

Conferencia Inaugural

Importancia de la genética en pediatría. A propósito de la diabetes

L. CASTAÑO, I. ESTALELLA, G. PÉREZ DE NANCLARES, J. RAMÓN BILBAO

Grupo de Investigación en Endocrinología y Diabetes. Unidad de Investigación. Hospital de Cruces. Barakaldo. Vizcaya.

El avance experimentado en las últimas décadas en todas las áreas de la medicina ha sido considerable y algunas disciplinas como la genética o la inmunología han evolucionado de forma particular. Estos nuevos conocimientos nos están permitiendo la comprensión de los mecanismos etiopatogénicos que acompañan a numerosas enfermedades, al mismo tiempo que tienen una aplicación directa para el diagnóstico de las mismas y en un futuro próximo, también en su tratamiento.

La genética, si bien abarca todas las áreas de la medicina, ha estado tradicionalmente asociada al conocimiento de la pediatría, muchas de sus enfermedades tienen una base genética. Por este motivo, el pediatra ha seguido de cerca su evolución, aunque en los últimos años el amplio crecimiento de conceptos, tanto generales, como particulares está suponiendo un esfuerzo en la adquisición de los conocimientos.

En la práctica clínica diaria el especialista ha ido incorporando, mediante su formación continuada, numerosas estrategias diagnósticas y terapéuticas (bioquímica, imagen, anatomía patológica, etc.), que han supuesto una mejora en la atención al paciente. En este sentido el avance en el conocimiento genético tiene una aplicación directa en la solución de los problemas clínicos diarios (Figura 1.A). Así, en el presente, el análisis genético se está convirtiendo en una más de las pruebas complementarias necesarias a realizar, con el objetivo fundamental de facilitar un diagnóstico correcto de las enfermedades genéticas, y si bien la terapia génica directa aún no es una realidad extendida, sí son evidentes las ventajas preventivas basadas en un adecuado consejo genético a través de la identificación de personas portadoras y/o la mejora clínica basada en la aplicación de tratamientos precoces en casos indicados (Figura 1.B).

En el presente documento nos gustaría profundizar en algunos conceptos generales de aplicación práctica, que faciliten la comprensión de esta patología y destacar el papel fundamental que desarrolla el médico clínico en la identificación y en el tratamiento de los trastornos genéticos.

ANTE UNA ENFERMEDAD CLÍNICA, ¿CUÁL ES EL GEN ALTERADO?, Y ¿CÓMO LLEGAR A IDENTIFICAR EL TRASTORNO GENÉTICO?

Dos cuestiones fundamentales se deben plantear en el estudio de las enfermedades de origen genético: ¿cuál es el gen alterado? y ¿cómo llegar a identificar el trastorno genético? Para responder a estas preguntas es básica una *orientación clínica y bioquímica correcta* (Figura 2). Existen muchos genes en el genoma y es difícil su localización con unos datos clínicos incompletos o inexactos; por ello, el papel del médico clínico en los estudios genéticos es fundamental, y es él quien apoyándose en su experiencia clínica y en los datos clínico-analíticos, contribuirá, de forma significativa, a dirigir el estudio hacia el gen o genes en los que sea más probable que se encuentre la mutación.

¿QUÉ PERSONAS DEBEMOS ESTUDIAR PARA REALIZAR UN DIAGNÓSTICO GENÉTICO CORRECTO?

Si bien ante un paciente con un cuadro clínico determinado las pruebas complementarias van dirigidas al suje-

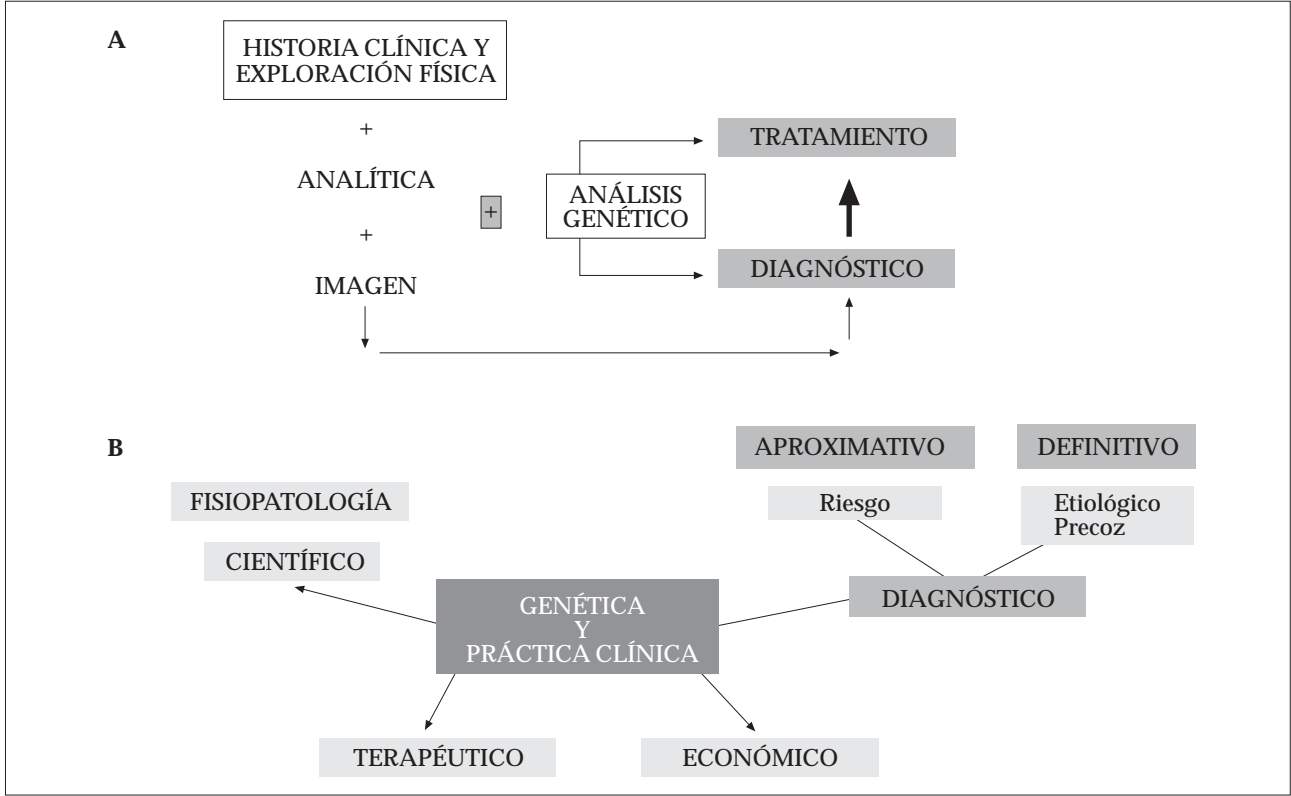


Figura 1. Utilidad del diagnóstico genético en la práctica clínica como herramienta para facilitar un correcto diagnóstico clínico (A) y como ventaja preventiva en la clínica diaria (B).

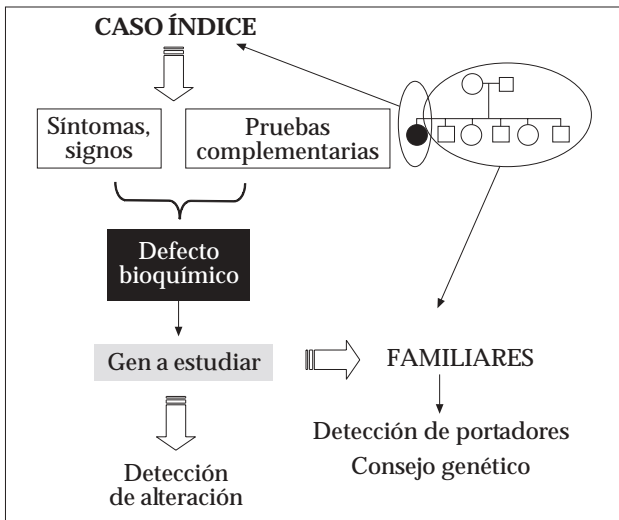


Figura 2. La orientación clínica y bioquímica realizada sobre el caso índice permite la identificación, por parte del especialista clínico, del gen a estudiar. El análisis de la familia completa favorece la identificación de portadores dentro de dicha familia para poder elaborar un consejo genético adecuado.

to mismo, en términos generales, en el caso de los estudios genéticos además del caso índice o enfermo, un correcto diagnóstico genético se beneficia del *estudio de familias completas* (al menos caso índice y familiares de primer grado) (Figura 2). La necesidad del estudio de toda la familia está basada en que en el análisis genético, la identificación de un cambio (o mutación) en un gen determinado en un paciente clínicamente afecto (caso índice) no obligatoriamente es la causa de una enfermedad. Entre otros datos, para ver la relación mutación en un gen/enfermedad clínica, es importante ver que el cambio detectado se segrega con la enfermedad, o sea que otros miembros enfermos en la familia también tienen ese cambio genético y, por el contrario, que aquellos familiares clínicamente sanos no han heredado la mutación (excepto en el caso de enfermedades que tienen una manifestación clínica en edades altas cuando el análisis lo hacemos a edades jóvenes). Asimismo, en el caso de las enfermedades de herencia recesiva (la mayoría) el estudio de los padres nos permitirá ver su situación de *porta-*

dores heterocigotos (presencia del cambio o mutación en uno solo de sus dos alelos) sin manifestaciones clínicas, o la identificación de portadores sanos entre los hermanos del caso índice o en los hijos. Un estudio familiar, en resumen, nos permitirá hacer un consejo genético adecuado y completo. Por otra parte, en el caso de enfermedades genéticas en las que el gen (o genes) aún no se ha identificado, es importante disponer del mayor número de familiares posible (de segundo y tercer grado) para poder hacer *estudios de ligamiento* (estudio de la transmisión en la familia de marcadores conocidos, teóricamente próximos al gen causante de la enfermedad, que aún es desconocido), que nos orientarán, aunque de forma indirecta y no totalmente exacta, de la posible herencia de un gen mutado, pero desconocido, al ver la transmisión de esos otros genes próximos que actúan como marcadores.

¿QUÉ MATERIAL SE NECESITA PARA UN ANÁLISIS GENÉTICO?

Por lo general, los estudios genéticos se llevan a cabo en el *ADN genómico*, ya que el análisis de esta molécula nos permite encontrar alteraciones estructurales en los genes. El ADN genómico es el mismo en todas las células nucleadas del organismo, con lo que una extracción de sangre total (anticoagulada con EDTA o heparina) es la fuente de material genético más habitual. La cantidad necesaria varía en función de los estudios, por lo que antes del envío es importante contactar con el laboratorio de análisis para precisar las características de la muestra y del envío, pero en general unos 5-10 mL de sangre total serán suficientes (incluso menos en casos de niños pequeños). Si el envío va a hacerse el mismo día se hará a temperatura ambiente, pero si por algún motivo ha de retrasarse se recomienda congelarla en tubos de plástico y enviarla congelada (Figura 3).

Otros estudios más complejos se refieren a la funcionalidad del gen (o sea al nivel de expresión génica). La expresión génica se valora analizando la cantidad/calidad del ARN mensajero (ARNm) expresado por ese gen. En ese caso el ARNm de un gen se debe aislar del tejido concreto en el que se está expresando ese gen (por ejemplo el páncreas para la insulina), por lo que debemos disponer de ese tejido para el estudio genético. Este hecho complica en determinados

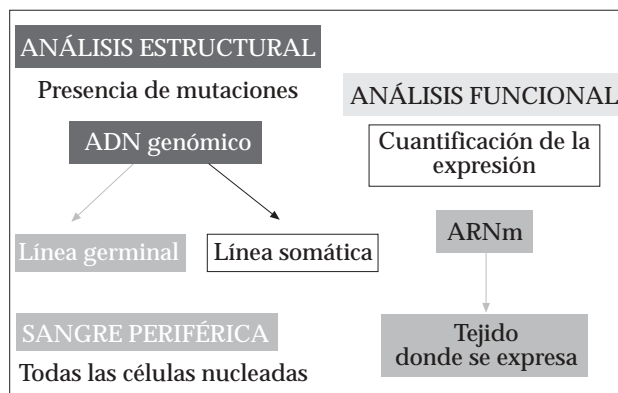


Figura 3. La mayoría de los estudios genéticos se realizan sobre la estructura de ADN, por lo que con una muestra de sangre del paciente a estudio es suficiente. En el caso de estudiar expresión de ARN mensajero (ARNm), el material necesario es el tejido donde dicho ARN se expresa.

casos el estudio genético. Por una parte, la accesibilidad del tejido puede limitar el tejido; por otra, hay que recordar que el ARNm es muy lábil e inestable por lo que la muestra (biopsia o trozo de tejido) se congelará nada más extraerla del organismo en nitrógeno líquido y se enviará congelada, evitando por todos los medios su descongelación, lo que supondría la destrucción inmediata del ARN.

Es muy importante acompañar cualquier muestra con un informe detallado de la clínica del paciente, así como indicar de la forma más concreta y exacta posible cuál es el gen en el que se sospecha que está la mutación, y siempre teniendo en cuenta que un estudio genético es largo y costoso, por lo que debemos estar muy seguros del gen propuesto para estudio.

¿CUÁL ES EL PLANTEAMIENTO DEL DIAGNÓSTICO GENÉTICO?

La identificación de cambios en el presunto gen responsable de la enfermedad es una tarea compleja y la estrategia a emplear estará condicionada por la información genética previa de la que se disponga. Así, es diferente si se trata de una *enfermedad monogénica* (producida por el trastorno de un gen) o es una *enfermedad compleja* (bien *poligénica*, cuando están implicados varios genes, o bien asociada al mismo tiempo a factores ambientales).

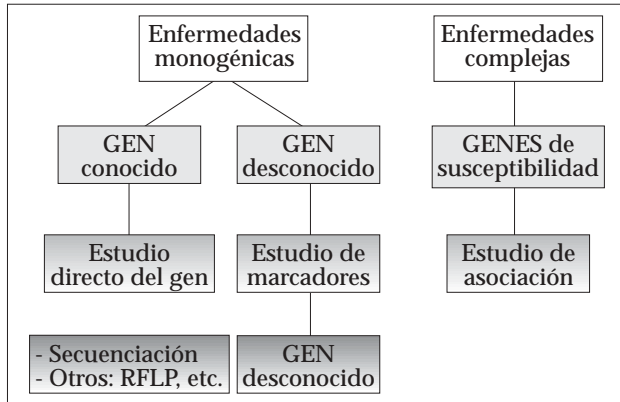


Figura 4. Desde el punto de vista genético las enfermedades pueden ser monogénicas (un solo gen implicado) o complejas (interacción de varios genes y ambientes). En función de si nos encontramos ante un tipo o el otro, el tipo de estudio a realizar será diferente.

Asimismo, el planteamiento es diferente si el gen es conocido o desconocido, o si las mutaciones responsables de la enfermedad en un gen son siempre las mismas o son diferentes y localizadas por todo el gen. En la práctica clínica diaria quizás esta última sea la modalidad más frecuente y la metodología y el planteamiento de estudio variará según el tipo de mutación y en función de las características propias del gen.

Desde el punto de vista metodológico existen dos tipos de abordaje molecular para estudiar enfermedades monogénicas con genes conocidos: el estudio directo o el indirecto. El estudio directo o de secuenciación nos permite identificar la mutación concreta que es responsable de la patología de un individuo. La secuenciación es lenta y compleja, por lo que se utiliza en genes con pocos exones, pequeños y en caso de que tengamos pocos pacientes para estudiar (p. ej.: en enfermedades raras). En los casos en los que el gen sea muy grande (o con muchos exones) o que haya muchos pacientes para estudiar (enfermedades frecuentes) se suelen emplear primero métodos genéticos de cribado (como SSCP, Southern Blot, etc.) que buscan los pacientes que tienen alteración, sin precisar cual, y una vez identificado aquel individuo en el que una prueba indirecta muestra un cambio (y que exón del gen tiene el cambio), el diagnóstico se realiza por secuenciación directa y exclusiva del exón correspondiente (Figura 4, Tabla I).

TABLA I. MÉTODO DE ESTUDIO DE ENFERMEDADES MONOGENICAS CON GEN CONOCIDO

Métodos indirectos	Método directo
Métodos de cribado para localizar la zona alterada	
<ul style="list-style-type: none"> • PCR Reacción en cadena de la polimerasa • ASO Hibridación con oligonucleótidos específicos • RFLP Polimorfismos de los fragmentos de restricción • SSCP Conformación de cadena sencilla • DGGE Electroforesis en gradiente desnaturalizante • Otros RNase cleavage/EMC/OLA, etc. 	↓ Secuenciación

Un planteamiento diferente es el que se emplea en aquellas enfermedades en las que no se conoce el gen exacto. Aquí se aplicarán métodos de ligamiento, que permitirán, mediante el análisis de transmisión de marcadores genéticos (genes o secuencias de ADN conocidas y polimórficas, situadas cerca del gen de nuestro interés), definir los sujetos de la familia con la posible alteración responsable. O sea, se analizan las variantes de marcadores que tienen los sujetos con datos clínicos alterados versus los sanos, asumiendo que una determinada variante de marcador (aquella que lleva el enfermo) suele acompañarse de la variante mutada del gen desconocido, mientras que otras variantes del marcador se acompañan de la forma no mutada del gen (gen normal).

¿UN CAMBIO EN LA SECUENCIA DE UN GEN SIEMPRE ES EL RESPONSABLE DEL CUADRO CLÍNICO QUE SE ESTUDIA?

El ADN que forma los genes no es una molécula estable y puede sufrir cambios por agentes externos (compuestos mutagénicos, radiaciones, etc.) o internos (errores en los sistemas enzimáticos de la transcripción, segregaciones cromosómicas anómalas en la mitosis y meiosis, etc.) dando lugar a las mutaciones o a los polimorfismos.

TABLA II. CLASIFICACIÓN DE LOS DISTINTOS TIPOS DE MUTACIONES

A. En función del tipo celular afectado:
<ul style="list-style-type: none"> • Somáticas • Germinales
B. En función de su localización en el gen:
<ul style="list-style-type: none"> • Región codificante • Zona de <i>splicing</i> • Promotor • Zonas no codificantes (regiones 3'- y 5'-UTR, intrones)
C. En función de su efecto sobre la proteína:
<ul style="list-style-type: none"> • Silenciosa • <i>Missense</i> • <i>Nonsense</i> • <i>Frameshift</i>

Por lo general la secuencia de ADN de la mayoría de los genes que codifican las proteínas está conservada (o sea es idéntica en todos los individuos). No obstante, algunos genes varían de unos individuos a otros (son los *genes polimórficos*) y las zonas variables del gen son las áreas polimórficas o *polimorfismos*. Un ejemplo clásico de polimorfismo se encuentra en los genes del factor sanguíneo ABO, en los que una persona puede ser A, B o 0 según sea la estructura de nucleótidos del gen. Una u otra variante teóricamente no supone alteración de la función, pudiendo haber individuos con cualquiera de estas variantes o alelos (que son simplemente las diferentes formas de un gen polimórfico), y que no implican por sí mismas ninguna patología (también se utiliza el término “*alelo*” para definir cada una de los dos genes, paterno y materno, que hereda un individuo de sus antecesores para un determinado *locus*). Los polimorfismos confieren diversidad a la población y son la consecuencia de mutaciones antiguas (o cambios en la estructura o secuencia de ADN de los genes) que han ocurrido durante la evolución, y que no han sido eliminadas por la selección natural, ya que no constituyen ninguna desventaja para su portador. En nuestro medio, los polimorfismos se asocian a variantes de la normalidad.

Por el contrario, hablamos de “*mutación*” propiamente dicha para cambios de la secuencia de nucleótidos responsables de alteración de función y que suponen desventaja para el individuo que la presenta. Algunas clasificaciones definen la diferencia entre *mutación* y *polimorfismo* en función de la frecuencia con la que cada una de las variantes se presentan en la población, y se consideran *polimorfismos*

sólo si su frecuencia es superior al 5% de la población. Cuando la *mutación* se produce en alguna de las células somáticas (en cualquier célula del organismo, excepto los gametos), se habla de *mutación somática*. Esta *mutación* sólo afecta a las células derivadas de la célula mutada, y afectará sólo a dicho órgano o sistema; no se transmite a la descendencia, y está presente sólo en el individuo donde ocurre la *mutación* (éste es el caso de algunas formas de cáncer que se asocian a *mutaciones somáticas* de determinados genes, por ejemplo, alteraciones en el protooncogén *RET* en el carcinoma medular de tiroides no familiar). Por otro lado, cuando la *mutación* está presente en las células germinales o gametos o en todas las células (incluidos éstos) se transmite y formará parte del genoma de la descendencia; hablamos entonces de una *mutación en línea germinal*, que estará presente en todas las células del organismo de la descendencia. Estas últimas *mutaciones* son las causantes de las enfermedades hereditarias (Tabla II).

¿QUÉ TIPO DE MUTACIONES EXISTEN? Y ¿CUÁL ES SU EFECTO?

Desde el punto de vista estructural, las alteraciones que puede sufrir un gen se pueden clasificar en tres grupos: *deleciones*, que suponen la pérdida de material genético; *inserciones*, que hacen referencia a la aparición de material genético nuevo; y *sustituciones*, que corresponden a aquellos casos en los que determinado material ha sido sustituido por otro. Todas estas alteraciones pueden afectar a grandes regiones cromosómicas y ser visibles por técnicas de citogenética (hablando entonces de *trisomías*, *traslocaciones*, pérdida de fragmentos cromosómicos, etc.), o bien pueden tratarse de alteraciones que afectan a uno o a pocos nucleótidos (*mutación puntual*), siendo detectadas por técnicas de genética molecular.

Si bien una *mutación* es un cambio de secuencia basado en la pérdida, la adición y una sustitución de nucleótidos, las consecuencias de ese cambio (efecto leve o grave) variarán en función de lo que suponga en la transcripción/traducción de ese gen (así, cambios de un solo nucleótido pueden ser silentes o por el contrario pueden cambiar la proteína resultante de forma fatal) (Tabla II).

En función de sus consecuencias a nivel de la secuencia de la proteína, las *mutaciones* pueden clasificarse en *silentes*

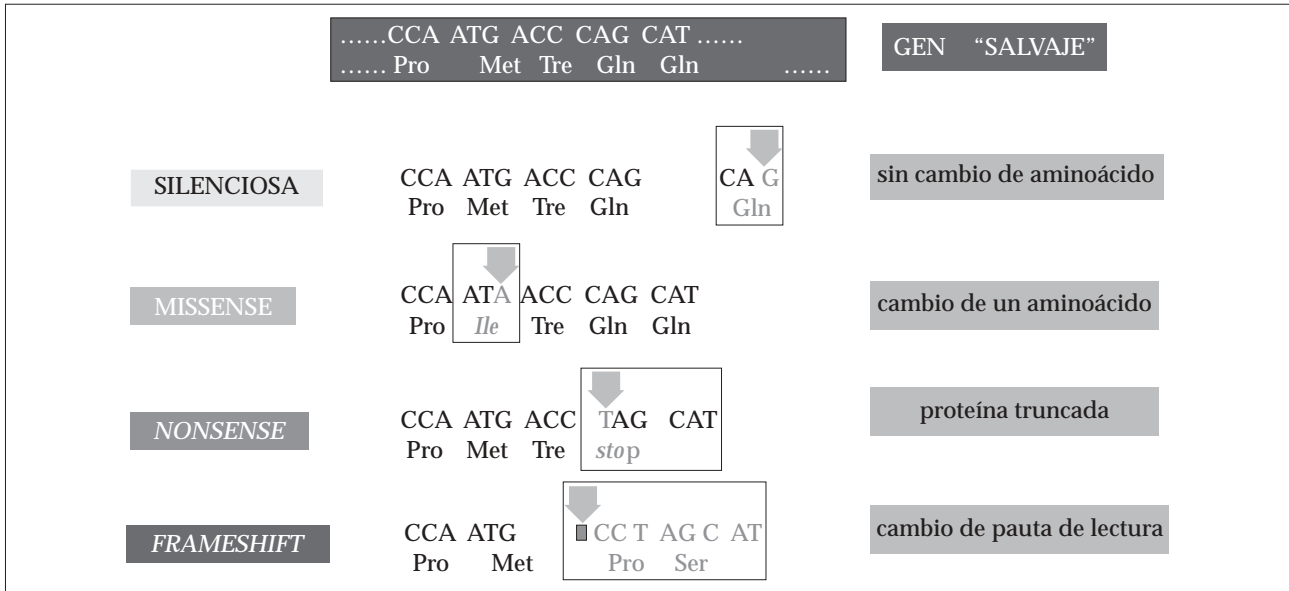


Figura 5. Tipos de mutaciones de la región codificante en función de su efecto sobre la proteína.

ciosas, *missense*, *nonsense* y de cambio en la pauta de lectura (del inglés *frameship*) (Figura 5, Tabla II). También puede haber mutaciones en la región reguladora del gen, fuera de la región codificante (p. ej. en el promotor).

- **Mutaciones silenciosas:** el cambio de nucleótido genera un codón que codifica para el mismo aminoácido que el codón inicial: CAT→CAG, Gln→Gln. Conviene recordar que el código genético es degenerado (varios codones codifican para el mismo aminoácido).
- **Mutaciones missense:** el cambio de nucleótido genera cambio de aminoácido: ATG→ATA, Met→Ile. La severidad de las mutaciones missense depende de diferentes circunstancias (la sustitución de un aminoácido por otro de las mismas o distintas características químicas, la posición exacta de ese aminoácido en la proteína que se vea afectada o sea en función que sea el centro activo o no, etc.).
- **Mutaciones nonsense:** el cambio de un nucleótido conlleva la sustitución de un aminoácido por un codón de terminación: CAG→TAG, Gln→Stop. No olvidemos que existen tres codones responsables de finalizar la transcripción. Las mutaciones *nonsense* generan codones de parada prematuros y generalmente proteínas truncadas con efecto grave en la función proteica (en función de tamaño perdido de la proteína).
- **Mutaciones frameship:** en la que la introducción o eliminación de una única base causará un cambio en la pauta de

lectura desde su inserción o deleción hasta el extremo carboxilo terminal de la proteína, originando una proteína mutada con una secuencia peptídica completamente diferente a la original a partir de ese cambio.

- **Mutaciones en zonas de splicing:** Cuando las mutaciones afectan a la regiones intrónicas adyacentes a los exones (o zonas de *splicing*), que participan en el correcto procesamiento de la molécula de ARNm inmadura.
- **Mutaciones de zonas reguladoras del gen** (promotores, etc.) en las que a pesar de tener su secuencia codificante intacta, no se exprese correctamente.

ENFERMEDADES HEREDITARIAS: PATRONES Y CONSEJO GENÉTICO

Las enfermedades hereditarias son consecuencia de alteraciones a nivel genético que se transmiten de generación en generación a través de unos patrones de herencia, algunos de ellos bien conocidos (patrones de herencia mendeliana) (Figura 6) y otros mas complejos, asociados a factores descritos en los últimos años que complican la relación genotipo/fenotipo, como son la penetrancia, el *imprinting* o los genes mitocondriales (Figura 7).

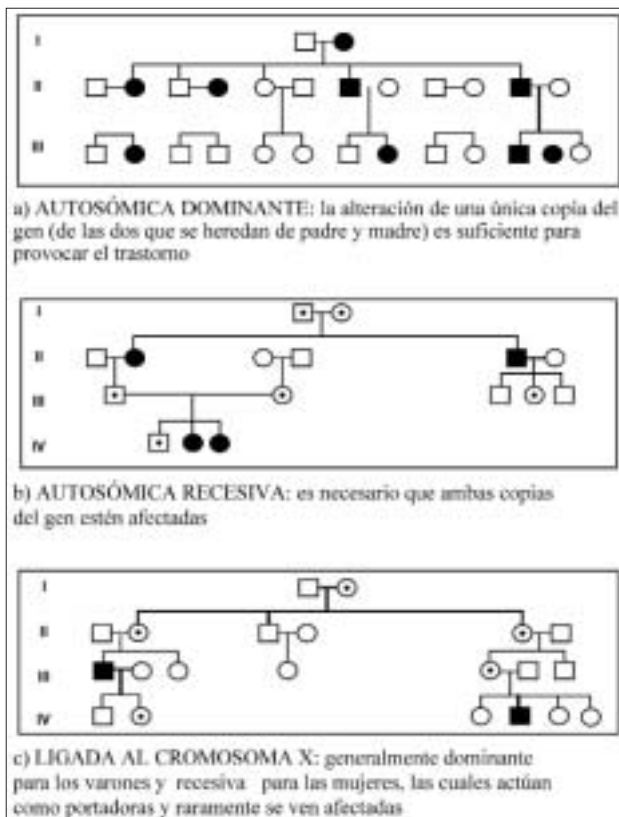


Figura 6. Patrones clásicos de herencia mendeliana.

El grado de penetrancia de una alteración genética es el grado de expresividad clínica de dicho cambio genético y puede variar de un individuo a otro (así, en la fibrosis quística, en función del tipo de mutación del gen de la FQ, tendremos en un paciente más afectación respiratoria, o más digestiva, etc.). Existen trastornos genéticos que tienen una *penetrancia incompleta* con lo cual su expresividad puede ser diferente en los individuos, es decir, dos individuos portadores de la misma alteración genética manifiestan distinto fenotipo (por ejemplo más o menos intenso). La variabilidad en la expresión depende de muchos factores (algunos conocidos, como la edad y otros aún por definir); no obstante, cambios en la penetrancia complican la capacidad de definición de un patrón de herencia de un trastorno genético determinado, ya que dicho trastorno puede pasar desapercibido en alguno de los individuos.

La *herencia mitocondrial* se basa en que las mitocondrias portan su propio material genético y en que el gameto masculino no transfiere al cigoto mitocondrias, por lo cual los genes mitocondriales (y por tanto las alteraciones de los genes mitocondriales) sólo son transmitidos a la descendencia por la madre.

Otro tipo diferente de herencia está basado en el concepto de *imprinting* o *inactivación alélica* que es un proceso



Figura 7. Factores que alteran los patrones de herencia mendeliana.



Figura 8. Abordajes metodológicos para el estudio de enfermedades complejas que nos permiten determinar el grado de susceptibilidad genética de los distintos individuos a padecer la enfermedad.

fisiológico que ocurre en determinados genes y que consiste en la inactivación selectiva de uno de los dos alelos heredados, de forma que sólo uno de los dos es totalmente funcional. Se habla de *imprinting materno* cuando el alelo inactivo se hereda de la línea materna y de *imprinting paterno* cuando el alelo inactivo es el transmitido por el padre. La diferente actividad que pueden presentar cada uno de los alelos puede influir en la expresión fenotípica de una mutación. Así por ejemplo, en el síndrome de Prader-Willi existe *imprinting materno*, es decir, por mucho que una madre posea una mutación en uno de sus alelos y la transmita a la descendencia, esa descendencia no estará enferma, porque el alelo transmitido por la madre, aunque mutado, no se expresa de forma fisiológica en esos hijos (podríamos decir que en los hijos sólo funciona de forma normal el gen paterno). No obstante, los hijos varones de esa mujer (que han heredado el gen mutado, aunque como lo tienen inactivo no les ocasiona enfermedad) podrán transmitir ese gen, en forma activa a su descendencia, en la que se manifestará la enfermedad. Sin embargo, si la mutación está en el padre, los hijos que hereden la mutación presentarán la enfermedad (Figura 7). Una explicación similar, pero opuesta, se aplicaría a aquellos genes que funcionan con *imprinting paterno*.

Según todos estos patrones, es importante definir y conocer bien las características genéticas de una alteración para poder dar un consejo genético correcto y adecuado.

GENÉTICA DE LAS ENFERMEDADES COMPLEJAS

Si el estudio de las enfermedades monogénicas es complicado, aún es más difícil identificar los genes que intervienen en el desarrollo de las enfermedades complejas y determinar la contribución de los mismos al riesgo genético, ya que dichas enfermedades son, por lo general, *poligénicas* (resultan de alteraciones en varios genes) o *multifactoriales* (producidas por la interacción de factores ambientales y un conjunto de determinantes genéticos).

En las enfermedades complejas, como la diabetes tipo 1, el patrón de herencia es menos conocido y se han diseñado otro tipo de análisis que permiten una aproximación a la contribución de diferentes genes a la enfermedad. El análisis de estos genes en un individuo permitirá establecer el grado de *susceptibilidad genética* a una enfermedad (Figura 8). El método más sencillo de todos ellos es el estudio de *asociación en casos frente a controles*, en el que se compara la frecuencia de determinada variante polimórfica entre enfer-

mos y sanos. Otros estudios de asociación analizan familias con algún miembro afecto; por ejemplo, la estrategia AFBAC (*Affected Family BAsed Controls*) que compara en una familia los alelos patológicos de ese gen (los alelos del paciente) frente a los alelos no patológicos (los alelos de ese gen parentales no presentes en el paciente). Otro método de análisis de susceptibilidad es el *test de desequilibrio de transmisión* (TDT), que analiza la proporción de transmisión de variantes alélicas de los padres a la descendencia (hijos) enferma y a la sana, asumiendo que cuando existe desequilibrio, es decir, cuando un alelo es transmitido con mayor frecuencia a los hijos enfermos, dicho gen está ligado a la enfermedad. Por último, un método más potente que los anteriores, busca loci para los que se observan desviaciones de las proporciones mendelianas de identidad genética entre familiares enfermos, generalmente *parejas de hermanos afectados* (Figura 8).

En resumen, el papel del médico clínico y la adecuada caracterización clínico-analítica del paciente es fundamental para orientar el estudio de un trastorno genético hacia la región del genoma implicada en su patogenia. Los estudios genéticos se realizarán a partir del análisis de la familia completa, y la metodología a emplear para un análisis genético varía en función de la frecuencia de la enfermedad, del tamaño del gen (exones) a estudio o del tipo de mutación (siempre la misma o mutaciones diferente en cada caso). El estudio directo del gen o el de marcadores (genes o zonas polimórficas próximas al gen desconocido) en el caso de genes aún no conocidos, así como un análisis cuidadoso del patrón de herencia, siempre teniendo en cuenta patrones no mendelianos (*imprinting*, genes mitocondriales, etc.), es fundamental para poder definir el grado de riesgo de la enfermedad en los sujetos clínicamente sanos (p. ej.: en familiares), y establecer un consejo genético claro.

LA DIABETES UN MODELO DE HETEROGENEIDAD GENÉTICA

La diabetes mellitus en la infancia, adolescencia y adulto joven, si bien tradicionalmente se ha asociado a un trastorno de la respuesta inmune en la forma de diabetes tipo 1, es un cuadro clínico de etiopatogenia variable, que abarca problemas, tanto en la síntesis, como en la función de la

insulina. Estos trastornos son la consecuencia, en la mayoría de los casos, de alteraciones genéticas diferentes que sólo comparten el fenotipo clínico de hiperglucemia, pero con diferentes cambios moleculares, patrones de herencia, mecanismos patogénicos, y en ocasiones, incluso gran heterogeneidad clínica. Así, existen formas de diabetes infantil de causa poligénica (la diabetes tipo 1) o monogénica (la diabetes tipo MODY, DIDMOAD, etc.), o con cuadros clínicos característicos secundarios a trastornos genéticos mitocondriales (síndrome MELAS). En otros tipos de diabetes, aún cuando se vislumbra su etiología genética, los genes alterados aún no han sido totalmente caracterizados (diabetes neonatal transitoria o permanente). En otras ocasiones la hiperglucemia característica de la enfermedad es secundaria a cambios, muchos de ellos genéticos, en el equilibrio hormonal (síndrome de Cushing) o a enfermedades genéticas ajenas al metabolismo hidrocarbonado (fibrosis quística, alteraciones cromosómicas, como el síndrome de Down). Es pues la diabetes infantil un modelo de heterogeneidad no sólo clínica, sino también genética.

La concordancia para la enfermedad entre gemelos homocigotos o su segregación en familias hizo pensar que la diabetes insulino-dependiente en la infancia o de tipo 1 tenía un origen genético. No obstante, esta concordancia era sólo del 50%, lo que apoyaba también un componente ambiental. A lo largo de los últimos años se ha investigado la naturaleza genética de la diabetes tipo 1 y no se ha encontrado ningún gen, de cuya alteración exclusiva se pueda responsabilizar el desarrollo de la enfermedad; sin embargo, se han observado asociaciones de la misma con diferentes variantes de genes polimórficos que sostienen en actualidad su origen poligénico. Utilizando distintas estrategias (gen candidato, clonaje posicional, etc.) se han identificado 17 regiones del genoma asociadas con la diabetes tipo 1, de ellas la región HLA, en el brazo corto del cromosoma 6, es la que parece jugar un papel más importante. La región HLA o complejo mayor de histocompatibilidad está constituida por varios genes (HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP, TNF α , complemento, etc.) muy polimórficos [o sea que presentan muchas variantes en la población (DR1, DR2, ..., DR10; DQ2, DQ6, DQ8, ...)], algunas de cuyas variantes se asocian con la enfermedad (las variantes HLA DR3 y DR4 se asocian con riesgo, mientras que el alelo DR2 se asocia con protección). Una vez caracterizados los genes que se asocian

TABLA III. CLASIFICACIÓN DE LOS DISTINTOS TIPOS DE DIABETES TIPO MODY.

	HNF4a (MODY1)	Glucocinasa (MODY2)	HNF1a (MODY3)	IPF1 (MODY4)	HNF1b (TCF2) (MODY5)	Otros*
Localización	20q12-q13.1	7p15-p13	12q24.2	13q12.1	17cen-q21.3	desconocido
Frecuencia	≈ 5%	≈ 50%	≈ 20%	< 5%	< 5%	10-15%
Mutaciones	Variable	Variable	25% ins. C (e4)	Desconocido	Variable	Desconocido
Inicio	Adolescencia	Infancia	Adolescencia	Infancia	Adolescencia	Variable
	Madurez temprana	(nacimiento?)	Madurez temprana		Madurez temprana	
Gravedad	Progresiva	Leve	Progresiva	Severa	Progresiva	Variable
Patofisiología	Disfunc. cél. β	Disfunc. cél. β	Disfunc. cél. β	Agenesia	Disfunc. cél. β	Desconocido

con la enfermedad podemos establecer el grado de susceptibilidad que tiene una persona en función de las variantes de esos genes que un individuo ha heredado.

A pesar de la concordancia en gemelos o de la segregación familiar, la diabetes tipo 1 no se transmite según ninguno de los patrones de herencia conocidos (mendelianos u otros). Este hecho es fundamental y permitió la singularización de otro tipo de diabetes en el niño, la tipo MODY (o diabetes tipo 2 de comienzo infantil), que tiene un modelo de herencia autosómico dominante y cuyo trastorno genético, patogenia y evolución clínica es diferente a la diabetes tipo 1. La diabetes tipo MODY es una enfermedad monogénica y se han identificado hasta ahora 6 genes (genes MODY 1 a MODY 6) cuyas alteraciones son responsables de cada uno de los seis diferentes cuadros clínicos, todos ellos asociados a diabetes (Tabla III). No existe alteración autoinmune y se caracteriza por trastornos de la secreción y sensibilidad a la insulina basados en la función de los genes alterados (glucocinasa y factores de transcripción de la célula β pancreática).

También de herencia monogénica y autosómica dominante son algunos cuadros de diabetes caracterizados por una intensa insulinoresistencia de comienzo en la infancia (p. ej.: alteraciones del gen del receptor de la insulina) o de herencia recesiva, como la diabetes mellitus asociada a diabetes insípida, atrofia óptica y sordera (síndrome DIDMOAD) o como algunos cuadros de diabetes neonatal permanente que a veces cursa con agenesia pancreática (alteraciones del gen de la glucocinasa o del factor IPF1). Existen por último cuadros complejos en los que diabetes se asocia a cuadros de miopatía, encefalopatía y acidosis láctica y relacionados con trastornos en el ADN mitocondrial.

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS EN LA ORIENTACIÓN DEL ANÁLISIS GENÉTICO DE UN NIÑO CON HIPERGLUCEMIA

Caso: niña de 8 años con hiperglucemia moderada. Padre y abuela paterna con diabetes.

Ante una hiperglucemia mantenida en la infancia se debe descartar una diabetes tipo 1, ya que es la de mayor prevalencia, y a pesar de que un cuadro como el descrito encargaría perfectamente en esta patología, un cuidadoso análisis de la historia clínica y de las pruebas analíticas no confirman ese diagnóstico. Desde el punto de vista clínico se observa en la niña una herencia autosómico dominante para la enfermedad (que aunque se podría ver de forma casual, no es lo habitual en la diabetes tipo 1). Por el contrario, la diabetes tipo MODY (*Maturity Onset Diabetes of the Young*), que representa hasta el 5% de las diabetes tipo 2, se caracteriza también por la aparición de síntomas a edad temprana, un patrón de herencia autosómica dominante y ausencia de autoinmunidad.

Quizás en este caso lo primero a hacer sería un estudio de autoanticuerpos contra el páncreas (antiinsulina, anti-GAD, etc.) y si son negativos (a estas edades se detecta positividad en más del 90% de la diabetes tipo 1), apoyaría un origen de la diabetes no autoinmune. Además, un análisis genético detallado de la región HLA en la niña (HLA DR5/7) muestra la ausencia de alelos HLA de riesgo para la diabetes (DR3/4). Todo ello, unido a una herencia autosómica dominante nos orientaría a una diabetes tipo MODY.

Hasta la fecha se han identificado 6 tipos de diabetes tipo MODY (MODY1-MODY6) y cada uno corresponde a la alteración de un gen (la glucocinasa y varios factores de

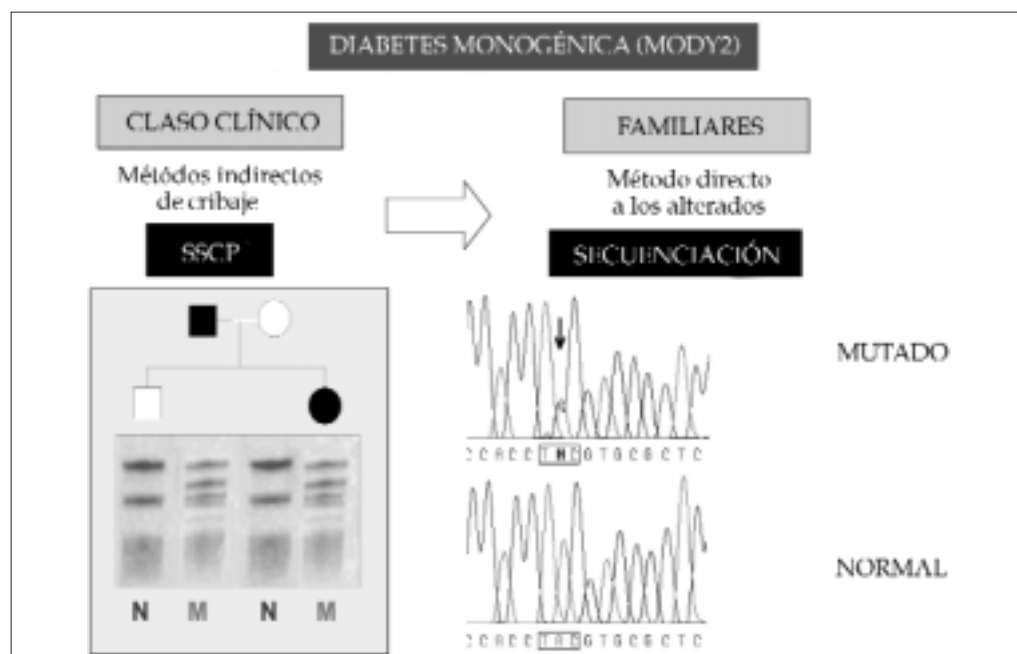


Figura 9. El estudio de genes de muchos exones se realiza primeramente mediante métodos de cribaje (en este caso SSCP). Podemos observar cómo el patrón de bandas de los individuos enfermos es diferente del de los sanos. La secuenciación nos permite identificar el cambio de base concreto.

transcripción); de ellos las variantes MODY2 y MODY3 suponen más del 75% de los casos clínicos. La variante de tipo MODY2 cursa con una hiperglucemia leve sin posteriores complicaciones clínicas y representa entre el 30-40% de los casos de diabetes tipo MODY. Esta forma se asocia a alteraciones en el gen de la glucocinasa (GCK), localizado en el brazo corto del cromosoma 7 y que está constituido por 12 exones. La diabetes MODY3 cursa también con hiperglucemia, pero se acompaña de complicaciones crónicas precoces, por lo que cuando se diagnostica es importante un control estricto para evitarlas. Desde un punto de vista genético la diabetes MODY3 se asocia a mutaciones en el gen HNF1 α , situado en el cromosoma 12 y que tiene 10 exones. Centrándonos en el aspecto metodológico, tanto el MODY2 como el MODY3 se asocian, generalmente, a mutaciones puntuales distribuidas por todo el gen, por lo que debido al gran número de exones y a la alta prevalencia de pacientes con sospecha de esta patología (más del 5% de la diabetes tipo 2, o sea cerca de 1/600 personas) estaría más indicado utilizar métodos indirectos de estudio para buscar aquellos pacientes con alteración en cualquiera de esos genes.

En el estudio genético de este caso, realizado a partir de ADN genómico extraído de sangre periférica anticoagulada con EDTA, se utilizó como método de análisis del gen de HNF1 α primero, y de la glucocinasa después, de la técnica

de SSCP (análisis de los polimorfismos de cadena sencilla o *Single Strand Conformation Polymorphism*, en inglés) lo que permitió detectar un patrón de bandas diferente (posible mutación) en el exón 3 del gen de la glucocinasa. La secuenciación directa, sólo de ese exón, confirmó la mutación (Figura 9) y permitió establecer el diagnóstico de diabetes MODY2.

En los estudios genéticos, la orientación adecuada al gen de estudio debe basarse en una buena historia clínica y en un análisis minucioso de las pruebas complementarias. En este caso clínico, la herencia autosómica dominante y la ausencia de autoinmunidad deben orientar a alteraciones en genes MODY. Además, la ausencia de complicaciones asociadas a la diabetes en el padre y en la abuela dirigirían la atención como primer gen candidato a la glucocinasa y no el HNF1 α . Además, en este caso, desde el punto de vista clínico, la asignación del tipo MODY a un cuadro de diabetes es interesante por la diferente actitud terapéutica que se puede plantear desde el punto de vista clínico. No podemos olvidar que en la diabetes tipo 1 existe una deficiencia insulínica grave, frente a la diabetes tipo 2 en la que el componente de resistencia es más importante. Por otra parte, el "apellido" de MODY2 (frente a un MODY3) en esta diabetes tipo 2 del joven es clave de nuevo para la actitud terapéutica, ya que son bien conocidas las graves complicacio-

nes que se presentan en el MODY3 (frente a las escasas en el MODY2), variando la agresividad de nuestra actitud terapéutica. Por otra parte, y ya en un plano metodológico, es interesante la utilización de diferentes enfoques técnicos de forma a agilizar y abaratar los estudios genéticos, aun cuando todavía estamos lejos de conseguirlo totalmente. Por último, la confirmación diagnóstica nos permite establecer un consejo genético adecuado que en este caso será del 50% de riesgo para la enfermedad en los descendientes.

En resumen, la genética puede ser un útil muy eficaz en el diagnóstico clínico y en el consejo genético, pero de la misma forma que los cuadros clínicos, como hemos visto en la diabetes, pueden ser muy heterogéneos, también esta heterogeneidad se observa en la genética y es fundamental una buena dirección del especialista clínico para localizar el trastorno molecular subyacente en una enfermedad. El conocimiento de estos conceptos generales, le permitirán una adecuada interpretación de los resultados y claramente redundará en una utilización de los medios disponibles de forma más equilibrada y eficaz, para conseguir los objetivos planteados en la asistencia sanitaria y encaminados a mejorar el avance científico.

BIBLIOGRAFÍA

1. Watson J, Gilman M, Witkowski J, Zoller M. Recombinant DNA. Ed. Freeman & Co, 2nd ed. New York, 1992.
2. León J, García JM. Manual de Genética Molecular, Ed. Síntesis, Madrid, 1ª Ed. 1990.
3. Castaño L, Bilbao JR. Introducción a la biología molecular y aplicación a la pediatría (1): conceptos básicos. *Anales Españoles de Pediatría* 1996; **45** (3): 315-20.
4. Castaño L, Bilbao JR, Urrutia I. Introducción a la biología molecular y aplicación a la pediatría (2): purificación de ácidos nucleicos. *Anales Españoles de Pediatría* 1996; **45** (5): 541-6.
5. Castaño L, Bilbao JR, Calvo B. Introducción a la biología molecular y aplicación a la pediatría (3): enzimas de restricción. Reacción en cadena de la polimerasa. Métodos de estudio de mutaciones. *Anales Españoles de Pediatría* 1997; **46** (1): 87-92.
6. Castaño L, Bilbao JR. Introducción a la biología molecular y aplicación a la pediatría (4): estudio de mutaciones en ADN amplificado por PCR. *Anales Españoles de Pediatría* 1997; **46** (3): 305-10.
7. Castaño L, Bilbao JR, Urrutia I. Introducción a la biología molecular y aplicación a la pediatría (5): Casos clínicos. Alteraciones genéticas en disgenesia gonadal XY y distrofia miotónica. *Anales Españoles de Pediatría* 1997; **46** (5): 513-8.
8. Castaño L, Bilbao JR, Calvo B. Introducción a la biología molecular y aplicación a la pediatría (6): Casos clínicos: Bases genéticas de la diabetes insípida central. Análisis de genes polimórficos: sistema HLA. *Anales Españoles de Pediatría* 1997; **47** (2): 201-6.
9. Castaño L, Bilbao JR. Introducción a la biología molecular y aplicación a la pediatría (7): Conceptos genéticos en enfermedades hereditarias. Bancos genéticos. *Anales Españoles de Pediatría* 1997; **47** (4): 437-42.
10. Castaño L, Bilbao JR, Pérez de Nanclares G. Introducción a la biología molecular y aplicación a la pediatría (8): Otros métodos para la detección de mutaciones. Caso clínico: hemocromatosis familiar. Animales transgénicos. *Anales Españoles de Pediatría* 1997; **47** (6): 653-8.
11. McInture, Walker M. Genetics of type 2 diabetes and insulin resistance: knowledge from human studies. *Clin Endocrin* 2002; **57**: 303.
12. Massa et al. High prevalence of glucokinase mutations in Italian children with MODY. Influence on glucose tolerance, first phase insulin response, insulin sensitivity and BMI. *Diabetología* 2001; **44**: 898-905.
13. Barrio R et al. Nine novel mutations in MODY candidate genes in 22 Spanish families. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; **87**: 2532-9.