Convención Internacional de Salud, Cuba Salud 2018

Clark Feoktistova, Yulia¹
Ruenes Domech, Caridad²
García Bacallao, Elsa³
Collazo Mesa, Teresa⁴
Feoktistova, Liudmila⁵

Roblejo Balbuena, Hilda⁶
Clark Feoktistova, Iliana⁷
Morales Peralta, Estela⁸
Espinosa López, Georgina⁹
Maragoto Rizo, Carlos¹⁰

1-Universidad de Guantánamo. Departamento Biología Molecular. Cuba. Correo: feoktistova@cug.co.cu

2-Instituto Nacional de Gastroenterología. Dirección. Cuba. Correo: rueness@infomed.sld.cu

3- Instituto Nacional de Gastroenterología. Departamento Docencia. Cuba. Correo:egarcias@infomed.sld.cu

4- Centro Nacional de Genética Médica. Departamento Biología Molecular. Cuba. Correo: tcollaso@infomed.sld.cu

5- Universidad de Guantánamo. Departamento Genética y Lenguas extranjeras. Cuba. Correo: liudmilafv@cug.co.cu

6-Centro Nacional de Genética Médica. Departamento Docencia. Cuba. Correo: hilda@infomed.sld.cu

7- Centro Universitario El Salvador. Departamento Estadística. Correo: iliana.clark@gtmo.inf.cu

8- Hospital Universitario 10 de Octubre. Cuba. Correo: fornari@infomed.sld.cu

9-Universidad de la Habana. Departamento Bioquímica. Cuba. Correo: georginas@fbio.uh.cu

10- Centro Internacional Restauración Neurológica. Departamento Trastorno del movimiento. Cuba Correo: maragot@infomed.sld.cu

Logros en la prevención y control de las enfermedades genéticas en Cuba.

Temática: Avances y retos en la promoción de salud, la prevención y el control de enfermedades.

Resumen

Introducción: El diagnóstico molecular de las enfermedades genéticas en la actualidad es una herramienta vital para el diagnóstico, prevención y control de las mismas. Las enfermedades genéticas constituyen un problema de salud en Cuba y a nivel mundial. Existen en Cuba estrategias para el diagnóstico molecular de diversas enfermedades genéticas. **Objetivo:** Visualizar las estrategias para el diagnóstico molecular de varias enfermedades genéticas. **Materiales y Métodos:** Se realizó un estudio retrospectivo y se analizaron diversas enfermedades como: Enfermedad de Wilson, Fibrosis Quística, Hemocromatosis tipo 1 y Neurofibromatosis tipo 1. Las mutaciones fueron detectadas por digestión enzimática, Amplificación Refractaria de Mutaciones Específicas y secuenciación. Es estudio indirecto fue mediante la utilización de microsatélites. **Resultados:** Se analizaron cuatro estrategias para el diagnóstico molecular de enfermedades genéticas. Se identificaron portadores, asintomáticos, heterocigóticos compuestos y homocigóticos en las familias analizadas. **Conclusiones:** La estrategias para el diagnóstico molecular son esenciales para el entendimiento de la causa molecular de las enfermedades genéticas y son útiles para el Asesoramiento Genético de las familias afectadas. Además pueden ser útiles y ser aplicadas en otras poblaciones.

Palabras claves: enfermedades genéticas, diagnóstico molecular, estrategias.

I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades genéticas constituyen un problema de salud en Cuba y a nivel mundial. Es fundamental el diagnóstico clínico y molecular en familias que las presentan. En Cuba, se diagnostican disímiles enfermedades de origen genético, entre las cuales se encuentran: Fibrosis Quística, enfermedad de Wilson, la Hemocromatosis tipo I, entre otras, estas presentan un patrón de herencia autosómico recesivo y la causa de las mismas son las mutaciones en los genes *cftr*, *atp7b* y *hfe* respectivamente. Otras enfermedades presentan un patrón de herencia autosómico dominante como: Neurofibromatosis tipo I y la causa son las mutaciones en el gen *NFI*.

El diagnóstico precoz de las enfermedades genéticas es vital, debido a la elevada morbimortalidad asociada a estas enfermedades. Los pacientes presentan gran variabilidad de los síntomas y es esencial un alto índice de sospecha clínica. La información de las pruebas de laboratorio es fundamental para el diagnóstico. En todos los casos es necesaria la correcta interpretación combinada de la información obtenida en las pruebas complementarias con la clínica. La identificación de las mutaciones en los genes responsables de la Fibrosis Quística, la enfermedad de Wilson, la Hemocromatosis tipo 1 y la Neurofibromatosis tipo I, es importante antes de instaurar un tratamiento médico para toda la vida¹.

Las estrategias para el diagnóstico molecular es complejo pues se han descrito más de 600 mutaciones en pacientes con la enfermedad de Wilson, más de 2 000 en pacientes fibroquísticos, más de 200 en pacientes con Hemocromatosis tipo 1 y Neurofibromatosis tipo I. Muchas mutaciones son raras, pues se identifican en diversos casos en el 1- 2 % de las poblaciones estudiadas². El estudio molecular posibilita la identificación de portadores e individuos asintomáticos en las familias, la realización del diagnóstico precoz y la detección del espectro de mutaciones en las diversas regiones del orbe³.

En los pacientes con diagnóstico clínico dudoso es imprescindible el diagnóstico molecular. El estudio molecular le permite al especialista predecir la gravedad en muchos casos de la enfermedad y así instaurar el tratamiento necesario. Con la integración del diagnóstico clínico y molecular es posible mejorar la calidad de vida de los pacientes con enfermedades genéticas.

II. MÉTODO

Se realizó un estudio retrospectivo en un total de 59 pacientes, de ellos, 15 con Fibrosis Quística, 20 con la enfermedad de Wilson, diez con Hemocromatosis tipo I y 14 individuos de familias donde hay al menos un paciente con Neurofibromatosis tipo I. El diagnóstico molecular se realizó en el Centro Nacional de Genética Médica, en los laboratorios de Biología Molecular. El diagnóstico clínico de los pacientes con la enfermedad de Wilson y Hemocromatosis tipo I se efectuó en el Instituto Nacional de Gastroenterología y en el Centro de Restauración Neurológica. Los pacientes con Fibrosis Quística fueron diagnosticados por la comisión Nacional de Fibrosis Quística. La evaluación se realizó por un equipo multidisciplinario. Las personas estudiadas dieron su consentimiento por escrito de participar en la investigación, mediante el documento elaborado para tal fin, de acuerdo con los principios éticos de la declaración de Helsinki y Edimburgo de Octubre del 2000 para las investigaciones médicas en seres humanos.

Se extrajo el ADN por el método de precipitación salina⁴. Las mutaciones analizadas se determinaron mediante digestión enzimática y secuenciación.

El análisis descriptivo fue mediante estadígrafos de tendencia central y de dispersión. Todos los análisis estadísticos fueron realizados con el programa SSPS, por sus siglas en inglés, *Statistical Package for the Social Science*, versión 15.0. Para el análisis de las variables continuas con una distribución normal se presentaron los resultados como media y desviación estándar y fueron comparadas entre los grupos por ANOVA. Se utilizó el modelo de Scheffé's. Las pruebas fueron realizadas con un grado de significación de 5 %.

III. RESULTADOS

Se detectaron las siguientes mutaciones: p.N41S, p.L708P, p.H1069Q (en pacientes con la Enfermedad de Wilson); F508del, G542X y R334W (en pacientes con Fibrosis Quística); H63D y C282Y (en pacientes con Hemocromatosis tipo I). Los marcadores microsatélites IVS27AC28.4, IVS27AC33.1, IVS38GT53.0 y el RFLP RsaI. Las mutaciones se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Presencia de mutaciones y marcadores moleculares en pacientes cubanos.

Enfermedad	Proteína	Mutación o marcadores	Diagnóstico*	Referencias
Enfermedad de Wilson	ATP7B	p.N41S	Postnatal Marcadores	5
		p.H1069Q		5
		p.L708P		6
		p.K832R		7,8
		p.T991T		8,9
Fibrosis Quística	CFTR	F508del	Prenatal Postnatal Marcadores	10
		G542X		10,11
		R334W		10,11
		IVS17bTA		12
		XV2C		11
		KM19		11
Hemocromatosis tipo I	HFE	H63D	Postnatal	13
		C282Y		
Neurofibromatosis tipo I	Neurofibromina	IVS27AC28.4 IVS27AC33.1 IVS38GT53.0 RFLP RsaI	Postnatal	14

*Estos diagnósticos se realizan en el laboratorio de Biología Molecular del Centro Nacional de Genética Médica, Cuba.

Existen enfermedades genéticas donde se combinan para el diagnóstico los estudios por métodos indirectos y directos, como es el caso de la Fibrosis Quística. En otras, se utiliza el método directo, por ejemplo, en la Hemocromatosis tipo I e indirectos en la Neurofibromatosis tipo I.

Por más de 20 y diez años se estudia la Fibrosis Quística¹¹ y la enfermedad de Wilson¹⁵ respectivamente en Cuba y los resultados son muy alentadores e impactan en salud. Han servido de experiencia para el establecimiento de estrategias para el diagnóstico de otras enfermedades genéticas, por ejemplo: Gaucher, Galactosemia, Acondroplasia, sorderas hereditarias, entre otras.

En Cuba se establecen estrategias moleculares para el diagnóstico, pronóstico y prevención de las enfermedades de origen genético. En esta investigación se muestran en cuatro enfermedades los métodos que se utilizan para el diagnóstico molecular. Por ejemplo, con la estrategia que se utiliza se logra caracterizar el 55.5 % de los cromosomas fibroquísticos¹¹, resultado comparable con países desarrollados.

En las enfermedades genéticas estudiadas existe gran heterogeneidad de mutaciones, por lo que los investigadores deben realizar los estudios familiares que son vitales en el Asesoramiento Genético y en las estrategias de prevención.

IV. CONCLUSIONES

El diagnóstico molecular en las cuatro enfermedades estudiadas posibilitó el diagnóstico certero en pacientes que presentaban un diagnóstico dudoso, por lo que se tomaron medidas de prevención y atención periódica de los mismos.

RECONOCIMIENTOS

El colectivo de autores agradece a los pacientes y sus familiares. A Lídice Reyes por la extracción de ADN. Al Ministerio de Salud Pública.

REFERENCIAS

1. Ferenci P. Phenotype–genotype correlations in patients with Wilson’s disease. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2014; 1-5.
2. Kenney SM and Cox DW. Sequence variation database for the Wilson disease copper transporter, ATP7B. *Hum Mutat* 2007; 28 (12): 1171-7.
3. Wu F, Wan J, Pu Ch, Qiao L and Jiang Ch. Wilson’s disease: A comprehensive review of the molecular mechanisms. *Int. J. Mol. Sci.* 2015; 16: 6419-6431.
4. Miller SA. Salting out procedure for extracting DNA. *Nucleic Acids Reserch.* 1988; 16 (3): 1215.
5. Clark Yulia, Collazo Teresa, Ruenes Caridad, García Elsa F, Robaina Zoe, Fragoso Trini. Análisis molecular del exón 2 del gen ATP7B en pacientes cubanos con la enfermedad de Wilson. *Revista Habanera Ciencias Médicas.* 2011; 10 (3): 281-286.
6. Clark Yulia, Collazo Teresa, Ruenes Caridad, García Elsa, Robaina Zoe, Fragoso Trini, et al. Detección de cambios conformacionales y mutaciones en el exón 8 del gen ATP7B en pacientes cubanos con la enfermedad de Wilson. *Revista Biotecnología Aplicada.* 2011; 28: 87-90.
7. Clark Yulia, Ruenes Caridad, García Elsa F., Collazo Teresa, Robaina Zoe, Castañeda Carlos, et al. Identificación del polimorfismo K832R en pacientes con diagnóstico clínico de la enfermedad de Wilson. *Revista Habanera de Ciencias Médicas.* 2013; 12 (2): 197-202.
8. Clark Yulia, Ruenes Caridad, García Elsa F., Roblejo Hilda, Robaina Zoe, Morales Estela. p. K832R and p. T991T polymorphisms’ analysis in Cuban patients with clinical diagnosis of Wilson's disease. *Revista Habanera de Ciencias Médicas* 2017; 16 (2):167-175.

9. Clark Yulia, Ruenes Caridad, García Elsa F, Collazo Teresa, Roblejo Hilda, Morales Estela, et al. Study of T991T polymorphism in Cuban patients with clinical diagnosis of Wilson's disease. *Biotecnología Aplicada* 2016; 33: 3221-3224.
10. Collazo Teresa, Piloto Yaixa, Clark Yulia, Bofill Ana, Gómez Manuel, Hernández Yadira. Detection of mutations in Cuba Cystic Fibrosis patients. *Biotecnología Aplicada* 2008; 25: 345-349.
11. Collazo Teresa, López Ixchel, Clark Yulia, Piloto Yaixa, González Laura, Gómez Manuel, et al. Antenatal testing for Cystic Fibrosis in Cuba 1988-2011. *Medic Review*. 2014; 16 (3-4): 18-21.
12. González Laura, Collazo Teresa, Clark Yulia, Gómez Manuel, Reyes Lídice. Caracterización del marcador microsatélite IVS17bTA y seis mutaciones del gen CFTR en 21 familias cubanas con fibrosis quística. *Biotecnología Aplicada*. 2013; 30 (4): 262-6.
13. Cervera Ismael, García Marileivis, Collazo Teresa. Introducción del diagnóstico molecular de la hemocromatosis tipo 1 en Cuba. *Revista Finlay* 2013; 3 (2): 96-102.
14. Fang L, Li W, Chalhoub N, Feingold J, Ortenberg J, Thirion J-P. Linkage disequilibrium and founder effect analysis of the NF1 gene in French Canadians from the Quebec population. *Anales de Génétique* 2002; 45: 39-44.
15. Clark Y. Enfermedad de Wilson. Actualidad del tema. *Rev Méd Electrón*. 2016; 38 (1): 57-65.