes in our cohort. Finally, our work contributes to the characterization of a Dystrophinopathy Argentine population and leads to a better understanding of the small alterations that take place in the *DMD* gene.

## ■ DISTROFIAS MUSCULARES

Las distrofias musculares son pa-

tologías hereditarias que ocasionan debilidad y degeneración progresiva del músculo esquelético. Bajo

este término, se incluye un grupo de desórdenes con una amplia heterogeneidad clínica, genética y bioquí-

■ Micaela Carcione,<sup>1,2</sup> Leonela Luce,<sup>1,2</sup> Chiara Mazzanti,<sup>1,2</sup> y Florencia Giliberto,<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires; Facultad de Farmacia y Bioquímica; Cátedra de Genética. Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup>CONICET - Universidad de Buenos Aires; Instituto de Inmunología, Genética y Metabolismo (INIGEM). Buenos Aires, Argentina.

\*E-mail: giliberto@flor@gmail.com

mica (Mercuri *et al.*, 2013). Históricamente, las distrofias musculares eran clasificadas en base a los hallazgos clínicos. Sin embargo, el número y la diversidad de enfermedades que afectan al músculo exceden a la variedad de signos y síntomas con los cuales se presentan. Recién durante las últimas 2 décadas, gracias al descubrimiento de las bases genéticas de las formas más comunes de distrofia, se ha podido mejorar la categorización de los cuadros clínicos. Fue gracias al avance en la comprensión de los mecanismos fisiológicos y moleculares subyacentes a las distrofias musculares que se logró el establecimiento de consensos internacionales para el manejo clínico y diagnóstico de las mismas, el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas y la mejora en los estándares de cuidado de los pacientes.

#### ■ DISTROFINOPATÍAS: DISTROFIA MUSCULAR DE DUCHENNE (DMD) Y DISTROFIA MUSCULAR DE BECKER (DMB)

Las distrofias musculares más frecuentes son las Distrofinopatías. Éstas son enfermedades de herencia recesiva ligada al cromosoma X y monogénicas, es decir, originadas por variantes genéticas en un gen en particular, en este caso el gen *DMD* (Xp21.2; OMIM #300377). Debido a la presencia de alteraciones moleculares, el gen no puede producir una proteína funcional llamada distrofina. Además, estos cuadros clínicos presentan un modo de herencia recesiva ligada al cromosoma X, lo cual significa que los hombres con alteraciones en este gen padecerán la enfermedad, ya que ellos poseen un único cromosoma X, siendo la ausencia o producción inadecuada de proteína la responsable de los trastornos musculares. En cambio, las mujeres serán portadoras asintomáticas en su gran mayoría. Esto

ocurre porque poseen dos cromosomas X y con que uno de ellos no esté alterado, la cantidad de proteína que se produce es suficiente para no generar distrofia muscular.

DMD es una patología muscular severa producida por la ausencia de la proteína codificada por el gen *DMD*, la distrofina, y afecta a 1 de 3.500-5.000 varones nacidos vivos (Muller *et al.*, 1994; Guiraud *et al.*, 2015). Se caracteriza por degeneración progresiva de las fibras musculares, con niveles elevados de las enzimas creatina-fosfoquinasa (CPK) y lactato deshidrogenasa (LDH) (Emery, 1977). Los síntomas comienzan a evidenciarse a edades muy tempranas, observándose un retraso en la adquisición de la marcha, caídas frecuentes, pseudohipertrofia gemelar y dificultades tanto para correr como para levantarse del piso y subir escaleras. En la adolescencia, los pacientes pierden la capacidad de caminar, lo cual suele conllevar al desarrollo de escoliosis e incluso grandes contracturas musculares. Esta enfermedad conduce a fallas cardíacas y/o respiratorias que, pese al tratamiento con corticoides, conllevan al fallecimiento en edades tempranas (Ryder *et al.*, 2017). Por otro lado, DMB posee una sintomatología similar a la DMD pero de progresión más lenta. La incidencia de la DMB es 1 de 18.000 - 20.000 niños nacidos con vida (Helderman-van den Enden *et al.*, 2013). En este caso, el músculo expresa a la proteína distrofina, pero la misma puede ser menos funcional o puede encontrarse en niveles más bajos, aunque su funcionalidad sea normal (Blyth *et al.*, 1958).

Ahora bien, ¿cómo se realiza el diagnóstico de estas enfermedades? En principio, se conoce que las alteraciones moleculares responsables de DMD/DMB son grandes deleciones (pérdida de al menos 1 exón del

gen) en el ~68% de los casos, grandes duplicaciones (ganancia de al menos 1 exón del gen) en el ~11% y alteraciones pequeñas en el ~20% restante (Aartsma-Rus *et al.*, 2016). Las alteraciones moleculares del gen *DMD* de menor frecuencia son las variantes intrónicas profundas y/o variantes en secuencias regulatorias, las cuales acontecen en el ~1% de los casos.

Sabiendo esto, el algoritmo molecular para la pesquisa de alteraciones en el gen *DMD* comienza con la búsqueda de grandes deleciones y duplicaciones (Aartsma-Rus *et al.*, 2016). El método elegido por excelencia es la técnica cuantitativa denominada Amplificación Múltiple de Sondas Ligadas o MLPA (Schwartz *et al.*, 2004). Esta técnica permite determinar la dosis en la que se encuentran todos los exones que componen al gen *DMD*. En caso de no hallarse una gran deleción o duplicación, se debe continuar con la búsqueda de alteraciones pequeñas mediante la secuenciación de los exones y de los sitios consenso de *splicing*. Esto generalmente se realiza mediante PCR-Secuenciación de Sanger, sin embargo, recientemente, gracias a los avances en el campo de la secuenciación de próxima generación (NGS) y a la disminución en sus costos, la secuenciación de exoma completo se ha transformado en una rápida, certera y costo-efectiva alternativa diagnóstica. La secuenciación de exoma completo consta del análisis de todas las secuencias exónicas, lo cual corresponde a secuenciar el 1,5-2% del genoma humano. Se estima que en el 85% de los casos las alteraciones causantes de patología se localizan en exones, por lo que esta técnica posee una alta expectativa de éxito.

Entonces, teniendo en cuenta los dos cuadros de Distrofinopatía y sabiendo que el algoritmo diagnós-

tico molecular es el mismo, se debe conocer la existencia de la llamada "Teoría del Corrimiento del Marco de Lectura". Esta teoría demuestra una correlación entre el fenotipo y la alteración molecular del paciente, cumpliéndose en el ~92% de los casos (Monaco *et al.*, 1988). ¿Qué es lo que postula dicha teoría? Que alteraciones que producen corrimiento en el marco de lectura conllevan a una terminación prematura de la traducción y, por ende, a una proteína trunca no funcional que será degradada. ¿Qué significa que una alteración produzca un corrimiento en el marco de lectura? Significa que la alteración estará provocando una pérdida o ganancia de material genético de manera tal que se alterará la forma en la que el ribosoma lee la información codificada en el ADN para luego traducirla a proteína. De esta manera, no sólo la proteína generada será sumamente distinta a la proteína *wild-type*, sino que además tendrá un codon de terminación prematuro de la traducción. Todo esto provocará que dicha proteína sea degradada por la maquinaria celular. Volviendo a las distrofinopatías y siguiendo lo postulado por esta teoría, alteraciones que produzcan un corrimiento en el marco de lectura y por lo tanto conlleven a la ausencia de distrofina producirán un fenotipo grave, es decir DMD. En cambio, variantes que no alteran el marco de lectura pueden generar una distrofina de distinto tamaño, pero parcialmente funcional que escapará a la degradación. Finalmente, la disminución en la funcionalidad de la distrofina resultante producirá un fenotipo leve o DMB.

¿Por qué es sumamente importante el diagnóstico molecular en pacientes con sospecha de Distrofinopatía? Actualmente, alrededor de 200 protocolos terapéuticos distintos se encuentran bajo desarrollo, validación o ensayos clínicos para

las Distrofinopatías. Entre ellas, ha sido condicionalmente aprobada por la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) la terapia de evasión del codon de terminación prematuro de la traducción [Ataluren, PTC Therapeutics], ya en uso en nuestro país (Haas *et al.*, 2015). Dicha terapia aplica al 10% de los pacientes con Distrofinopatía que poseen alteraciones de tipo *nonsense* (Bushby *et al.*, 2014). ¿Qué es una alteración de tipo *nonsense*? Es una alteración pequeña donde se produce un cambio de un nucleótido por otro, que convierte al codón implicado en uno de terminación prematura de la traducción. Esta alteración generará una proteína trunca, no funcional y de menor tamaño que será degradada. Volviendo a la terapia de Ataluren, ésta permite sintetizar una proteína completa al evadir el codón de terminación prematuro de la traducción, mediante la incorporación de un aminoácido en su lugar. Como gran parte de estas terapias tienden a corregir la alteración molecular particular de cada paciente, resulta de suma importancia que cada afectado tenga caracterizada su alteración de forma precisa, de modo de poder establecer el protocolo que mejor se le adecúe.

#### ■ COHORTE ARGENTINA AFECTADA CON DISTROFINOPATÍA ANALIZADA POR SECUENCIACIÓN DE EXOMA COMPLETO

Partiendo de una cohorte de 154 pacientes varones con sintomatología compatible con Distrofinopatía, se identificó mediante secuenciación de exoma completo la alteración molecular causante de patología en 118 de ellos. En cuanto al tipo de alteración molecular identificada, se hallaron alteraciones de tipo *nonsense* (*sin sentido*), *frameshift* (*cambio de marco de lectura*), *splicing* (*de corte y empalme*), *missense* (*sentido cambiado*), *in-frame*

(*en marco de lectura*) y sinónimas. Dichos hallazgos permitieron confirmar el diagnóstico clínico presuntivo de Distrofinopatía, determinar los estándares de cuidado adecuados para cada paciente y seleccionar candidatos que apliquen a los protocolos mutación-dependiente. Entre los pacientes estudiados (total son 154 pacientes), se determinó que 52 de ellos aplicarían para la terapia de Ataluren.

Recordando la teoría del marco de lectura, ésta fue empleada para determinar el fenotipo esperado en 38 de los pacientes, los cuales eran portadores de alteraciones de tipo *frameshift* o *in-frame*. El fenotipo esperado y observado coincidió en todos los casos, salvo por 4 pacientes. De estos 4 pacientes, 2 presentaban un fenotipo más grave (DMD) y variantes sin corrimiento del marco, mientras que los dos restantes presentaban un fenotipo más leve (DMB) y variantes con corrimiento del marco. Las discrepancias observadas en estos últimos dos pacientes podrían explicarse por la ocurrencia de un salteo fisiológico de los exones que portan la alteración, puesto que si estos fueran removidos del ARN mensajero (ARNm) el marco se restituiría. No obstante, estas hipótesis deben ser validadas mediante el análisis del ARNm.

En un paciente con fenotipo grave (DMD) se encontró una variante que produce la delección de un codón (c.10101\_10103del) que no provoca corrimiento en el marco de lectura. En ese momento, la misma había sido reportada en la base de datos Leiden Open Variation Database (LOVD) en 5 varones afectados clasificada como de significado incierto. ¿Qué se puede hacer en un caso así? En el caso de contar con muestras de la familia, se puede llevar a cabo un estudio de segregación de la variante con el fin de vali-

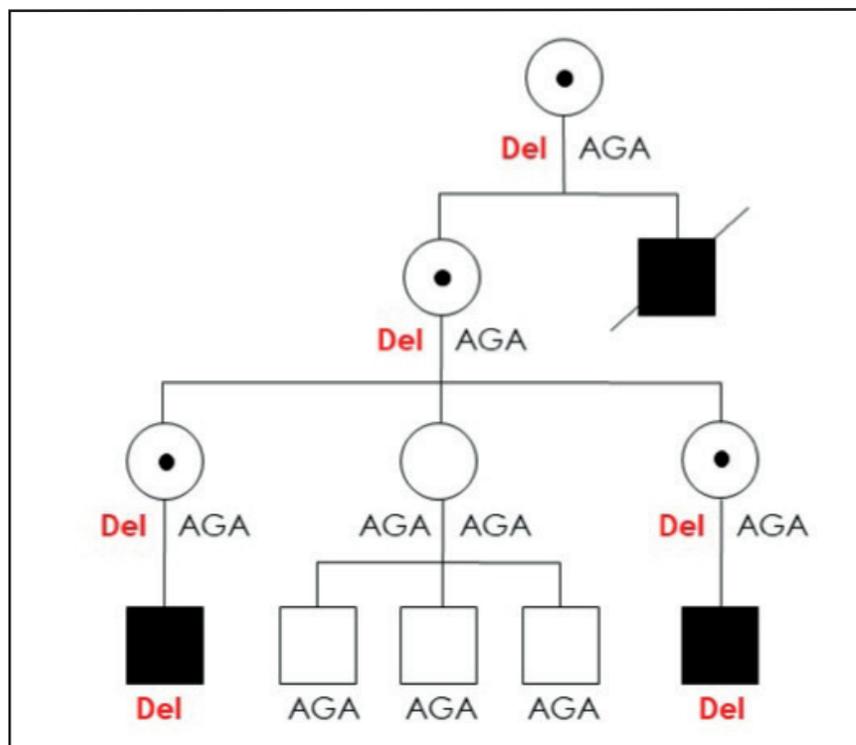
dar su efecto deletéreo. En este caso, al contar con muestras se realizó la segregación (Figura 1) y se pudo detectar la alteración molecular en 3

mujeres portadoras obligadas, mientras que no se detectó en los varones sanos. Más aún, un pequeño niño que sólo presentaba caídas frecuen-

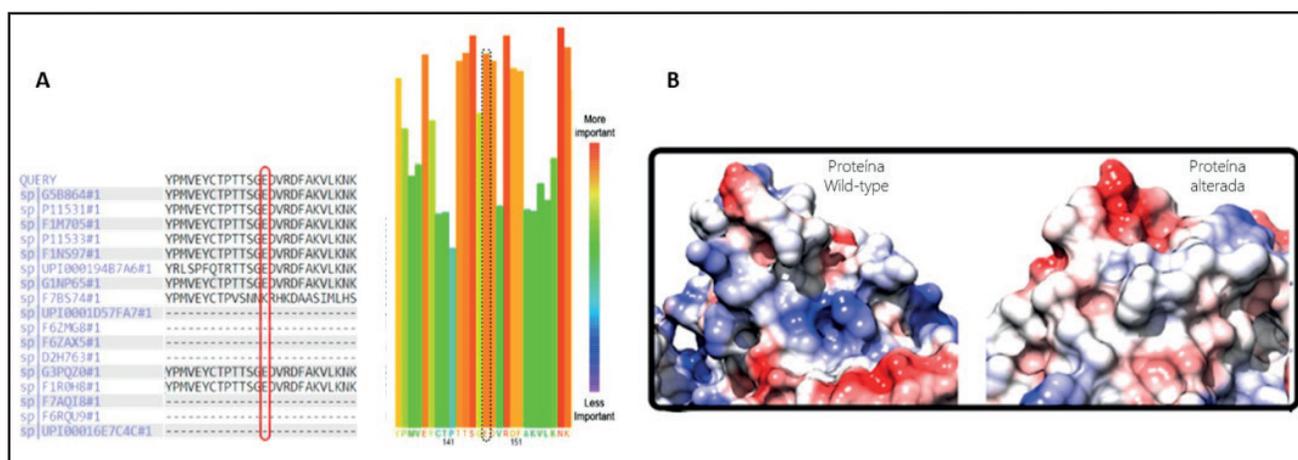
tes pudo ser diagnosticado tempranamente y su madre pudo ser clasificada como portadora obligada.

Ahora, ¿qué se podría hacer si no se cuenta con muestras de la familia? En ese caso, se puede realizar un análisis bioinformático de la variante hallada para validar su efecto deletéreo. En la figura 2 se puede observar que el aminoácido que se pierde como consecuencia de la alteración hallada se encuentra altamente conservado. A su vez, en dicha figura se puede observar el modelado molecular de la proteína resultante y como dicha proteína se ve alterada al compararla con la proteína original, llamada *wild-type*.

Como esta variante no provoca un corrimiento en el marco de lectura, se debe analizar que dominios se ven afectados para poder correlacionar la misma con el fenotipo observado (DMD). Finalmente, se pudo observar que esta delección afecta los dominios ricos en cisteína y C-terminal de la proteína, especialmente el sitio de unión a distroglicanos, por lo que el aminoácido implicado en la delección debe tener un fuerte impacto en la función de la proteína provocando así un fenotipo más grave al esperado.



**Figura 1:** Segregación intrafamiliar de la variante c.10101\_10103del. Los círculos representan a las mujeres y los cuadrados a los varones. Una línea diagonal que atraviesa a la figura indica que el individuo ha fallecido. Los cuadrados pintados de negro representan a los individuos enfermos y los círculos con un punto a las mujeres portadoras obligadas. Del en rojo: delección de 3 bases. AGA: alelo wild-type. Las mujeres poseen dos copias del cromosoma X, por eso presentan dos alelos.



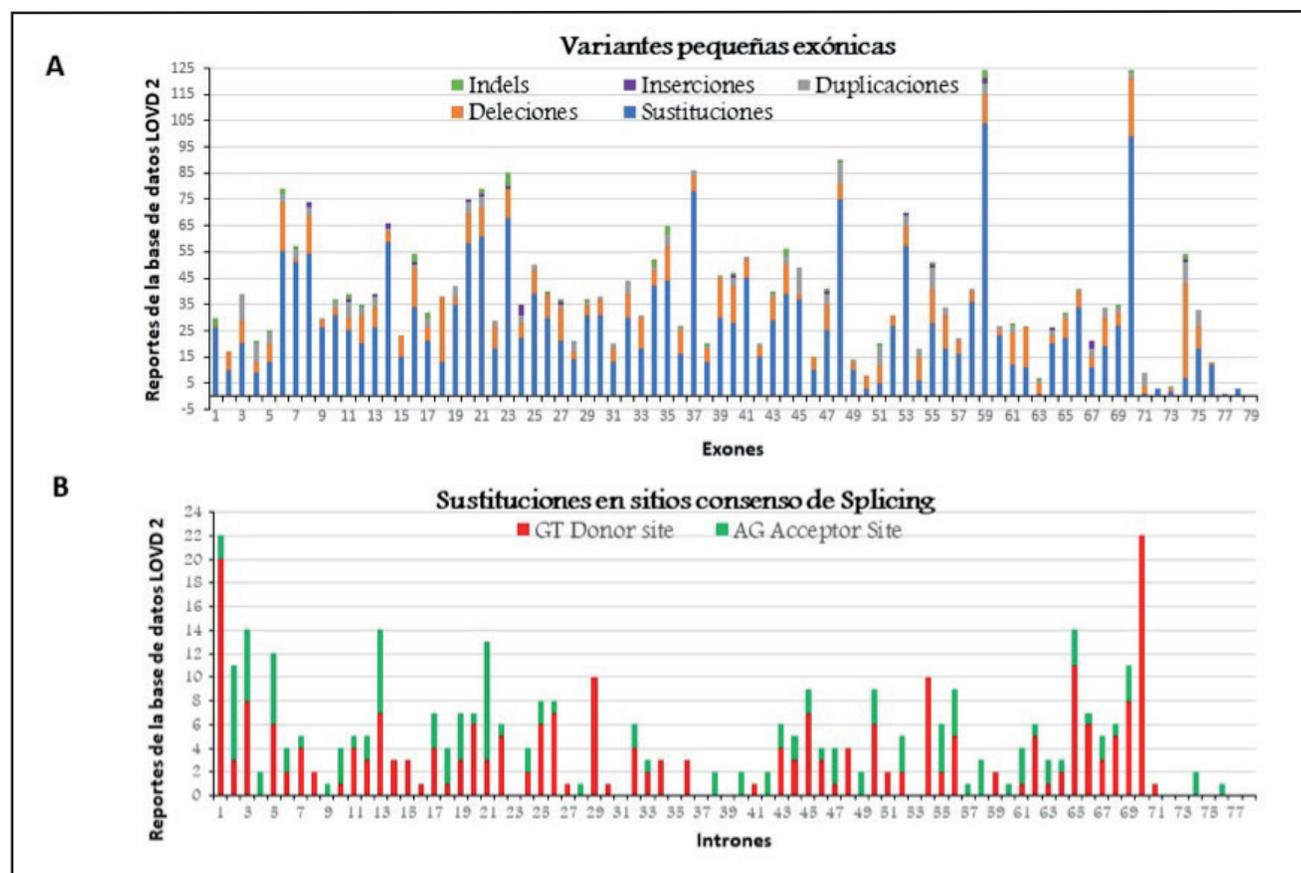
**Figura 2:** Análisis bioinformático de la variante c.10101\_10103del. (A) Conservación del aminoácido implicado en la delección entre especies y su importancia relativa en la estructura de la proteína. (B) Modelado molecular de la proteína tanto wild-type como alterada.

Continuando con los resultados de la secuenciación de exoma completo, en 36 pacientes no pudo identificarse la alteración causante de la patología. Ahora bien, ¿qué se puede hacer en estos casos? Para descartar la posibilidad de haber filtrado la alteración patogénica y confirmar el correcto procesamiento de todos los exones del gen *DMD*, los datos crudos fueron analizados mediante el programa Integrative Genomics Viewer (IGV), pero dicho trabajo no arrojó nuevos resultados y todos los exones demostraron ser correctamente leídos. Puesto que muchos de estos pacientes cuentan con biopsia e inmunohistoquímica compatible con Distrofinopatía, se cree que podrían portar alteraciones en zonas regulatorias o intrónicas profundas

que no son detectadas por esta metodología. ¿Qué significa que la inmunohistoquímica sea compatible con Distrofinopatía? Significa que se está evidenciando una ausencia o disminución de la proteína distrofina en la biopsia de músculo esquelético del paciente.

¿Son las Distrofinopatías los únicos cuadros de distrofias musculares? No, en verdad no son las únicas, aunque son las más frecuentes. Si bien la ausencia y/o disminución de la distrofina en el estudio de inmunohistoquímica es frecuentemente considerado como confirmación del diagnóstico de Distrofinopatía, debe tenerse en cuenta que puede también ser consecuencia secundaria por alteraciones en otros genes aso-

ciados a cuadros de distrofia muscular (Yamamoto *et al.*, 2008; Barresi, 2011). Entonces, ¿qué se podría hacer para lograr diagnosticar a los pacientes sin alteración hallada en el gen *DMD*? En principio, se debe ampliar la búsqueda de variantes a todos los genes asociados al desarrollo de distrofia muscular. Se llevó esto a cabo para los 36 pacientes sin alteración hallada y se logró identificar en 17 de ellos alteraciones patogénicas en otros genes. Esto permitió aumentar la tasa de detección de la secuenciación de exoma completo de un 77% a un 88%. A su vez, es importante destacar el hecho de que varios de los pacientes con biopsia compatible con Distrofinopatía y sin alteraciones en el gen *DMD*, presentaron alteraciones moleculares



**Figura 3:** Análisis de las variantes puntuales en el gen *DMD* reportadas en LOVD. **(A)** Distribución de las variantes de secuencia exónicas, clasificadas en base al tipo de alteración. Verde: delección-inserciones (indels); Naranja: delecciones; Violeta: inserciones; Azul: sustituciones; Gris: duplicaciones. **(B)** Distribución de las variantes de secuencia ubicadas en sitios consenso de splicing. Rojo: alteraciones en sitios dadores; Verde: alteraciones en sitios aceptores

en otros genes. ¿Por qué sucede que pacientes con sospecha de Distrofinopatía en realidad cursan la enfermedad de otra distrofia muscular? Esto sucede porque los síntomas clínicos de las Distrofinopatías y de otros tipos de distrofia muscular se solapan, dificultando el diagnóstico clínico. Por ello, es de suma importancia contar con un diagnóstico molecular que permita confirmar la sospecha clínica y así poder establecer los estándares de cuidado apropiados para cada paciente.

### ■ CARACTERIZACIÓN DE VARIANTES PEQUEÑAS EN EL GEN *DMD*

Con este objetivo, se llevó a cabo un análisis de las pequeñas variantes de secuencia reportadas en la base de datos LOVD, dado el limitado número de alteraciones puntuales detectadas hasta el momento en nuestra población. Para ello, se analizó la frecuencia, la clase de alteración (sustitución, delección, inserción, duplicación y delección-inserción) y la localización de la misma (variantes exónicas o variantes localizadas en sitios consenso de *splicing*).

La página contó con un total de 3.060 reportes de alteraciones localizadas en regiones exónicas, entre las cuales se incluyen variantes de efecto patogénico confirmado, de probable efecto patogénico y variantes sin patogenicidad concluyente. El 70,6% (2.159/3.060) de las variantes correspondieron a sustituciones, le siguieron las delecciones (20,2%; 618/3.060) y las duplicaciones (6,6%; 203/3.060). Tanto las inserciones como las delección-inserciones presentaron las menores frecuencias, sumando entre ambas el 2,6% restante (Figura 3A). Dicha relación en las frecuencias coincide con la observada para las alteraciones patogénicas exónicas identificadas en los varones afectados de

nuestra cohorte, donde se halló que el 66,1% de las variantes fueron sustituciones, 21,2% delecciones, 10,2% duplicaciones y 2,5% inserciones y delección-inserciones.

¿Qué es un *hotspot* de alteraciones moleculares? Es la región del gen que es más propensa a sufrir eventos mutagénicos. Al analizar todas las variantes reportadas en LOVD, si bien no se evidencian *hotspots* de alteraciones puntuales en el gen *DMD*, se pueden destacar algunos exones debido a la ausencia o baja cantidad de eventos mutagénicos (exones: 50, 72, 73, 77, 78 y 79) (Figura 3A). Al contrario, también se pueden señalar exones con una elevada cantidad de variantes de secuencia (exones: 6, 20, 21, 23, 37, 48, 59 y 70). En particular, los exones 59 y 70 presentaron la mayor cantidad de variantes de secuencia (124/3.060 cada uno). El hallazgo realizado para el exón 70, apoya los resultados obtenidos en nuestra cohorte.

En cuanto a las alteraciones que afectan los sitios de *splicing*, la base de datos contó con un total de 374 reportes de sustituciones. Otras clases de alteraciones en estos sitios presentaban frecuencias despreciables, por lo que no fueron incluidas en el análisis. El 65,5% de las alteraciones afectó el sitio dador del proceso de *splicing* (Figura 3B). En cambio, el 34,5% restante se debieron a variantes en el sitio aceptor del *splicing*. En nuestra cohorte sólo se identificaron 25 variantes de secuencia que afectan el *splicing*, y las mismas no cumplen con el patrón evidenciado en la base de datos. El 44% de las variantes se localizaron en sitios dadores, mientras que el 56% corresponde a sitios aceptores.

Al igual que para las variantes exónicas, se pueden destacar intro- nes que no presentaron alteraciones

en los sitios de *splicing* (intrones: 23, 31, 35, 37, 39, 53, 72, 73, 74, 76, 77 y 78) (Figura 3B). Por otro lado, los intrones 1 y 70 mostraron el mayor número de eventos mutagénicos. Finalmente, también se pueden reconocer intrones que únicamente portaron alteraciones en sitios dadores (intrones: 14, 15, 16, 27, 29, 30, 34, 36, 41, 48, 51, 54, 59, 70 y 71) y otros que sólo presentaron alteraciones en los aceptores (intrones: 4, 9, 28, 38, 40, 42, 49, 57, 58, 59, 74 y 76).

Si bien el análisis de la base de datos LOVD no mostró existencia de *hotspots*, indicó que es poco probable para algunos exones y sitios consenso sufrir alteraciones moleculares puntuales. Estos exones se encuentran principalmente en el extremo 3' del gen, excluyendo el exón 70 el cual fue uno de los más afectados por esta clase de alteraciones (Figura 3). ¿Por qué sería importante conocer la existencia de *hotspots* en el gen? Porque de esa manera, la búsqueda de la alteración molecular se podría comenzar por las regiones del gen más propensas a sufrir eventos mutagénicos.

### ■ DESEQUILIBRIO DE LIGAMIENTO

Para empezar, ¿qué es el desequilibrio de ligamiento? Se denomina desequilibrio de ligamiento a la asociación no azarosa de los alelos pertenecientes a 2 o más loci. Dicho desequilibrio explica por qué ciertas combinaciones de alelos se observan con mayor o menor frecuencia a la esperada para la formación al azar de los haplotipos, considerando las frecuencias alélicas de cada locus. El nivel de desequilibrio entre loci se encuentra influenciado por: la distancia relativa entre ambos, eventos de selección natural, la tasa de recombinación, la tasa de mutación, deriva génica, ausencia de panmixia

y la estructura poblacional (Chakraborty *et al.*, 2011). ¿Para qué sirve un análisis de desequilibrio de ligamiento? El mismo sirve para conocer la evolución del genoma o, al menos, una región de éste. Esto se debe a que los eventos demográficos, como ser el cambio en el tamaño poblacional y la migración, dan forma a los patrones genómicos de desequilibrio de ligamiento (McVean, 2002; Zavattari *et al.*, 2000).

Para la cohorte presentada anteriormente se analizó la presencia de desequilibrio de ligamiento entre las variantes de secuencia identificadas mediante la técnica de secuenciación de exoma completo. Fueron excluidas del análisis las alteraciones moleculares asignadas como causantes de patología y aquellas que sólo fueron halladas en un único individuo. Finalmente, se tuvieron en cuenta 67 variantes de

secuencia. Se implementó el programa Haploview 3.2 para establecer si los polimorfismos se encontraban en equilibrio de Hardy-Weinberg, analizar la existencia de desequilibrio de ligamiento e identificar haplotipos que estén cosegregando en la población analizada (Barrett *et al.*, 2005). Entonces, se identificaron 4 bloques de cosegregación, 3 de ellos conformados por 2 variantes de secuencia y uno conformado por 4 variantes (Figura 4).

Con el fin de intentar establecer el origen evolutivo de los bloques hallados, se compararon los MAF (*Minor Allele Frequency*) observados en nuestra cohorte con los obtenidos por el consorcio 1000Genomas para las poblaciones CLM (colombianos de Medellín), PEL (peruanos de Lima), TSI (italianos de la Toscana) e IBS (ibéricos de España). Se seleccionaron las mencionadas po-

blaciones de modo de analizar los 3 orígenes evolutivos más probables para nuestra población (amerindio, italiana y española). Analizando la Tabla 1, al comparar las frecuencias de la población argentina con las mencionadas poblaciones se puede llegar a distintas conclusiones según el bloque que se analice. ¿Qué pasa con los bloques 1 y 2? Estos tienden a acercarse a la frecuencia de la población europea, específicamente el bloque 1 es más similar a la población española. Y en el bloque 3, ¿qué está pasando? En este bloque no se observa similitud alguna con ninguna de las poblaciones seleccionadas. ¿Y qué pasa con el bloque 4? Este bloque pareciera ser bastante característico de la población latina.

¿Qué se puede decir de todo esto? Que la similitud entre los MAF de nuestra población con las poblaciones IBS y TSI, señalaría que los



**Figura 4:** Análisis empleando el programa Haploview de las variantes de secuencia identificadas mediante secuenciación de exoma completo. El diagrama de desequilibrio de ligamiento se generó en base al  $D'$ . Los distintos colores del gráfico dependen del valor de  $D'$  y del estadístico LOD: rojo intenso ( $D'=1$ ,  $LOD \geq 2$ ), rosa/rojo claro ( $D' < 1$ ,  $LOD \geq 2$ ), blanco ( $D' < 1$ ,  $LOD < 2$ ) y azul ( $D'=1$ ,  $LOD < 2$ ). Los números dentro de los triángulos blancos corresponden al valor  $D'$  dividido 100. Los triángulos negros señalan los bloques que conforman los haplotipos identificados. En la esquina inferior derecha se detallan los haplotipos y sus frecuencias.

Tabla 1:

Comparación de los MAF para los loci involucrados en los bloques hallados.

Bloque	1		2		3		4			
Variante	c.9649+15T>C	c.9564-97C>T	c.1704+51T>C	c.1635A>G	c.1483-110G>A	c.1483-123G>T	c.960+166T>C	c.837G>A	c.832-53C>T	c.802T>C
MAF CLM	0,159	0,159	0,069	0,076	0,476	0,476	0,069	0,131	0,069	0,069
MAF PEL	0,039	0,039	0,008	0,016	0,527	0,527	0,078	0,093	0,078	0,078
MAF IBS	0,113	0,113	0,138	0,138	0,588	0,588	0	0,006	0	0
MAF TSI	0,168	0,161	0,143	0,149	0,59	0,59	0	0,006	0	0
MAF argentino	0,068	0,126	0,087	0,097	0,117	0,107	0,058	0,087	0,058	0,058

bloques 1 y 2 se habrían adquirido gracias a las sucesivas oleadas migratorias europeas, especialmente españolas e italianas, que han tenido lugar durante la historia de nuestro país. Pero, la falta de similitud de los bloques 3 y 4 con las poblaciones europeas demostraría que los mismos podrían provenir de los pueblos originarios argentinos. Es importante destacar que la comparación de los MAF podría no ser certera, en primer lugar, porque nuestra población no se encuentra representada en los consorcios internacionales de secuenciación. En segundo lugar, si bien las poblaciones CML y PEL son las más cercanas geográficamente, esto no necesariamente significa que tienen que ser genéticamente similares a la nuestra. ¿Qué destaca todo esto? La necesidad e importancia de contar con consorcios de secuenciación para la caracterización del genoma de cada país o región.

## COMENTARIOS FINALES

Nuestro equipo fue pionero en el uso de la técnica de secuenciación de exoma completo para la pesquisa de alteraciones pequeñas en el gen *DMD* en la cohorte argentina afectada con Distrofinopatías. Esta metodología demostró ser útil para alcanzar el diagnóstico diferencial entre las distintas distrofias musculares, determinar los estándares de cuidado adecuados para cada paciente e identificar candidatos para protocolos mutación-dependiente.

Asimismo, se logró llevar a cabo una caracterización de la diversidad de variantes de secuencia en el gen *DMD* en nuestra cohorte y en pacientes con Distrofinopatía reportados en la base de datos LOVD. También se identificó la existencia de desequilibrio de ligamiento entre 10 loci, los cuales demuestran el acervo genético de nuestra población. Finalmente, nuestro trabajo contribuye con la caracterización de la población argentina afectada con Distrofinopatías y conduce a una mayor comprensión de las alteraciones pequeñas que tienen lugar en el gen *DMD*.

## GLOSARIO

**Alteración de tipo sinónima:** Variante a nivel genómico que no produce un cambio de aminoácido a nivel de la proteína.

**Frameshift:** Variante que genera un corrimiento del marco de lectura de las bases del ADN.

**In-frame:** Variante que no genera un corrimiento del marco de lectura de las bases del ADN.

**Minor Allele Frequency (MAF):** Es la frecuencia a la cual aparece dentro de una población el alelo menos representado para un determinado locus (posición en el genoma).

**Missense:** Variante de ADN a nivel genómico que produce un cambio

de base que se manifiesta con un cambio de aminoácido en la proteína.

**Portadora/o obligada/o:** Persona portadora de una enfermedad genética con una certeza del 100% deducido de su historia familiar.

**Proteína wild-type:** Se refiere a la proteína "salvaje", es decir, a la secuencia aminoacídica de la proteína más representada en una población.

**Segregación de una variante:** Estudio de la transmisión de una variante en los integrantes de una familia.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aartsma-Rus A., Ginjaar I.B., Bushby K. (2016) The importance of genetic diagnosis for Duchenne muscular dystrophy. *J Med Genet* 53(3), 145-151.
- Barresi R. (2011) From proteins to genes: immunoanalysis in the diagnosis of muscular dystrophies. *Skelet Muscle* 1, 24.
- Barrett J.C., Fry B., Maller J., Daly M.J. (2005) Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics* 21(2), 263-265.
- Blyth H., Pugh R.J. (1958) Muscular dystrophy in childhood: the genetic aspect: a field study in the Leeds region of clinical types and

- their inheritance. *Ann Hum Genet* 23, 127-163.
- Bushby K., *et al.* (2014) Ataluren treatment of patients with nonsense mutation Dystrophinopathy. *Muscle Nerve* 50(4), 477-487.
- Chakraborty S., Motsinger-Reif A. (2011) Linkage Disequilibrium between ABO and Rh Loci in Barak Valley Populations vis-à-vis a Few Exotic Populations. *Not Sci Biol* 3(2), 7-11.
- Emery A.E. (1977) Muscle histology and creatine kinase levels in the foetus in Duchenne muscular dystrophy. *Nature* 266, 472-473.
- Guiraud S., Aartsma-Rus A., Vieira N.M., Davies K.E., van Ommen G.J.B., Kunkel L.M. (2015) The Pathogenesis and Therapy of Muscular Dystrophies. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet* 16, 281-308.
- Haas M., *et al.* (2015) European Medicines Agency review of ataluren for the treatment of ambulant patients aged 5 years and older with Duchenne muscular dystrophy resulting from a nonsense mutation in the dystrophin gene. *Neuromuscul Disord* 25(1), 5-13.
- Helderman-van den Enden A.T., Madan K., Breuning M.H., van der Hout A.H., Bakker E., de Die-Smulders C.E.M., Ginjaar H.B. (2013) An urgent need for a change in policy revealed by a study on prenatal testing for Duchenne muscular dystrophy. *Eur J Hum Genet* 21, 21-26.
- McVean G.A. (2002) A genealogical interpretation of linkage disequilibrium. *Genetics* 162, 987-991.
- Mercuri E., Muntoni F. (2013) Muscular dystrophies. *Lancet* 381(9869), 845-860.
- Monaco A., Bertelson C.J., Liechti-Gallati S., Moser H., Kunkel L.M. (1988) An explanation for the phenotypic differences between patients bearing partial deletions of the DMD locus. *Genomics* 2, 90-95.
- Muller U., Graeber M.B., Haberhausen G., Köhler A. (1994) Molecular basis and diagnosis of neurogenetic disorder. *J Neurol Sci* 124(2), 119-140.
- Ryder S, Leadley R.M., Armstrong N., Westwood M., de Kock S., Butt T., Jain M., Kleijnen J. (2017) The burden, epidemiology, costs and treatment for Duchenne muscular dystrophy: an evidence review. *Orphanet Journal of Rare Diseases* 12(1), 79.
- Schwartz M., Dunø M. (2004) Multiplex ligation-dependent probe amplification is superior for detecting deletions/duplications in Duchenne muscular dystrophy. *Clin Genet* 67, 189-191.
- Yamamoto L.U., Velloso F.J., Lima B.L., Fogaça L.L.Q., de Paula F., Vieira N.M., Zatz M., Vainzof M. (2008) Muscle protein alterations in LGMD21 patients with different mutations in the Fukutin-related protein gene. *J Histochem Cytochem* 56(11), 995-1001.
- Zavattari P., Deidda E., Whalen M., Lampis R., Mulargia A., Loddo M., Eaves I., Mastio G., Todd J.A., Cucca F. (2000) Major factors influencing linkage disequilibrium by analysis of different chromosome regions in distinct populations: demography, chromosome recombination frequency and selection. *Hum Mol Genet* 9, 2947-2957.

# INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

## Revista CIENCIA E INVESTIGACION

Ciencia e Investigación, órgano de difusión de la Asociación Argentina para el Progreso de las Ciencias (AAPC), es una revista de divulgación científica y tecnológica destinada a educadores, estudiantes universitarios, profesionales y público en general. La temática abarcada por sus artículos es amplia y va desde temas básicos hasta bibliográficos: actividades desarrolladas por científicos y tecnólogos, entrevistas, historia de las ciencias, crónicas de actualidad, biografías, obituarios y comentarios bibliográficos. Las contribuciones son habitualmente solicitadas por los Editores y, en la mayoría de los números, agrupadas en números temáticos. Desde el año 2009 la revista tiene difusión en versión on line ([www.aargentinapciencias.org](http://www.aargentinapciencias.org))

## PRESENTACIÓN DEL MANUSCRITO

El artículo podrá presentarse vía correo electrónico, como documento adjunto, escrito con procesador de texto word (extensión «doc») en castellano, en hoja tamaño A4, a doble espacio, con márgenes de por lo menos 2,5 cm en cada lado, letra Time New Roman tamaño 12. Las páginas deben numerarse (arriba a la derecha) en forma corrida, incluyendo el texto, glosario, bibliografía y las leyendas de las figuras. Colocar las ilustraciones (figuras y tablas) al final en página sin numerar. Por tratarse de artículos de divulgación científica aconsejamos acompañar el trabajo con un glosario de los términos que puedan resultar desconocidos para los lectores no especialistas en el tema.

La primera página deberá contener: Título del trabajo, nombre de los autores, institución a la que pertenecen y lugar de trabajo, correo electrónico de uno solo de los autores (con asterisco en el nombre del autor a quién pertenece), al menos 3 palabras claves en castellano y su correspondiente traducción en inglés. La segunda página incluirá un resumen o referencia sobre el trabajo, en castellano y en inglés, con un máximo de 250 palabras para cada idioma. El texto del trabajo comenzará en la tercera página y finalizará con el posible glosario, la bibliografía y las leyendas de las figuras. La extensión de los artículos que traten temas básicos no excederá las 10.000 palabras, (incluyendo título, autores, resumen, glosario, bibliografía y leyendas). Otros artículos relacionados con actividades científicas, bibliografías, historia de la ciencia, crónicas o notas de actualidad, etc. no deberán excederse de 6.000 palabras.

El material gráfico se presentará como: a) figuras (dibujos e imágenes en formato JPG) y se numerarán correlativamente (Ej. Figura 1) y b) tablas numeradas en forma correlativa independiente de las figuras (Ej. Tabla 1). En el caso de las ilustraciones que no sean originales, éstas deberán citarse en la leyenda correspondiente (cita bibliográfica o de página web). En el texto del trabajo se indicará el lugar donde el autor ubica cada figura y cada tabla (poniendo en la parte media de un renglón Figura... o Tabla..., en negrita y tamaño de letra 14). Es importante que las figuras y cualquier tipo de ilustración sean de buena calidad. La lista de trabajos citados en el texto o lecturas recomendadas, deberá ordenarse alfabéticamente de acuerdo con el apellido del primer autor, seguido por las iniciales de los nombres, año de publicación entre paréntesis, título completo de la misma, título completo de la revista o libro donde fue publicado, volumen y página. Ej. Benin L.W., Hurste J.A., Eigenel P. (2008) The non Lineal Hypercycle. Nature 277, 108 – 115.

Se deberá acompañar con una carta dirigida al Director del Comité Editorial de la revista Ciencia e Investigación solicitando su posible publicación (conteniendo correo electrónico y teléfono) y remitirse a cualquiera de los siguientes miembros del Colegiado Directivo de la AAPC: [abaldi@dna.uba.ar](mailto:abaldi@dna.uba.ar) - [nidiabasso@yahoo.com](mailto:nidiabasso@yahoo.com) - [miguelblesa@yahoo.es](mailto:miguelblesa@yahoo.es) – [xammar@argentina.com](mailto:xammar@argentina.com) - [sarce@cnea.gov.ar](mailto:sarce@cnea.gov.ar) y con copia a [secretaria@aargentinapciencias.org](mailto:secretaria@aargentinapciencias.org)

Quienes recepcionen el trabajo acusarán recibo del mismo y lo elevarán al Comité Editorial. Todos los artículos serán arbitrados. Una vez aprobados para su publicación, la versión corregida (con las críticas y sugerencias de los árbitros) deberá ser nuevamente enviada por los autores.

