

17 DE FEBRERO DE 2000

Una nueva técnica incrementa enormemente la sensibilidad de los exámenes genéticos

Un nuevo método de laboratorio mejora la precisión de los análisis genéticos que actualmente se utilizan para el diagnóstico del cáncer de colon, al detectar los genes deficientes que de otra manera estarían "enmascarados", cuando una copia del gen en estudio es normal. La técnica también puede ser usada para mejorar la precisión de los análisis utilizados para el diagnóstico de un amplio rango de enfermedades hereditarias, incluyendo otras formas de cáncer y desórdenes neurológicos.

Los humanos llevan dos copias de cada gen, una de ellas es heredada de la madre y la otra del padre. Una de las flaquezas de los análisis genéticos es que un gen normal puede enmascarar la presencia del gen deficiente o ausente. En situaciones donde ocurre este enmascaramiento, los análisis de diagnóstico no detectan el defecto genético o resultan ser mucho menos sensitivos para el defecto.

"Para ciertos cánceres de colon hereditarios, virtualmente, todas las mutaciones en un gen serán detectables por esta metodología."

— Bert Vogelstein

"Hemos solucionado el problema de que un alelo normal pueda enmascarar a un alelo mutante, simplemente separando los alelos y analizándolos en forma independiente", explicó Bert Vogelstein, un investigador del Instituto Médico Howard Hughes (HHMI), en el Centro de Oncología, de la Universidad Johns Hopkins. En términos técnicos, la técnica involucra la transformación de un estado celular con un par de cromosomas o "diploidía", a un estado con un solo cromosoma o "haploidía", dijo Vogelstein.

La mejora del análisis genético fue publicada en el número del 17 de febrero de la revista *Nature*, por los investigadores conducidos por Vogelstein y sus colegas en Hopkins, Hai Yan, un asociado del HHMI, y Kenneth Kinzler.

La técnica de transformación involucra fusionar células humanas, que posiblemente tengan un gen deficiente, con una línea celular de ratón

especialmente desarrollada por los investigadores. Las células de ratón son deficientes en la maquinaria que rechaza continuamente a los cromosomas extraños y, de esta forma, pueden volverse capaces de albergar a los genes humanos que funcionan normalmente.

En la mezcla de células humanas y de ratón que se han fusionado, se encuentran algunas células que han pasado a tener sólo la única copia defectuosa del gen humano. Los científicos pueden aislar estas células y usarlas como base para análisis genéticos mucho más sensibles, que si usaran células que contienen las copias normales y deficientes de los genes.

En la publicación de *Nature*, los científicos demostraron el poder de la técnica de transformación, mostrando que eran capaces de verificar la presencia de genes mutantes en 22 pacientes con cáncer colorrectal hereditario no poliposo. En cambio, el análisis genético convencional detectó la presencia del gen mutante en sólo 10 de los 22 pacientes.

Vogelstein y sus colegas predicen que la técnica de transformación será de una amplia aplicación para mejorar los análisis de muchas otras enfermedades genéticas.

"La sensibilidad de los análisis para aquellas otras enfermedades dependerá de la naturaleza de las mutaciones", dice. "Pero, ciertamente, para muchas de ellas, la sensibilidad se debiera ver aumentada sustancialmente, de la misma manera. Y para ciertos cánceres de colon hereditarios, virtualmente, todas las mutaciones en un gen serán detectables por esta metodología".

"La técnica es lo suficientemente simple como para no aumentar mucho los costos de los análisis para ciertas enfermedades, si es implementada en laboratorios clínicos", dijo Vogelstein. Y en efecto, la transformación, en algunos casos, reducirá considerablemente los costos al hacer disponible más análisis nuevos y eficientes.

"Una vez que no se tiene la complicación de la diploidía y del otro alelo, la proporción entre la señal y el ruido es incrementada enormemente", dijo Vogelstein. "Así, uno puede imaginarse, ahora, utilizando todo un rango de técnicas analíticas posibles, que son complicadas por la diploidía". Por ejemplo, dijo, los genes provenientes de tales células haploides podrían ser detectados eficientemente utilizando "microarreglos", que son chips que contienen muchos miles de pares de bases que pueden ser analizados simultáneamente. Vogelstein enfatizó que la técnica de transformación debe ser pulida antes que pueda ser incorporada a los análisis genéticos de rutina.

El investigador Sanford Markowitz del HHMI, en la Universidad de Case Western Reserve, quien también es uno de los autores de la publicación en *Nature*, concuerda, agregando que "todavía hay mucho trabajo que realizar para hacerla fácil de realizar en la práctica clínica. Sin embargo, la estrategia de la transformación es un auténtico paso adelante para mejorar de la sensibilidad de estos análisis. Esta técnica incrementará claramente el número de individuos para los cuales seremos capaces de realizar un diagnóstico". Markowitz y sus colegas están colaborando con el laboratorio de Vogelstein

para mejorar la habilidad para distinguir las células específicas que resultan de la técnica de transformación.

La técnica de transformación también permitirá avances de investigación básica sobre la comprensión de los mecanismos de los cánceres y de otras enfermedades, dijo Vogelstein.

"Por ejemplo, existen muchas familias con ciertos cánceres de colon hereditarios en las cuales no se han encontrado mutaciones. Y la pregunta a resolver es si ellas tienen una mutación tal que las técnicas convencionales no han sido capaces de detectar, o si tienen una mutación en un gen desconocido. El descubrimiento de estos genes no sólo sería importante para el diagnóstico genético, sino que también podría ayudar a aclarar los mecanismos que subyacen a la enfermedad", dijo Vogelstein.