

06 DE OCTUBRE DE 2008

## Nuevo análisis de sangre para el síndrome de Down

Investigadores del Instituto Médico Howard Hughes han desarrollado un nuevo análisis de sangre prenatal que detectó con precisión el síndrome de Down y otros dos defectos cromosómicos serios en un estudio pequeño de 18 mujeres embarazadas. Si el análisis se confirma en ensayos más grandes, dicen que ofrecería una alternativa más segura y más rápida que análisis prenatales invasivos como la amniocentesis, que acarrea un pequeño riesgo de aborto.

Los investigadores han sabido por mucho tiempo que la sangre de una mujer embarazada contiene pequeñas cantidades de ADN fetal. El investigador del Instituto Médico Howard Hughes, Stephen R. Quake, y colegas en la Universidad de Stanford idearon una manera ingeniosa de estudiar el ADN fetal presente en la sangre de la madre para determinar si las células de los fetos contienen cromosomas adicionales asociados a varios tipos severos de defectos de nacimiento.

---

"Necesitamos un estudio clínico más grande para entender un poco más sobre la mejor manera de ponerlo en práctica, pero pienso que pronto será utilizado como un análisis de diagnóstico."

— **Stephen R. Quake**

---

El análisis desarrollado por el equipo de Quake fue más exacto que las técnicas usadas en trabajos anteriores para diagnosticar la aneuploidía analizando el ADN fetal. La aneuploidía tiene lugar cuando hay un exceso o una falta de cromosomas en las células. El síndrome de Down, por ejemplo, es causado por una trisomía —tres copias en lugar de dos— del cromosoma 21.

Creemos que ésta es la primera demostración de un análisis universal y no invasivo para el síndrome de Down y otras aneuploidías, dijo Quake, autor senior del artículo de investigación, que fue publicado en Internet en la edición adelantada de *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)* el 6 de octubre de 2008. Necesitamos un estudio clínico más grande

para entender un poco más sobre la mejor manera de ponerlo en práctica, pero pienso que pronto será utilizado como un análisis de diagnóstico.

La amniocentesis y el muestreo de villus coriónico (CVS, por sus siglas en inglés), que actualmente se consideran los análisis prenatales de preferencia, requieren de la toma de muestra de células del líquido amniótico. Esas células se obtienen insertando una aguja en el útero de la madre. El procedimiento acarrea un riesgo de inducción de aborto de un uno por ciento. Por ese motivo, el uso rutinario de estas pruebas de diagnóstico invasivas se ha limitado en gran parte a mujeres de 35 años de edad o mayores, donde el riesgo de aneuploidía fetal relacionada con la edad tiene mayor peso que el riesgo de aborto. Consecuentemente, más infantes con defectos cromosómicos están naciendo de mujeres más jóvenes. Los investigadores han estado trabajando por años para idear análisis no invasivos que serían seguros para ese grupo de mujeres.

Además, lleva entre dos o tres semanas luego de la amniocentesis o procedimientos de CVS el cultivar las células y estudiar los cromosomas. Quake dijo que esa cantidad de tiempo puede parecer una eternidad para los padres que ansiosamente esperan los resultados del análisis.

Con el nuevo análisis, los científicos sólo necesitan tomar una pequeña cantidad de sangre de la mujer. La sangre se analiza y los resultados están disponibles dentro de un par de días, dijo Quake, que es bioingeniero en Stanford.

El interés de Quake en desarrollar una nueva tecnología para diagnosticar las aneuploidías se desarrolló cuando leyó un artículo de investigación publicado en la revista *Science* en 2005. Ese artículo discutía nuevos métodos prenatales no invasivos que se basaban en medidas del ADN de las células fetales presentes en la sangre de la madre. El informe decía que el bajo número de células fetales -solamente cerca de una en un millón de células maternas- hacía difícil el aislar suficientes células fetales para analizar las anomalías cromosómicas.

En ese momento, algunos investigadores intentaban aislar ADN libre de células fetal de la sangre de la madre. El ADN libre de células consiste en fragmentos de ADN de doble cadena que está en los restos de las células fetales moribundas. El aislar este ADN fue una buena idea, dijo Quake, pero la recuperación de la pequeña cantidad de ADN libre de células fetal seguía siendo un desafío.

Después de leer el artículo de *Science*, Quake pensó: Gran parte de mi trabajo consiste en contar moléculas; éste es un problema que sé como resolver. Tuvo una inspiración: a diferencia de otros investigadores que desarrollaban varias formas de amplificar la señal del ADN fetal para distinguirla de la del ADN materno, Quake propuso un audaz atajo -saltar completamente ese paso-. Después de todo, observó, el objetivo del estudio era identificar los cromosomas adicionales en la muestra de sangre de la mujer. Si el ADN que era estudiado provenía del feto o de la madre no importaba. El objetivo, por lo tanto, era simplemente medir la cantidad de ADN en los fragmentos

mapeados de los distintos cromosomas.

Convenientemente, el ADN libre de células que flota en la circulación sanguínea de la madre normalmente se encuentra en pequeños pedazos, de un promedio de 169 nucleótidos de longitud. Quake propuso una estrategia de shotgun sequencing mediante la cual utilizaría la última tecnología de secuenciación de alto rendimiento y computadoras igualmente poderosas para identificar millones de secuencias únicas que sirven como etiquetas del ADN fetal. Cada una de estas etiquetas era un fragmento de 25 pares de bases de ADN. Luego de que las etiquetas fueron identificadas, el grupo de Quake pudo ubicarlas en localizaciones específicas en los 23 pares de cromosomas. Usando esta estrategia, los investigadores pensaron que podrían detectar cantidades de ADN mayores que lo normal pertenecientes a los tres cromosomas implicados en la aneuploidías más comunes -cromosomas 21, 18 y 13-.

En los experimentos publicados en PNAS, Quake y sus colegas, entre los que se encuentran la primera autora H. Christina Fan, estudiante de grado en bioingeniería en Stanford, utilizaron su nueva técnica para analizar el ADN en muestras de sangre de 18 mujeres embarazadas que habían tenido análisis prenatales invasivos (y un hombre, para referencia).

Cuando se realizó un gráfico con las cantidades de ADN correspondientes a cada cromosoma, se observaron picos significativos mayores que lo normal cuando un cromosoma estaba presente en tres copias en vez de dos. Estas señales les permitieron a los científicos identificar correctamente a las 12 mujeres que llevaban los fetos aneuploides y a las seises cuyos embarazos eran normales. Sus resultados fueron semejantes a los de la amniocentesis o de la prueba de CVS que se les realizaron a las mujeres.

Quake dijo que el sistema de *shotgun-sequencing* no sólo es más seguro que las técnicas invasivas sino que también puede hacer una determinación a una edad gestacional menor, alrededor de 12 semanas.

Mientras antes sepa la pareja el estado del embarazo, Quake observa, estarán mejor preparados para cualquier decisión que decidan tomar en base a la información recibida.

El grupo de Quake ahora está planeando un estudio siguiente para evaluar el análisis en un grupo de pacientes más grande. Estima que el costo del análisis durante la próxima fase será de cerca de 300 dólares, en los que la secuenciación del ADN corresponde a la mayoría del costo total.