



# Nuevas herramientas diagnósticas de biología molecular en enfermedades neuromusculares

*New molecular biology diagnostic tools in neuromuscular diseases*

Carla Bidinost<sup>a,b</sup>, Bioq. Sabrina Pagnoni<sup>a,b,c</sup>, Hernán Martínez<sup>a</sup> y Alberto L. Rosa<sup>a,b,c</sup>✉

<sup>a</sup> Laboratorio Diagnóstico de Genética y Biología Molecular, Sanatorio Allende. Córdoba, Argentina.

<sup>b</sup> Laboratorio Biología Celular y Molecular, Fundación Allende. Córdoba, Argentina.

<sup>c</sup> Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Católica de Córdoba, IRNASUS-CONICET. Córdoba, Argentina.

## INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

### Historia del Artículo:

Recibido: 23 05 2018.  
Aceptado: 30 07 2018.

### Palabras clave:

Músculo, nervio, neuromuscular, miopatía, distrofia muscular, neuropatía periférica, ADN, exoma, genoma, PCR, MLPA, secuenciamiento de última generación, paneles de genes.

### Key words:

Muscle, nerve, neuromuscular, myopathy, muscular dystrophy, peripheral neuropathy, DNA, exome, genome, PCR, MLPA, next generation sequencing, gene panels.

## RESUMEN

*Los avances en el estudio genético de las enfermedades neuromusculares hereditarias (ENM), a través de variadas metodologías de biología molecular, han permitido arribar, en un número creciente de pacientes, a un diagnóstico etiológico de certeza, acortar el tiempo de estudio en cada caso, ofrecer un correcto asesoramiento genético familiar, establecer relaciones genotipo-fenotipo precisas que brinden eventualmente pautas de pronóstico y tratamiento personalizados, agrupando además cohortes de pacientes para su potencial participación en protocolos clínicos específicos y/o para recibir tratamientos farmacológicos personalizados. En este artículo presentamos un resumen de los estudios de biología molecular usados en pacientes afectados de las ENM más frecuentes. El artículo está fundamentalmente dirigido a neurólogos clínicos, ya sean estos pediátricos o de adultos, quienes, frente a un paciente en el que sospechan una ENM, deben solicitar al laboratorio de biología molecular el estudio genético más apropiado, analizar con el paciente el resultado obtenido y complementar la conducta terapéutica basándose en dicho resultado. El estudio genético solicitado debe brindar las mejores posibilidades diagnósticas para el paciente, en el menor tiempo y con el menor costo posible, beneficiando así al paciente y a los sistemas de salud.*

## ABSTRACT

*Advances of modern molecular biology methodologies for the genetic study of patients with hereditary neuromuscular diseases (NMD), has resulted in a number of benefits for an increasing number of patients: accurate etiological diagnosis, shorter diagnosis times, proper genetic counseling, precise genotype-phenotype relationships that allow for adequate prognosis and treatment options, and the possibility to group cohorts of patients for their potential participation in specific clinical protocols and/or to receive personalized pharmacological treatments. In this article, we present a summary of the molecular biology studies used in patients affected by the most frequent forms of NMD. Our aim is to assist pediatric or adult neurologists to request the most appropriate genetic study when treating a patient with a potential NMD, and to critically analyze the corresponding results to offer appropriate therapeutic alternatives. The requested genetic study must provide the best diagnostic possibilities for the patient, in the shortest time and at the lowest possible cost, thus benefiting the patient and the health systems.*

✉ Autor para correspondencia

Correo electrónico: [alrosa@ucc.edu.ar](mailto:alrosa@ucc.edu.ar)

<https://doi.org/10.1016/j.rmcl.2018.07.006>

0716-8640/ © 2018 Revista Médica Clínica Las Condes. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).



## INTRODUCCIÓN

Los marcados avances en las estrategias de estudios de biología molecular se remontan a la invención de dos metodologías claves, diseñadas por F. Sanger y K.B. Mullis, en los años 1977 y 1985, respectivamente, las cuales permitieron secuenciar de manera relativamente sencilla las moléculas de ADN, así como amplificarlas a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Avances posteriores llevaron a un megaproyecto de colaboración internacional, con financiamiento de sectores públicos y privados por un costo de 3000 millones de dólares, que permitió obtener la primera secuencia completa del genoma humano<sup>1,2</sup>. El relativamente reciente desarrollo de metodologías de secuenciación masiva de ADN (llamadas de NGS o *Next Generation Sequencing*), así como los importantes desarrollos en el análisis bioinformático de datos, han permitido estudiar múltiples genes simultáneamente, algunos de gran tamaño y/o extrema complejidad<sup>3</sup>.

Las enfermedades neuromusculares hereditarias (ENM) constituyen un grupo complejo de entidades clínicas con lesión primaria del músculo y/o del sistema nervioso central y/o periférico (<http://www.musclegenetable.fr/>) y cuyo diagnóstico definitivo es genético, por lo cual es realizado a través de análisis de biología molecular (Tabla 1). Las ENM pueden tener inicio en el período neonatal, la infancia, la juventud o la vida adulta y mostrar un patrón de herencia autosómico dominante (AD), autosómico recesivo (AR), ligado al cromosoma X o de herencia mitocondrial. La complejidad clínica y genética de las diferentes ENM requiere, para su estudio, de un abordaje multidisciplinario del equipo médico, incluyendo una estrecha interacción entre el neurólogo y el profesional del laboratorio de biología molecular<sup>4</sup>. Algunas ENM con presentación clínica similar son causadas por mutaciones en genes diferentes, fenómeno conocido como de heterogeneidad genética; por otra parte, mutaciones en

un mismo gen pueden dar lugar a ENM con presentaciones clínicas diferentes, fenómeno conocido como de heterogeneidad clínica<sup>5</sup>. El sostenido estudio de pacientes y familias con ENM, ha conducido a la identificación de 492 genes, para un total de 884 ENM (<http://www.musclegenetable.fr/>). Alteraciones en genes que codifican proteínas de la matriz del músculo, del sarcolema o la membrana nuclear, del sarcómero, la vaina de mielina, u otras, constituyen la causa de las distintas formas de ENM.

El diagnóstico definitivo de una ENM requiere de una cuidadosa evaluación clínica del paciente que oriente al profesional hacia cuál(es) gen(es) debe(n) ser estudiado(s) en el laboratorio de biología molecular. Una vez solicitado el estudio genético, el laboratorio de biología molecular (Tabla 1) deberá estudiar dicho gen (o genes) analizando si existe en el ADN del paciente, una mutación del tipo puntual, inserción, deleción, duplicación o expansión de repeticiones de nucleótidos (ver Glosario). Posteriormente, el profesional tratante deberá contar con el conocimiento y criterio necesarios que le permita reconocer si los resultados obtenidos en el laboratorio de biología molecular son consistentes con su impresión clínica y/o si tienen valor diagnóstico definitivo.

En los párrafos que siguen se presentan, de manera general y resumida, las estrategias de análisis de biología molecular de las ENM más frecuentes. Esta revisión está dirigida al neurólogo generalista y evita ahondar en la complejidad molecular de los estudios mencionados y/o en sus características técnicas o limitaciones mayores, ni considera las estrategias interactivas diagnósticas con estudios clínicos complementarios, tales como RMN de cerebro o músculos, evaluaciones electrofisiológicas y/o de anatomía-patológica. Además, a excepción de ciertas referencias seleccionadas relativas a ENM y/o su estudio a través de secuenciamiento masivo de ADN, se ha

**Tabla 1. ENM y metodologías diagnósticas**

ENM (nombre)	Sigla (inglés)	Metodología*
Distrofia muscular de Duchenne/Becker	DMD	MLPA, PCR-multiplex, SEC, NGS
Atrofia Muscular Espinal (proximal)	SMA	PCR-RFLP, MLPA, SEC
Distrofia miotónica de Steinert	MD	TP-PCR, SB, PCR
Distrofia muscular facioescapulohumeral	FSHD	PFGE/SB, SEC, NGS
Distrofias musculares de cinturas	LGMD	SEC, NGS
Miopatías distales y miopatías miofibrilares	DM/MFM	SEC, NGS
Miopatías congénitas y distrofias musculares congénitas	CM/CMD	SEC, NGS
Distrofia muscular oculofaríngea	OPMD	PCR, SEC
Síndromes miasténicos congénitos	CMS	SEC, NGS
Neuropatías hereditarias sensitivo-motoras	CMT	PCR, SEC, NGS
Paraplejías espásticas hereditarias	HSP	SEC, NGS
Ataxias hereditarias	HA	TP-PCR, SEC, NGS

\*Se indica en primer lugar la metodología más frecuentemente usada, en primera instancia, en el algoritmo del diagnóstico genético. NGS: estudios de paneles de genes y/o exoma. El significado de cada sigla se describe en el Glosario.

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/11008429>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/11008429>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)