



Genética Molecular y Citogenética Humana

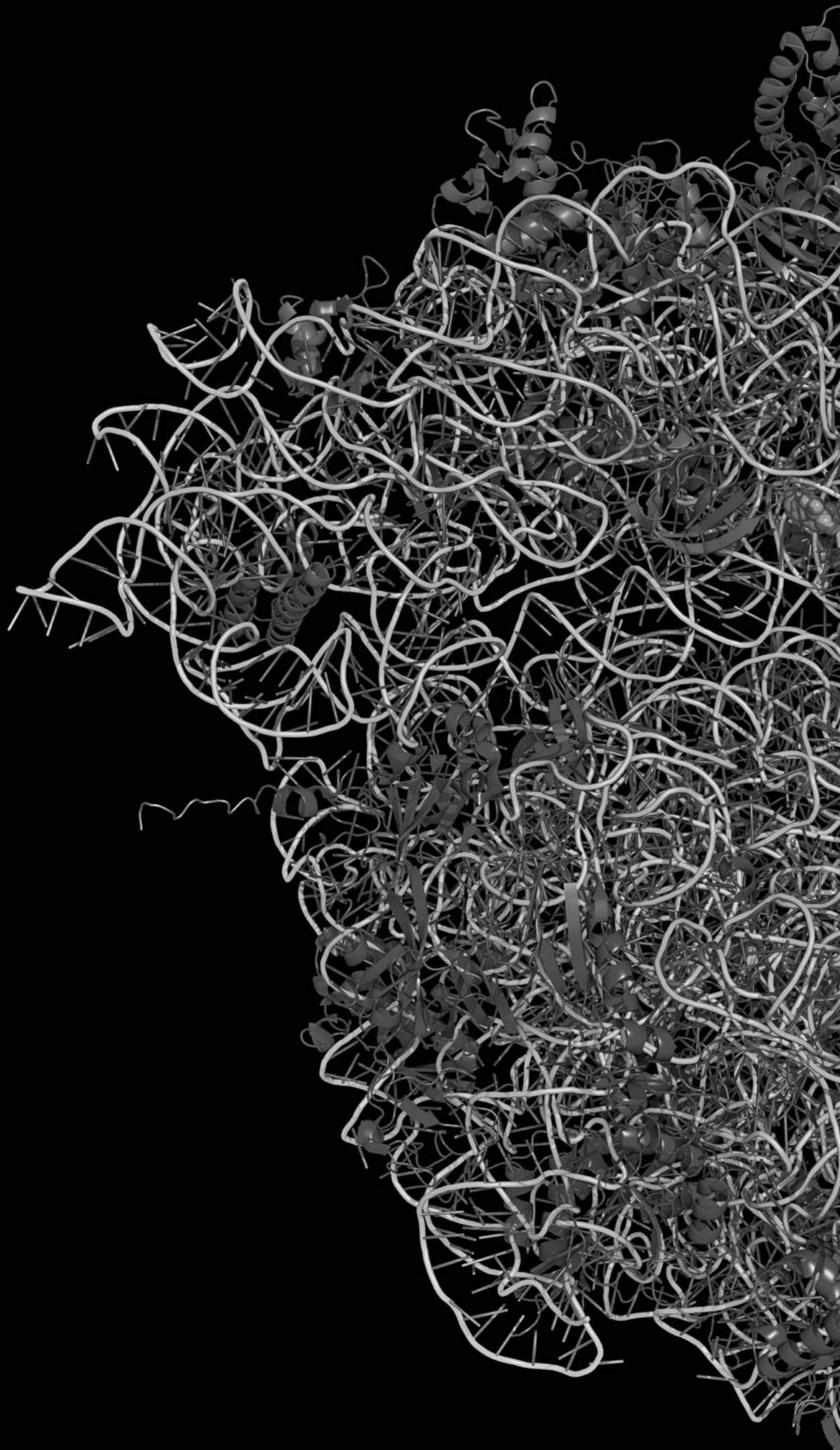
Fundamentos, aplicaciones e investigaciones en el Ecuador

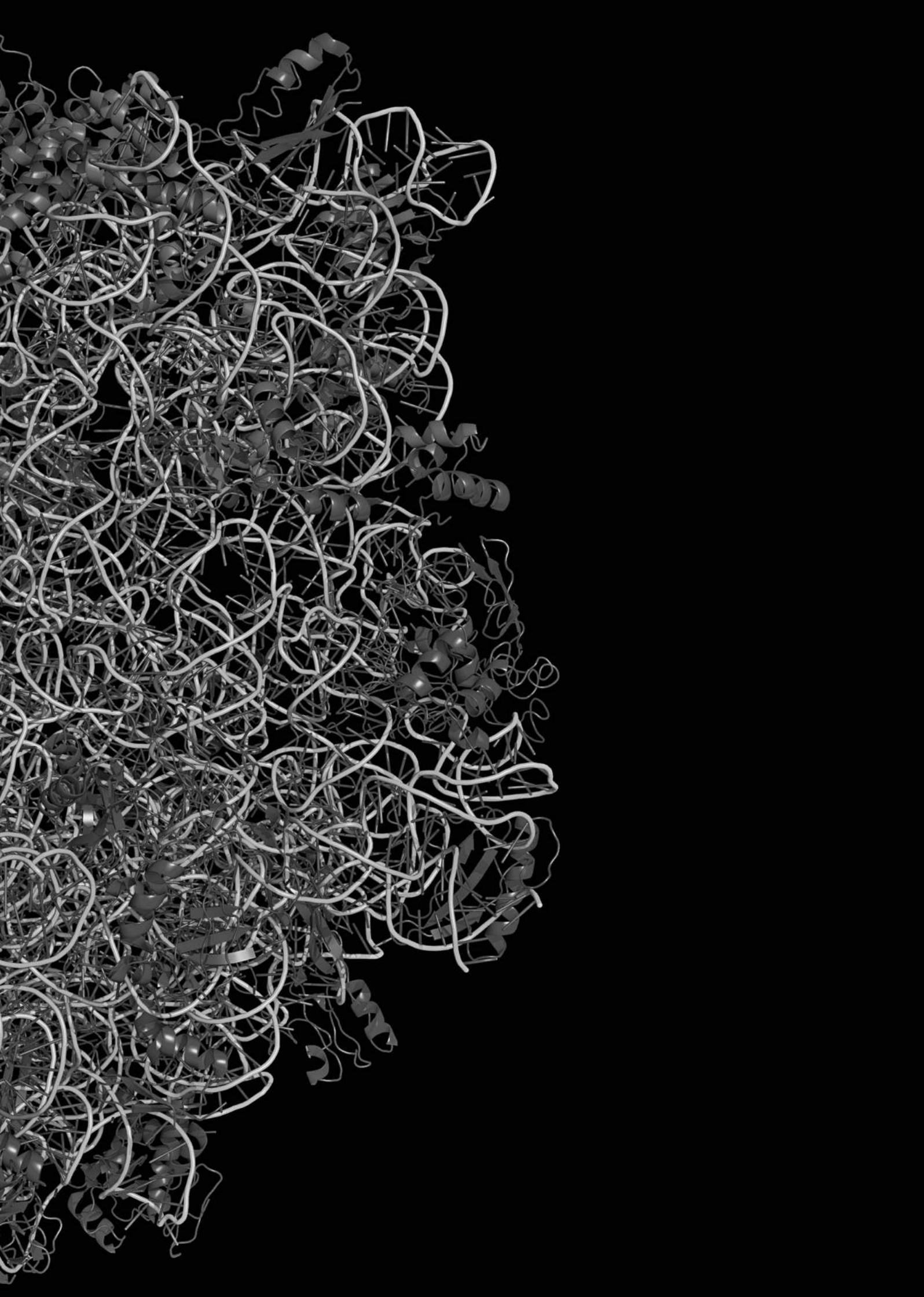
CÉSAR PAZ -Y- MIÑO

ANDRÉS LÓPEZ - CORTÉS

booksmedicos.org







**GENÉTICA MOLECULAR Y CITOGENÉTICA HUMANA:
FUNDAMENTOS, APLICACIONES E INVESTIGACIONES EN EL ECUADOR**

a Ariane [CPyM]

a Pato, Paty, Richard, Nathy y Caro [ALC]

GENÉTICA MOLECULAR Y CITOGENÉTICA HUMANA

FUNDAMENTOS, APLICACIONES E INVESTIGACIONES EN EL ECUADOR



CÉSAR PAZ-Y-MIÑO

Instituto de Investigaciones Biomédicas
Escuela de Medicina
Facultad de Ciencias de la Salud
Universidad de las Américas

ANDRÉS LÓPEZ-CORTÉS

Instituto de Investigaciones Biomédicas
Escuela de Medicina
Facultad de Ciencias de la Salud
Universidad de las Américas



Instituto de
Investigaciones
Biomédicas



© GENÉTICA MOLECULAR Y CITOGÉNÉTICA HUMANA: FUNDAMENTOS, APLICACIONES E INVESTIGACIONES EN EL ECUADOR.

FORMA RECOMENDADA PARA CITAR:

Paz-y-Miño C & López-Cortés A (2014) Genética Molecular y Citogenética Humana: Fundamentos, aplicaciones e investigaciones en el Ecuador. (Universidad de las Américas. Universidad Yachay). Quito, Ecuador. 400 pp.

ESTA PUBLICACIÓN PUEDE SER OBTENIDA EN:

Instituto de Investigaciones Biomédicas (IIB). Universidad de las Américas (UDLA).
Dirección: Av. Eloy Alfaro y José Queri. Bloque 5. Quito, Ecuador.
Teléfono: (593-2) 3970073. Página web: iib.udla.edu.ec

Empresa Pública Yachay. Ciudad del Conocimiento Yachay.

Dirección: Av. Amazonas N26-146 y La Niña. Quito, Ecuador.
Teléfono: (593-2) 3949100. Página web: www.yachay.gob.ec

AUTORES:

César Paz-y-Miño [CPyM]



cpazymino@udla.edu.ec



@CesarPazyMino

Andrés López-Cortés [ALC]



alopez@udla.edu.ec



@Andres_Lopez_C

DISEÑO GRÁFICO:

Andrés López-Cortés

DISEÑO DE PORTADA:

Figuras acerca de glóbulos rojos, neurotransmisores, cromosomas y ribosoma. Archivos IIB.

DISEÑO DE CONTRAPORTADA:

Figura acerca de la doble hélice del ADN y ribosoma. Archivos IIB.

REVISIÓN CIENTÍFICA:

José Luis García-Pérez, PhD.

Department of Human DNA Variability. Pfizer - Universidad de Granada - Junta de Andalucía - Centre for Genomics and Oncological Research. España.

Juan Luis García Hernández, PhD.

Instituto de Estudios de Ciencias de la Salud de Castilla y León. Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca. Centro de Investigaciones del Cáncer. Universidad de Salamanca. España.

DERECHOS DE AUTOR No. 042851

EDITORIAL: YACHAY EP

ISBN- 978-9942-07-597-0

AÑO DE PUBLICACIÓN: 2014

Contenido breve

CAPÍTULO I	
Historia de la Genética en el Ecuador	3
CAPÍTULO II	
Impacto social de los trastornos genéticos	15
CAPÍTULO III	
Conceptos básicos de la Genética Molecular	31
CAPÍTULO IV	
Población de riesgo genético	39
CAPÍTULO V	
Nociones sobre Genética de Poblaciones	49
CAPÍTULO VI	
Patrones de la herencia	57
CAPÍTULO VII	
Origen genético de las discapacidades en el Ecuador	83
CAPÍTULO VIII	
Biología Molecular y caracterización de poblaciones humanas	103
CAPÍTULO IX	
Investigaciones moleculares en el Ecuador: Enfermedades neurodegenerativas	145
CAPÍTULO X	
Investigaciones moleculares en el Ecuador: Enfermedades congénitas	163
CAPÍTULO XI	
Investigaciones moleculares en el Ecuador: Inmunología	185
CAPÍTULO XII	
Investigaciones moleculares en el Ecuador: Genotoxicología	205
CAPÍTULO XIII	
Citogenética	237
CAPÍTULO XIV	
La genética de la diferenciación sexual	261
CAPÍTULO XV	
Aspectos genéticos del crecimiento y desarrollo	269
CAPÍTULO XVI	
Aspectos bioéticos en la investigación	297
CAPÍTULO XVII	
Biodiversidad y bioseguridad en la genética	307

Índice de contenido

EQUIPO DE INVESTIGACIÓN IIB	XVI
AGRADECIMIENTOS	XVII
ÍNDICE DE TABLAS	XIX
ÍNDICE DE FIGURAS	XXII
PRÓLOGO	XXIV
RESUMEN	XXVI
SUMMARY	XXVII
ABREVIATURAS	XXVIII

CAPÍTULO I. HISTORIA DE LA GENÉTICA EN EL ECUADOR

1. ETAPAS DEL DESARROLLO HISTÓRICO DE LA GENÉTICA HUMANA	4
1.1. PERÍODO ANTIGUO O PRECITOGÉNICO	4
1.2. PERÍODO DE LA GENÉTICA Y CITOGÉNICA CLÁSICA	5
1.3. PERÍODO MODERNO, GENÉTICA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA	8
2. VISIÓN EPISTEMOLÓGICA	9

CAPÍTULO II. IMPACTO SOCIAL DE LOS TRASTORNOS GENÉTICOS

1. MALFORMACIONES CONGÉNITAS	19
1.1. FACTORES MATERNOS	19
1.1.1. Infecciones	19
1.1.2. Enfermedades crónicas	19
1.2. FACTORES EXTERNOS	21
1.2.1. Agentes físicos	21
1.2.2. Agentes químicos y medicamentos	21
1.2.3. Hábitos	22
1.3. ALTERACIONES INDIVIDUALES	22
1.3.1. Malformación	22
1.3.2. Deformación	22
1.3.3. Disrupción	22
1.3.4. Variación	22
1.3.5. Defecto	23
1.3.6. Monstruosidad	23
1.4. ENTIDADES POLIMALFORMATIVAS	23
1.4.1. Secuencias	23
1.4.2. Defectos de zona de desarrollo	23
1.4.3. Asociaciones de alta frecuencia	24
1.4.4. Espectros	24
1.4.5. Síndromes	24
1.5. POLIMALFORMADOS NO ENCUADRABLES	25
2. DIAGNÓSTICO GENÉTICO DE MALFORMACIONES	25

CAPÍTULO III. CONCEPTOS BÁSICOS DE LA GENÉTICA MOLECULAR

1. ENROLLAMIENTO DEL ADN	32
2. TIPOS DE ADN PRESENTES EN EL GENOMA HUMANO	33
2.1. ADN DE SECUENCIAS ÚNICAS	34
2.2. ADN DE SECUENCIAS REPETIDAS	34

2.2.1. ADN de secuencias moderadamente repetidas	34
2.2.2. ADN de secuencias altamente repetidas	35
3. HÉLICE G-CUÁDRUPLE DEL ADN	35

CAPÍTULO IV. POBLACIÓN DE RIESGO GENÉTICO

1. MUTACIONES	39
1.1. MUTACIÓN SOMÁTICA	39
1.2. MUTACIÓN GERMINAL	39
2. NIVELES DE PRESENCIA DE MUTACIONES	39
2.1. MUTACIÓN GENÓMICA	39
2.2. MUTACIÓN CROMOSÓMICA	40
2.3. MUTACIÓN GENÉTICA	40
2.3.1. Mutación sin sentido	40
2.3.2. Mutación por pérdida del sentido	40
2.3.3. Mutación por corrimiento de la lectura	40
2.3.4. Mutación silenciosa	40
3. TERATÓGENOS	41
3.1. TERATÓGENOS FÍSICOS	42
3.1.1. Radiaciones ionizantes	42
3.1.2. Radiaciones no ionizantes	43
3.1.3. Otros teratógenos físicos	43
3.2. TERATÓGENOS INFECCIOSOS, FÁRMACOS Y DROGAS	44

CAPÍTULO V. NOCIONES SOBRE GENÉTICA DE POBLACIONES

1. LEY DE HARDY-WEINBERG	49
1.1. PROCESOS QUE ALTERAN EL EQUILIBRIO DE HARDY-WEINBERG	51
1.1.1. Selección	51
1.1.2. Mutaciones	51
1.1.3. Migración o flujo de genes	53
1.1.4. Deriva génica	53
1.1.5. Consanguinidad	54

CAPÍTULO VI. PATRONES DE LA HERENCIA

1. HERENCIA MENDELIANA	62
1.1. HERENCIA AUTOSÓMICA DOMINANTE	62
1.2. HERENCIA AUTOSÓMICA RECESIVA	63
1.3. HERENCIA RECESIVA LIGADA AL SEXO	63
1.4. HERENCIA DOMINANTE LIGADA AL SEXO	64
1.5. HERENCIA LIGADA AL CROMOSOMA Y	64
1.6. HERENCIA INTERMEDIA Y CODOMINANCIA	65
2. HERENCIA NO MENDELIANA	65
2.1. HERENCIA MITOCONDRIAL	65
2.1.1. Origen del ADN mitocondrial	65
2.1.2. ADN mitocondrial y enfermedades genéticas	66
2.1.3. Variación del ADN mitocondrial	68
3. HERENCIA POR IMPRONTA GENÓMICA	71
4. SÍNDROMES DE GENES CONTIGUOS	72
5. MOSAICISMO	72

6. HERENCIA POLIGÉNICA O MULTIFACTORIAL	73
6.1. FISURAS FACIALES	75
6.1.1. Fisura palatina	77
6.1.2. Fisura labio-palatina	77
6.1.3. Fisura labial	77
6.1.4. Asociaciones malformativas	78
6.1.5. Análisis estadístico comparativo	78

CAPÍTULO VII. ORIGEN GENÉTICO DE LAS DISCAPACIDADES EN EL ECUADOR

1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN, EXCLUSIÓN Y ESTRATEGIA DE TRABAJO	84
2. EPIDEMIOLOGÍA DE LAS DISCAPACIDADES EN EL ECUADOR	85
3. FACTORES GENÉTICOS ASOCIADOS A LAS DISCAPACIDADES	88
3.1. AGENTES AMBIENTALES COMO CAUSAS PRENATALES	89
3.2. CAUSAS PERINATALES Y POSTNATALES EN LA DISCAPACIDAD INTELECTUAL	90
4. SÍNDROME DE DOWN EN EL ECUADOR	95
5. ETNIAS Y DISCAPACIDADES	97

CAPÍTULO VIII. BIOLOGÍA MOLECULAR Y CARACTERIZACIÓN DE LAS POBLACIONES HUMANAS

1. POLIMORFISMOS DEL ADN	107
1.1. POLIMORFISMOS EN LA LONGITUD DE LOS FRAGMENTOS DE RESTRICCIÓN	107
1.2. REPETICIONES EN TÁNDEM DE NÚMERO VARIABLE	107
1.3. MICROSATÉLITES O SECUENCIAS CORTAS REPETIDAS EN TÁNDEM	107
1.3.1. Microsatélites y grupo étnico	110
1.4. POLIMORFISMOS DE NUCLEÓTIDO SIMPLE	112
2. ESTRUCTURA Y FUNCIONES DE LOS GENES	113
2.1. REPLICACIÓN SEMICONSERVATIVA Y BIDIRECCIONAL	114
2.2. TRANSCRIPCIÓN DE LA INFORMACIÓN HEREDITARIA	114
2.3. TRADUCCIÓN DE LA INFORMACIÓN GENÉTICA	117
3. REGULACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LOS GENES	118
4. TÉCNICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	120
4.1. REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA	121
4.2. PCR CUANTITATIVA EN TIEMPO REAL	122
4.2.1. Tipos de químicas	123
4.2.2. Genes endógenos o de referencia	126
4.2.3. Métodos de cuantificación de la expresión génica	127
4.3. SECUENCIACIÓN DE LOS GENES	128
4.3.1. Cartografía genética de ligamiento	128
4.3.2. Cartografía física e integración de los mapas	128
5. PROYECTOS DEL GENOMA HUMANO Y VARIOMA HUMANO	135
6. ENCICLOPEDIA DE LOS ELEMENTOS DEL ADN	136
7. PROCESOS DE INHIBICIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA	137
7.1. ARN DE INTERFERENCIA	137
7.1.1. ARN interferente pequeño	138

7.1.2. Micro ARN	139
7.1.3. Piwi ARN	140
7.2. IMPORTANCIA DEL DESCUBRIMIENTO DE LOS ARNi	140
7.3. PROTECCIÓN DEL ARNi CONTRA INFECCIONES VIRALES	140
7.4. SILENCIAMIENTO DE ELEMENTOS MÓVILES	140
7.5. SÍNTESIS PROTEICA Y REGULACIÓN DEL DESARROLLO EN ORGANISMOS	140
7.6. ARNi MANTIENE LA CROMATINA CONDENSADA Y SUPRIME LA TRANSCRIPCIÓN	141
7.7. ARNi COMO HERRAMIENTA PARA LA TERAPIA GÉNICA	141

CAPÍTULO IX. INVESTIGACIONES MOLECULARES EN EL ECUADOR: ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS

1. ENFERMEDAD DE ALZHEIMER	145
1.1. GEN Apo E	146
1.2. GEN GPX-1	147
1.3. GEN CTSD	148
1.4. GEN CST3	148
1.5. GEN MnSOD	149
1.6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	150
2. ENFERMEDAD DE HUNTINGTON	154
2.1. GEN HTT	156
2.2. TRATAMIENTO	158

CAPÍTULO X. INVESTIGACIONES MOLECULARES EN EL ECUADOR: ENFERMEDADES CONGÉNITAS

1. ENFERMEDAD DE HIRSCHSPRUNG	163
1.1. GEN RET	164
1.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	165
2. FIBROSIS QUÍSTICA DEL PÁNCREAS	168
2.1. GEN CFTR	168
2.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	169
3. DISTROFIA MUSCULAR DE DUCHENNE Y BECKER	171
3.1. GEN DMD	172
3.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	173
4. HEMOCROMATOSIS	174
4.1. GEN HFE	175
4.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	176
5. HIPOACUSIA NO SINDRÓMICA RECESIVA	176
5.1. GENES GJB2 Y GJB6	177

CAPÍTULO XI. INVESTIGACIONES MOLECULARES EN EL ECUADOR: INMUNOLOGÍA

1. RECEPTORES BACTERIANOS	185
1.1. GENES TLR	186
1.2. GEN CD209	187
1.3. GEN IFNGR1	188
1.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	189
2. VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA	194

2.1. GENES CCR5, CCR2 Y CXCL12	195
2.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	197
3. SISTEMA DE ANTÍGENOS LEUCOSITARIOS HUMANOS	198
3.1. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	200

CAPÍTULO XII. INVESTIGACIONES MOLECULARES EN EL ECUADOR: GENOTOXICOLOGÍA

1. ASPERSIONES AÉREAS CON GLIFOSATO	205
1.1. GEN XRCC1	208
1.2. GEN GSTP1	209
1.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	210
2. OTROS PESTICIDAS	213
2.1. ENZIMAS CYP	214
2.2. GEN CYP1A1	215
2.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	216
3. HIDROCARBUROS	217
3.1. EL PETRÓLEO Y SUS COMPONENTES	218
3.1.1. Compuestos orgánicos volátiles	218
3.1.2. Hidrocarburos aromáticos policíclicos	219
3.1.3. Metales pesados	219
3.1.4. Gases	221
3.2. INVESTIGACIONES SOBRE HIDROCARBUROS EN EL ECUADOR	222
4. RADIACIÓN	224
4.1. RADIACIÓN IONIZANTE MEDIANTE RAYOS X	224
4.2. RADIACIÓN SOLAR	228
4.2.1. Efecto genotóxico de la exposición solar	231
4.2.2. Cultivo estándar	231
4.2.3. Cultivo con afidicolina	231
4.2.4. Causa - efecto	232

CAPÍTULO XIII. CITOGENÉTICA

1. NIVELES DE COMPACTACIÓN DEL ADN	238
1.1. NUCLEOSOMA	238
1.2. FIBRA DE CROMATINA	238
1.3. LAZOS DE ADN	238
2. CROMOSOMAS, MORFOLOGÍA Y NOMENCLATURA	241
3. ANORMALIDADES CROMOSÓMICAS NUMÉRICAS	243
4. MOSAICO Y QUIMERA	244
5. ANORMALIDADES CROMOSÓMICAS ESTRUCTURALES	244
5.1. ESTABLES	244
5.1.1. Duplicación	245
5.1.2. Deleción	245
5.1.3. Inserción	245
5.1.4. Translocación	245
5.1.5. Inversión	248
5.1.6. Isocromosomas	248
5.2. INESTABLES	248
5.2.1. Anillo	248

5.2.2. Dicéntricos	248
6. CASOS CLÍNICOS	252
6.1. CASO 1: ANILLO EN EL CROMOSOMA 4	252
6.1.1. Análisis del cromosoma 4 mediante la técnica FISH	254
6.2. CASO 2: TRISOMÍA PARCIAL EN EL CROMOSOMA 8	254

CAPÍTULO XIV. LA GENÉTICA DE LA DIFERENCIACIÓN SEXUAL

1. DIFERENCIACIÓN SEXUAL	261
1.1. DIFERENCIACIÓN SEXUAL NORMAL	261
1.2. DIFERENCIACIÓN SEXUAL ALTERADA	263
2. CLASIFICACIÓN DE LOS ESTADOS INTERSEXUALES	263
2.1. ALTERACIÓN DE LOS CONDUCTOS SEXUALES	263
2.1.1. Pseudohermafroditismo femenino	263
2.1.2. Pseudohermafroditismo masculino	263
2.2. ALTERACIÓN DEL SEXO GONADAL	264
2.2.1. Disgenesia gonadal de origen cromosómico	264
2.2.2. Disgenesia gonadal de origen genético	264

CAPÍTULO XV. ASPECTOS GENÉTICOS DEL CRECIMIENTO Y DESARROLLO

1. FACTORES GENÉTICOS	269
1.1. FACTORES GENÉTICOS EN EL CRECIMIENTO Y DESARROLLO INTRAUTERINO	269
1.2. FACTORES GENÉTICOS EN EL CRECIMIENTO Y DESARROLLO POSTNATAL	269
2. FACTORES QUE AUMENTAN LAS MUTACIONES	272
2.1. EDAD AVANZADA DE LOS PROGENITORES	272
2.2. EDAD MATERNA Y SU RELACIÓN CON EL SÍNDROME DE DOWN	273
2.2.1. Teoría de la disgenesia ovular	274
2.2.2. Teoría de la sobremaduración ovular	274
2.2.3. Teoría extrínseca	274
2.2.4. Teoría de la selección relajada	274
2.2.5. Teoría de la variación de las regiones organizadoras nucleolares	274
2.2.6. Teoría de la duplicación de la región 21q22	274
2.2.7. Factores genéticos del síndrome de Down	275
2.3. MADRES PORTADORAS DE ENFERMEDADES LIGADAS AL SEXO	276
2.4. AUTOINMUNIDAD	276
2.5. POLIMORFISMOS CROMOSÓMICOS	277
2.6. HISTORIA FAMILIAR DE ENFERMEDADES METABÓLICAS	278
2.7. HISTORIA FAMILIAR DE MALFORMACIONES	278
2.8. INFERTILIDAD PREVIA – ABORTOS REPETIDOS	279
2.8.1. Infertilidad y esterilidad de origen genético	279
2.8.2. Infertilidad de origen cromosómico	279
2.9. POLIHIDRAMIOS Y OLIGOAMNIOS	281
2.10. ALTERACIONES FETALES	281
2.10.1. Crecimiento fetal retardado	281
2.10.2. Presentación fetal normal	281
2.10.3. Anomalías del ritmo cardiaco fetal	281
2.11. ENFERMEDAD MATERNA CRÓNICA	282
2.12. GENES MUTANTES	282
3. DIAGNÓSTICO PRENATAL	282
3.1. PROCEDIMIENTOS IMPLICADOS EN EL DIAGNÓSTICO	282
3.1.1. Hematológico y análisis urinario	282

3.1.2. Marcadores bioquímicos maternos	283
3.1.3. Estudio cromosómico	283
3.1.4. Anmiocentesis o biopsia corial	285
3.1.5. Ultrasonografía	285
3.1.6. Fetoscopia	286
4. ALTERNATIVAS FRENTE AL RIESGO GENÉTICO	286
4.1. ESTERILIZACIÓN O CONTRACEPCIÓN	287
4.2. INTERRUPCIÓN TERAPÉUTICA DEL EMBARAZO	287
4.3. ASISTENCIA NEONATAL ADECUADA	287
4.4. TERAPIA INTRAUTERINA	288
4.5. CONSEJO O ASESORAMIENTO GENÉTICO	288
5. TÉCNICAS UTILIZADAS PARA EL DIAGNÓSTICO PRENATAL	290
6. NUEVA ERA DE DIAGNÓSTICO PRENATAL EN EL ECUADOR	293

CAPÍTULO XVI. ASPECTOS BIOÉTICOS EN LA INVESTIGACIÓN

1. REGULACIÓN DE LAS INVESTIGACIONES A NIVEL MUNDIAL	297
1.1. NORMAS DE TIPO FÍSICO	298
1.1.1. Nivel P1	298
1.1.2. Nivel P2	298
1.1.3. Nivel P3	299
1.1.4. Nivel P4	299
1.2. NORMAS DE TIPO BIOLÓGICO	299
1.2.1. Sistema EK1	299
1.2.2. Sistema EK2	299
1.2.3. Sistema EK3	299
2. AVANCES EN LA TECNOLOGÍA DEL ADN RECOMBINANTE	300
3. ACCIONES DE LA GENÉTICA EN LA SALUD PÚBLICA	301

CAPÍTULO XVII. BIODIVERSIDAD Y BIOSEGURIDAD EN LA GENÉTICA

1. BIOPROTECCIÓN Y BIODIVERSIDAD	307
2. ASPECTOS TEÓRICOS DE LA BIODIVERSIDAD Y BIOPROTECCIÓN	308
3. FUNDAMENTOS GENÉTICOS DE LA BIODIVERSIDAD HUMANA	310
4. MITOS Y VERDADES DE LA MANIPULACIÓN GENÉTICA	312
5. PROYECTOS PARA CONOCER LA TOTALIDAD DEL GENOMA HUMANO	312
6. EL NUEVO NEGOCIO DEL CAPITALISMO	313
7. BIOPIRATEO Y PATENTES	314
8. BIOBOICOT	315
9. CONCIENCIA BIOPROTECTORA	315
10. NORMAS DE BIOSEGURIDAD	316
10.1. RIESGOS QUE ENTRAÑAN LOS REACTIVOS	316
10.2. RIESGOS QUE ENTRAÑAN LAS MUESTRAS	316
10.3. RIESGOS PARA EL PERSONAL	317

REFERENCIAS EN INTERNET	318
NUESTRAS PUBLICACIONES CIENTÍFICAS	319
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	323
GLOSARIO	354
ÍNDICE ANALÍTICO	365

Equipo de investigación IIB

Paola E. Leone

Doctorado en Genética en la Universidad Autónoma de Madrid.
Licenciatura en Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
Especialista en Citogenética, Genética Molecular y Microarrays.
Docente e investigadora de la Universidad de las Américas.

María Eugenia Sánchez

Maestría en Docencia Universitaria e Investigación Educativa.
Licenciatura en Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
Especialista en Genotoxicología, Citogenética Convencional y Molecular.
Docente e investigadora de la Universidad de las Américas.

María José Muñoz

Maestría en Genética Avanzada.
Licenciatura en Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
Experiencia en el manejo de líneas celulares.
Docente e investigadora de la Universidad de las Américas.

Alejandro Cabrera

Licenciatura en Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
Experiencia en Genotoxicología y Genética Molecular.
Especialista en el diagnóstico de rearrreglos moleculares en pacientes con leucemias.
Docente e investigador de la Universidad de las Américas.

Gabriela Jaramillo Koupermann

Maestría en Farmacogenética e Investigación Clínica.
Bioquímica Farmacéutica.
Especialista en Biología Molecular y Secuenciación Genética.
Docente e investigadora de la Universidad de las Américas.

Santiago Araujo

Licenciatura en Ciencias Biológicas de la Universidad Central del Ecuador.
Diplomado en Genética Toxicológica en la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá.
Especialista en Evaluación de genotóxicos y sistema inmunológico.
Docente e investigador de la Universidad de las Américas.

Agradecimientos

UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS

Carlos Larreátegui
Simón Cueva
Gonzalo Mendieta
Alfredo Borrero
Raúl Jervis

EMPRESA PÚBLICA YACHAY

Héctor Rodríguez
Fernando Cornejo
Juan Carlos Moreno

RED LAUREATE

Manuel Krauskopf
Francisco Gutiérrez

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS

Doyle Beaty
Germán Burgos
Bernardo Castro
Carolina Echeverría
Belén Montesdeoca
David Narváez
Fabián Oña
Victor Pavón

Camilo Pérez
Fabián Porras
Ana Proaño
Paulo Robles
Maira Rojas
Stella Verdezoto
Tania Zurita

OTROS

Andrés Acosta
Laura Arcos Terán
Melissa Arévalo
Cármén Ayuso
María Augusta Baldeón
Javier Benítez
Rubén Bucheli
Ramiro Burgos
Gabriela Bustamante
Oriol Cabré
Alex Camacho
Claudio Cañizares
David Carpenter
Katy Carrera
Catherine Carrera
Francisco Cevallos
Oswaldo Chávez (t)
Juan Carlos Collantes
Augusta Córdoba
Amadeus Creus

Enrique Hermida
José María Hernández
Catalina Herrera
Diana Jácome
Paola Jervis
Karina Lastra
Ramiro López
Adolfo Maldonado
Ricardo Marcos
Santiago Morillo
Marco Neira
Ligia Ocampo
Reinaldo Páez
Lourdes Pazmiño
Victor Penchaszadeh
Juan Peñafiel
María Serena Peñaherrera
José Cristian Pérez
Mónica Pérez
Ángel Pestaña

Nadia Cumbal
 Verónica Dávalos
 Mercedes del Pozo
 Myriam Díaz
 Juan Esguirra
 Víctor Hugo Espín
 Eduardo Estrella (t)
 Fernanda Fiallo
 Dolores Franco
 Juan Luis García Hernández
 José Luis García-Pérez
 Aníbal Gaviria
 Patricia Giménez
 Fabricio González
 María José Guevara
 Sara Gutiérrez

Indira Proaño
 Carla Rodríguez
 Dayana Rosales
 Felipe Rosales
 Juan Carlos Ruíz
 Andrés Sánchez-Cascos (t)
 Fabricio Santos
 Isabel Sarmiento
 Andrés Tapia
 Diego Torres
 Carolina Valladares
 María Elena Vega
 Pedro Paulo Vieira
 Nicolás Vivar
 Tania Witte

INSTITUCIONES

Academia Ecuatoriana de Medicina
 Beth Israel Medical Center
 Ciudad del Conocimiento Yachay
 Consejo Nacional de Discapacidades
 Consejo Nacional de Educación Superior
 Consejo Superior de Investigaciones Científicas
 Empresa Pública Yachay
 Fundación Jiménez Díaz
 Fundación para la Ciencia y Tecnología
 Hospital Baca Ortiz
 Hospital Carlos Andrade Marín
 Hospital Oncológico Solón Espinoza Ayala
 Hospital Universitario de Salamanca
 Instituto Mexicano de la Seguridad Social
 Ministerio de Salud Pública
 Misión Solidaria Manuela Espejo
 Museo de Medicina Eduardo Estrella
 National Geographic - Genographic Project
 Pacific Basin Consortium
 Pontificia Universidad Católica del Ecuador
 Red Hispano Latinoamericana de Genotoxicología
 Red Latinoamericana de Genética Humana
 Secretaría Nacional de Ciencia y Tecnología
 Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación
 Sociedad Ecuatoriana de Biología
 Sociedad Ecuatoriana de Genética Humana
 Sociedad Ecuatoriana de Oncología
 Universidad Autónoma de Barcelona
 Universidad Autónoma de México
 Universidad Central del Ecuador
 Universidad de Córdoba (España)
 Universidad de Extremadura
 Universidad de Oviedo
 Universidad de Salamanca

Índice de tablas

Tabla II.1.	Causas de mortalidad referente a enfermedades
Tabla II.2.	Estudios sobre frecuencias de malformaciones en Quito
Tabla II.3.	Distribución de malformaciones por sistemas en nacidos vivos en Quito
Tabla II.4.	Centros que conforman el ECLAMC en Ecuador
Tabla II.5.	Frecuencias de malformaciones del ECLAMC en el Ecuador
Tabla II.6.	Alteraciones genéticas, cromosómicas y multifactoriales
Tabla II.7.	Alteración monogénica, poligénica, multifactorial y cromosómica
Tabla IV.1.	Efecto de algunos agentes biológicos sobre el feto en el embarazo
Tabla IV.2.	Relación entre la cantidad de alcohol consumida diariamente y la posibilidad de manifestación de embriopatía alcohólica
Tabla IV.3.	Efectos de fármacos y químicos administrados durante el embarazo
Tabla V.1.	Frecuencias alélicas y genotípicas
Tabla V.2.	Frecuencias de algunos marcadores genéticos en población ecuatoriana expuesta a malaria
Tabla V.3.	Entrecruzamiento y proporción de genes compartidos
Tabla VI.1.	Anamnesis por aparatos
Tabla VI.2.	Caracteres físicos y frecuencias alélicas
Tabla VI.3.	Cebadores para la amplificación del gen citocromo b
Tabla VI.4.	Frecuencias y variantes de citocromo b en grupos étnicos del Ecuador
Tabla VI.5.	Individuos con fisura palatina y sus familiares afectos
Tabla VI.6.	Individuos con fisura labio-palatina y sus familiares afectos
Tabla VI.7.	Individuos con fisura labial y sus familiares afectos
Tabla VI.8.	Recurrencia de fisura palatina, labial y labio-palatina
Tabla VII.1.	Número y tasa de prevalencia de discapacidad según provincias
Tabla VII.2.	Prevalencia de personas según tipo de discapacidad y provincia
Tabla VII.3.	Prevalencia y etapa de desarrollo de las discapacidades
Tabla VII.4.	Clasificación de las causas genéticas en personas con discapacidad
Tabla VII.5.	Número y tasa del grupo prenatal inespecífico
Tabla VII.6.	Grupo perinatal y causas asociadas al parto
Tabla VII.7.	Grupo postnatal y causas asociadas al parto
Tabla VII.8.	Otras patologías genéticas presentes en personas con discapacidad
Tabla VII.9.	Tasa de personas con síndrome de Down en el Ecuador
Tabla VII.10.	Personas con síndrome de Down y edad materna en el embarazo
Tabla VII.11.	Comunidades indígenas y causas de discapacidad intelectual
Tabla VII.12.	Personas con discapacidad, diagnosticadas con parálisis cerebral
Tabla VIII.1.	Frecuencias génicas de dos sistemas de antígenos en ecuatorianos
Tabla VIII.2.	Enfermedades y sus asociaciones a marcadores genéticos
Tabla VIII.3.	Loci utilizados en pruebas de paternidad y forense
Tabla VIII.4a.	Frecuencia de STRs en la población mestiza ecuatoriana
Tabla VIII.4b.	Frecuencia de STRs en la población mestiza ecuatoriana
Tabla VIII.5.	Complejidad y variaciones del concepto de gen-enzima
Tabla VIII.6.	Genes endógenos aplicados en la expresión génica
Tabla VIII.7.	Tecnologías de secuenciación de próxima generación
Tabla VIII.8.	Información procesada por el proyecto ENCODE
Tabla IX.1.	Características del gen Apo E
Tabla IX.2.	Características del gen GPX-1
Tabla IX.3.	Características del gen CTSD
Tabla IX.4.	Características del gen CST3
Tabla IX.5.	Características del gen MnSOD
Tabla IX.6.	Frecuencias genotípicas y alélicas de los genes Apo E y GPX-1

Tabla IX.7.	Frecuencias genotípicas y alélicas de los genes MnSOD, CST3 y CTSD
Tabla IX.8.	Rangos de repeticiones CAG en el gen HTT
Tabla IX.9.	Características del gen HTT
Tabla IX.10.	Medicamentos probados para la enfermedad de Huntington
Tabla X.1.	Características del gen RET
Tabla X.2.	Frecuencias genotípicas y alélicas del gen RET
Tabla X.3.	Características del gen CFTR
Tabla X.4.	Genotipos FQ Δ F508 encontrados en población ecuatoriana
Tabla X.5.	Características del gen DMD
Tabla X.6.	Cebadores para la PCR múltiple del gen DMD
Tabla X.7.	Características del gen HFE
Tabla X.8.	Frecuencias alélicas del gen HFE en casos y controles
Tabla X.9.	Características del gen GJB2
Tabla X.10.	Características del gen GJB6
Tabla X.11.	Porcentaje de alelos encontrados en las ocho mutaciones genéticas
Tabla X.12.	Número de afectos, sanos y familiares con cada genotipo
Tabla XI.1.	Características del gen TLR2
Tabla XI.2.	Características del gen TLR4
Tabla XI.3.	Características del gen CD209
Tabla XI.4.	Características del gen IFNGR1
Tabla XI.5.	Frecuencias alélicas y genotípicas de TLR2, TLR4, CD209 e IFNGR1
Tabla XI.6.	Edad media en individuos infectados y sanos según su histopatología
Tabla XI.7.	Análisis de la prueba estadística chi-cuadrado
Tabla XI.8.	Análisis de odds ratio y polimorfismos genéticos
Tabla XI.9.	Análisis de odds ratio y patologías gástricas
Tabla XI.10.	Características del gen CCR5
Tabla XI.11.	Características del gen CCR2
Tabla XI.12.	Características del gen CXCL12
Tabla XI.13.	Frecuencias de CCR5 Δ 32, CCR2-64I y SDF1-3'A
Tabla XI.14.	Frecuencias alélicas de HLA
Tabla XII.1.	Migración del ADN en individuos expuestos al glifosato
Tabla XII.2.	Características del gen XRCC1
Tabla XII.3.	Características del gen GSTP1
Tabla XII.4.	Frecuencias genotípicas y alélicas de GPX1, XRCC1 y GSTP1
Tabla XII.5.	Cariotipos y porcentaje de fragilidad cromosómica
Tabla XII.6.	Otros pesticidas utilizados en florícolas
Tabla XII.7.	Características del gen CYP1A1
Tabla XII.8.	Frecuencias genotípicas del gen CYP1A1
Tabla XII.9.	Niveles de migración del ADN mediante ensayo cometa
Tabla XII.10.	Longitud de migración del ADN mediante ensayo cometa
Tabla XII.11.	Aberraciones cromosómicas registradas en los cultivos celulares
Tabla XIII.1.	Translocaciones robertsonianas y gametos
Tabla XIII.2.	Incidencia de las anomalías cromosómicas en la población general
Tabla XIII.3.	Mecanismos que producen anomalías cromosómicas
Tabla XIII.4.	Frecuencia de cromosopatías en Quito, año 1989
Tabla XIII.5.	Autosomopatías cromosómicas
Tabla XIII.6.	Análisis de arrays
Tabla XIII.7.	Gonosomopatías cromosómicas
Tabla XIII.8.	Translocaciones y variantes
Tabla XIV.1.	Características del gen SRY
Tabla XIV.2.	Alteraciones de la diferenciación sexual
Tabla XV.1.	Correlaciones para el crecimiento y desarrollo de caracteres físicos y fisiológicos

Tabla XV.2.	Incidencia y riesgo de recurrencia de algunas anomalías fetales de causa genética
Tabla XV.3.	Frecuencia del síndrome de Down en relación a la edad materna
Tabla XV.4.	Cifras estadísticas en riesgos genéticos
Tabla XV.5.	Hallazgos citogenéticos en el síndrome de Down
Tabla XV.6.	Variantes cromosómicas en la población de Quito (RNCAVCH)
Tabla XV.7.	Hallazgos cromosómicos en individuos con infertilidad y esterilidad
Tabla XV.8.	Hallazgos cromosómicos en parejas con abortos repetidos
Tabla XV.9.	Malformaciones y cromosopatías en el crecimiento intrauterino
Tabla XV.10.	Indicaciones del estudio cromosómico
Tabla XV.11.	Comparación entre biopsia corial y líquido amniótico
Tabla XV.12.	Indicaciones del diagnóstico prenatal citogenético
Tabla XV.13.	Frecuencia de cardiopatías congénitas según parentesco
Tabla XV.14.	Indicaciones del asesoramiento genético
Tabla XV.15.	Riesgo de recurrencia en el síndrome de Down
Tabla XV.16.	Probabilidad del diagnóstico prenatal según la causa del problema
Tabla XV.17.	Diagnóstico prenatal en líquido amniótico y vellosidades coriales
Tabla XV.18.	Alternativas frente al riesgo genético

Índice de figuras

Figura III.1.	Estructura del ADN
Figura III.2.	Estructura G-cuádruple del ADN
Figura VI.1.	Símbolos de genealogías
Figura VI.2.	ADN mitocondrial
Figura VI.3.	Variantes de Citocromo b identificados por SSCP
Figura VI.4.	Distribución de las variantes de Citocromo b en Ecuador
Figura VI.5.	Relación entre genes y ambiente
Figura VIII.1.	Formación del ARN mensajero. Exón (E) - Intrón (I)
Figura VIII.2.	Proceso de transcripción, traducción y síntesis proteica
Figura VIII.3.	El código genético
Figura VIII.4.	Representación de la amplificación de ADN mediante PCR
Figura VIII.5.	Curva de amplificación y línea umbral de la qPCR
Figura VIII.6.	SYBR Green
Figura VIII.7.	Sondas TaqMan
Figura VIII.8.	Sondas Beacon
Figura VIII.9.	Sondas Scorpion
Figura VIII.10.	Curva estándar
Figura VIII.11.	Nucleótidos fluoromarcados y su interpretación digital
Figura VIII.12.	Esquema de pirosecuenciación
Figura VIII.13.	Esquema de secuenciación por terminadores reversibles
Figura VIII.14.	Esquema de secuenciación por ligación
Figura VIII.15.	Esquema de secuenciación por semiconducción iónica
Figura VIII.16.	Proceso de funcionamiento del ARNsi
Figura VIII.17.	Proceso de funcionamiento del miARN
Figura IX.1.	Cromosoma 19 humano
Figura IX.2.	Cromosoma 3 humano
Figura IX.3.	Cromosoma 11 humano
Figura IX.4.	Cromosoma 20 humano
Figura IX.5.	Cromosoma 6 humano
Figura IX.6.	Diagnóstico genético mediante PCR y secuenciación del gen HTT
Figura IX.7.	Cromosoma 4 humano
Figura IX.8.	Cadena de poliglutamato en la proteína huntingtina
Figura IX.9.	Efecto del estrés oxidativo en la enfermedad de Huntington
Figura X.1.	Cromosoma 10 humano
Figura X.2.	Microambiente intestinal y variantes genéticas
Figura X.3.	Análisis de secuencias del gen RET
Figura X.4.	Digestión con enzimas de restricción del gen RET
Figura X.5.	Cromosoma 7 humano
Figura X.6.	Amplificación del exón 10 del gen CFTR mediante PCR
Figura X.7.	Cromosoma X humano
Figura X.8.	Detección de deleciones del gen DMD
Figura X.9.	Cromosoma 6 humano
Figura X.10.	Cromosoma 13 humano
Figura X.11.	Mutaciones de la conexina membranal
Figura XI.1.	Cromosoma 4 humano
Figura XI.2.	Cromosoma 4 humano
Figura XI.3.	Cromosoma 19 humano
Figura XI.4.	Cromosoma 6 humano
Figura XI.5.	Cromosoma 3 humano
Figura XI.6.	Cromosoma 3 humano

Figura XI.7.	Cromosoma 10 humano
Figura XI.8.	Cromosoma 6 humano
Figura XII.1.	Ensayo cometa
Figura XII.2.	Cromosoma 19 humano
Figura XII.3.	Cromosoma 11 humano
Figura XII.4.	Cromosoma 15 humano
Figura XII.5.	Alteraciones cromosómicas estructurales
Figura XIII.1.	Niveles de organización del material hereditario
Figura XIII.2.	Clasificación de los cromosomas por la posición del centrómero
Figura XIII.3.	Cariotipo humano (mujer)
Figura XIII.4.	Análisis citogenético convencional (caso 1)
Figura XIII.5.	Análisis con FISH
Figura XIII.6.	Análisis citogenético convencional (caso 2)
Figura XIII.7.	Genes asociados con fenotipo
Figura XIV.1.	Cromosoma Y humano
Figura XIV.2.	Análisis molecular del gen SRY

Prólogo

La Genética, una disciplina ligada de modo esencial a la vida, a su origen y evolución, es una ciencia joven que ha irrumpido en todos los órdenes de la medicina y de la ciencia del siglo XXI.

Su impacto, a veces mediático y otras insensible, se debe a dos causas fundamentales: al abaratamiento de la biotecnología de gran precisión y al gran avance del conocimiento originado por la publicación de la secuenciación del genoma humano (borrador en 2001, secuencia completa en 2003), y por los proyectos internacionales que le siguieron, HapMap, Encode, Proteoma Humano, Genoma del Cáncer, Genomas de múltiples organismos, entre otros.

La información científica derivada de la labor colectiva desarrollada por esos programas ha arrojado luz sobre numerosos campos de interés: la evolución, las migraciones de las poblaciones humanas y de otros seres vivos, y en el campo de la biomedicina no solo han ayudado a comprender la base biológica de procesos tales como el desarrollo o el envejecimiento sino también las causas y procesos patológicos de numerosas enfermedades hereditarias o comunes.

La medicina del siglo XXI es predictiva, en cierto modo personalizada y desde luego genómica.

La Genética ha permitido el descubrimiento de medicamentos dirigidos contra mutaciones, variantes genéticas en los individuos que les hacen sensibles o resistentes a los fármacos o que les predisponen a padecer o les protegen contra ciertas enfermedades.

Un amplio grupo de la sociedad, hasta un 6 a 8% padece o padecerá una enfermedad genética, o rara (minoritaria), que estará completamente determinada genéticamente. Estas enfermedades además producen una gran mortalidad y morbilidad y un alto grado de discapacidad, además de impactar no solo socialmente sino médicamente, afectando con frecuencia a varios miembros de la familia. Los programas de cribado pre y postnatal y el estudio de las personas y familias con enfermedades genéticas son el primer paso para la prevención, diagnóstico y eventual tratamiento de estos problemas

Por otra parte el conocimiento de la base genética de una población tan variada demográficamente como es la ecuatoriana es del mayor interés por sus connotaciones históricas y sociales. Pero además, el estudio mutacional que permite la caracterización precisa de las enfermedades en esta población resulta imprescindible para implementar programas comunitarios de prevención o establecer pautas diagnósticas ajustadas a la realidad clínica genética en Ecuador.

Así, el presente texto que se inicia con un repaso de la historia de la Genética (Capítulo I) desarrolla numerosos aspectos teórico-prácticos de la Genética Médica y también revela características importantes genéticas en el Ecuador, derivadas de los registros de malformaciones y de estudios genético-epidemiológicos, y otros que todo médico que practique la medicina en este país debiera conocer.

Entre ellos cabe destacar el Capítulo VII acerca de las causas genéticas de las discapacidades en el Ecuador, con diferencias importantes en la prevalencia

de discapacidad intelectual, psicomotora, auditiva o visual entre las distintas regiones ecuatorianas, así como la frecuencia de las causas ambientales prenatales más frecuentes (hipertensión, infecciones fetales, alcoholismo e hipertermia).

A modo de ejemplo, algunos datos genéticos característicos de interés en la población ecuatoriana son (Capítulo XV) la elevada frecuencia de mosaicismos de trisomía 21 entre los pacientes ecuatorianos con síndrome de Down (10%), la baja prevalencia de la fibrosis quística en Ecuador así como de su mutación causante $\Delta F508$, que por el contrario es muy frecuente en las personas con fibrosis quística en poblaciones de origen centro europeo.

Esta información es de un gran valor no solo demográfico, al caracterizar el espectro mutacional propio de la población ecuatoriana, y de sus distintas etnias y provincias, resulta imprescindible para aplicar en el futuro la llamada medicina individualizada o estratificada

Debido al grado de penetración que tiene hoy en día la Genética en la práctica médica, existe en estos momentos una gran necesidad formativa por parte de la sociedad en el área de la Genética. Para adquirir los conocimientos esenciales que permitan distinguir los grandes retos y capacidades reales de esta ciencia de fantasías inalcanzables o riesgos desmedidos e inexistentes. Al mismo tiempo, debemos reflexionar en profundidad para dotar a los sistemas sanitarios y a los países de los recursos necesarios en un ambiente de equidad y de justicia que permita acercar estos logros a los ciudadanos, de un modo racional y sostenible, acorde a sus necesidades.

Una parte esencial de este proceso radica en la formación de los científicos y médicos que han de poder usar la tecnología y el conocimiento para mejorar la salud de la población.

Es por ello de la gran importancia en la publicación de un texto como el presente, en el que se combinan la actualización científica y médica en genética, adaptándola al entorno geográfico y temporal del país en el que se publica, Ecuador.

El cumplimiento de esta responsabilidad por parte sus autores y del equipo de colaboradores que han participado en esta obra, práctica pero rigurosa, da respuesta a esta necesidad formativa y será con certeza acogida con el mayor interés por sus lectores.

Carmen Ayuso MD, PhD.

Médico Genetista

Jefe del Área de Investigación

Jefe del Departamento de Genética Clínica

Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz

Madrid - España

Resumen

El libro *Genética Molecular y Citogenética Humana* se encuentra conformado por diecisiete capítulos que explican los fundamentos teóricos de la Biomedicina, las aplicaciones de las técnicas moleculares, y las investigaciones de varias enfermedades genéticas analizadas durante los últimos veinte años en el Ecuador.

Los primeros siete capítulos son tratados con un enfoque genético, siendo los siguientes: *Historia de la Genética en el Ecuador. Impacto social de los trastornos genéticos. Conceptos básicos de la Genética Molecular. Población de riesgo genético. Nociones sobre Genética de poblaciones. Patrones de la herencia. Origen genético de las discapacidades en el Ecuador.* En estos capítulos se explica la estructura del ADN nuclear y mitocondrial, el origen y tipo de mutaciones, las malformaciones congénitas; el diagnóstico genético, las herencias mendelianas y no mendelianas, la herencia poligénica multifactorial, los síndromes de genes contiguos, el mosaicismo, la impronta genómica, y los factores genéticos y epidemiológicos de las discapacidades en el Ecuador.

Los siguientes cinco capítulos se enfocan en las diferentes investigaciones realizadas por nuestro grupo de trabajo sobre la asociación de genes con el desarrollo de enfermedades: *Biología Molecular y caracterización de poblaciones humanas. Investigaciones moleculares en el Ecuador: Enfermedades neurodegenerativas. Investigaciones moleculares en el Ecuador: Enfermedades congénitas. Investigaciones moleculares en el Ecuador: Inmunología. Investigaciones moleculares en el Ecuador: Genotoxicología.* Estos capítulos profundizan la concepción de los polimorfismos del ADN, la estructura, función y regulación de los genes; la inhibición de la expresión génica, las técnicas de biología molecular aplicadas al estudio del genoma y varioma humano; de igual forma, se analizan enfermedades como Alzheimer, Huntington, Hirschsprung, fibrosis quística, distrofia muscular, hemocromatosis; y patrones carcinogénicos como el glifosato, los hidrocarburos y la radiación.

Los últimos cinco capítulos son: *Citogenética. La genética de la diferenciación sexual. Aspectos genéticos del crecimiento y desarrollo. Aspectos bioéticos en la investigación. Biodiversidad y bioseguridad en la Genética.* Estos capítulos explican la organización, estructura y compactación de los cromosomas, el análisis de los cariotipos en el diagnóstico de las enfermedades genéticas, citando casos clínicos analizados con tecnología molecular de punta.

Este libro refleja el perseverante trabajo en equipo ejercido por genetistas, biólogos, médicos, biotecnólogos y bioquímicos, comprometidos a lo largo de los últimos veinte años, con la investigación de los factores genéticos, clínicos y ambientales asociados al desarrollo de diversas enfermedades genéticas. De igual forma, este libro es un valioso aporte que nuestro grupo de investigación brinda a la sociedad ecuatoriana, para que se involucre en el ámbito de la Biomedicina y comprenda que la investigación es un pilar fundamental para el desarrollo científico, cultural y social del Ecuador.

Summary

The current book *Molecular Genetics and Human Cytogenetics* is made up of seventeen chapters which explain the theoretical basis of biomedicine, the applications of molecular techniques, and the research in several genetic disorders that have been analyzed over the last twenty years in Ecuador.

The first seven chapters are focused on Genetics, such as the following: *History of Genetics in Ecuador. Social Impact of Genetic Disorders. Basic Concepts of Molecular Genetics. Population with Genetic Risk. Knowledge in Populations Genetics. Inheritance Patterns. Genetic Origin of the Disability in Ecuador.* These chapters explain the structure of the nuclear and mitochondrial DNA, the origin and types of mutations, the congenital malformation, the genetic testing, the mendelian and non-mendelian inheritances, the multifactorial polygenic inheritance, the contiguous gene syndromes, mosaicism, genomic imprinting, and the genetic and epidemiologic factors for disability in Ecuador.

The following five chapters focus on the different research in gene association with the development of diseases that have been conducted by our working group: *Molecular Biology and Characterization of Human Populations. Molecular Research in Ecuador: Neurodegenerative Diseases. Molecular Research in Ecuador: Congenital Diseases. Molecular Research in Ecuador: Immunology. Molecular Research in Ecuador: Genotoxicology.* These chapters delve into the concept of DNA polymorphisms, the gene structure, function, and regulation, the inhibition of gene-expression, the techniques of molecular biology applied to the analysis of human genome and variome. Likewise, diseases such as Alzheimer, Huntington, Hirschsprung, cystic fibrosis, muscular dystrophy, and hemochromatosis are analyzed, as well as the carcinogenic patterns such as glyphosate, hydrocarbon, and radiation.

The last five chapters are: *Cytogenetics. Genetics of Sex Differentiation. Gene Aspects of Growth. Bioethics in Research. Biodiversity and Biosafety in Genetics.* These chapters deal with chromosome organization, structure, and compaction, the analysis of the karyotypes while testing the genetic disorders, citing clinical cases that have been analyzed with state-of-the-art molecular technology.

To conclude, this book captures the persistent team work carried out by geneticists, biologists, doctors, biotechnologists, and biochemists that are committed to the research in genetic, clinical, and environmental factors associated with the development of several genetic disorders over the last twenty years. Additionally, this book is a valuable work that our research team contributes to the Ecuadorian society, so that it can have some knowledge in biomedicine, and it can understand that research is an essential base for Ecuador's scientific, cultural, and social development.

Abreviaturas

μL	Micro litro
μM	Micromolar
μm	Micrometros
A	Adenina
AA	Antes de la actualidad
aa	Aminoácido
ACE	Aberración cromosómica estructural
ACN	Aberración cromosómica numérica
ADI	Organización Internacional de la Enfermedad de Alzheimer
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ADNc	ADN complementario
ADP	Adenosín difosfato
AEP	Ácido etileicosa pentanóico
AFP	Alfa feto proteína
AMPc	Adenosín monofosfato cíclico
Apo E	Apolipoproteína E
AR	Proteína receptora de andrógenos
ARN	Ácido ribonucleico
ARNds	ARN de doble cadena
ARNhm	ARN heterólogo nuclear
ARNi	ARN de interferencia
ARNm	ARN mensajero
ARNpi	ARN piwi
ARNr	ARN ribosomal
ARNsi	ARN de interferencia pequeño
ARNt	ARN transferencia
ATC	Agangliogénesis total del colon
ATP	Adenosín trifosfato
AU-K	Aurora quinasa (<i>Aurora kinase</i>)
BCE	Banco Central del Ecuador
BCS	Rotura cromosómica
BCT	Rotura cromatídica
BDNF	Factor neurotrófico derivado del cerebro (<i>Brain-derived neurotrophic factor</i>)
C	Citosina
CAP	Colegio Americano de Patólogos
CD	Enfermedades comunes
CDs	Células dendríticas
CECC	Comité Estadounidense Conjunto sobre el Cáncer
CEEA	Comisión Ecuatoriana de Energía Atómica
CF	Creatina fosfoquinasa
CFTR	Gen regulador transmembranal de la fibrosis quística (<i>Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator</i>)
CGH	Hibridación genómica comparativa
CH	Corea de Huntington
CHFR	<i>Checkpoint with forkhead and ring finger domains</i>
CHR	Cromosoma
CIR	Crecimiento intrauterino retardado
Cl	Cloro
cm	Centímetro
CK	Creatina fosfoquinasa

CODIS	Sistema de Índice de ADN Combinado
COV	Compuestos orgánicos volátiles
CP	Cáncer de pulmón
Cp	Punto de cruce (<i>Crossing point</i>)
CST3	Cistatina 3
Ct	Ciclo umbral (<i>Cycle threshold</i>)
CTSD	Catepsina D precursor
CV	Variaciones comunes (<i>Common variations</i>)
Da	Daltons
ddNTP	Di-desoxinucleótido trifosfato
DE	Desviación estándar
DHT	5 α -dihidrotestosterona
DMB	Distrofia muscular de Becker
DMD	Distrofia muscular de Duchenne
dNTP	Desoxinucleótido trifosfato
E	Exón
ECLAMC	Estudio Colaborativo Latinoamericano de Malformaciones Congénitas
EGFR	Receptor del factor de crecimiento epidermal (<i>Epidermal growth factor receptor</i>)
END	Endorreduplicación
EPA	Agencia de Protección Ambiental (<i>Environmental Protection Agency</i>)
F	Fenotipo
FAH	Fumarilacetoacetato hidrolasa
FDA	Agencia de Drogas y Alimentos (<i>Food and Drug Administration</i>)
FISH	Hibridación in situ con fluorescencia (<i>Fluorescent in situ hybridization</i>)
FL	Fisura labial
FLb	Fisura labial bilateral
FLP	Fisura labial palatina
FLu	Fisura labial unilateral
FP	Fisura palatina
FQ	Fibrosis quística
FW	Cebador sentido
G	Guanina
GCS	Gap cromosómico
GCT	Gap cromatídico
GJB2	Proteína de unión gap, conexina 26 (<i>Gap junction protein, connexin 26</i>)
GJB6	Proteína de unión gap, conexina 30 (<i>Gap junction protein, connexin 30</i>)
G6PDH	Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa
GPX-1	Glutación peroxidasa 1
GSTP1	Glutación S-transferasa pi 1
Gy	Gray
H₂O₂	Peróxido de hidrógeno
HAP	Proteínas asociadas a huntingtina (<i>Huntingting associated proteins</i>)
Hb	Hemoglobina
HCAM	Hospital Carlos Andrade Marín
HCl	Ácido clorhídrico
HIP	Proteínas que interaccionan con huntingtina
HL	Hormona luteinizante
HLA	Antígenos leucocitarios humanos (<i>Human lymphocyte antigen</i>)
HPB	Hiperplasia prostática benigna
HPSP	Hipospadia pseudovaginal periescrotal
HSCR	Hirschsprung
HTT	Huntingtina
HUGO	Organización del Genoma Humano (<i>Human Genome Organization</i>)

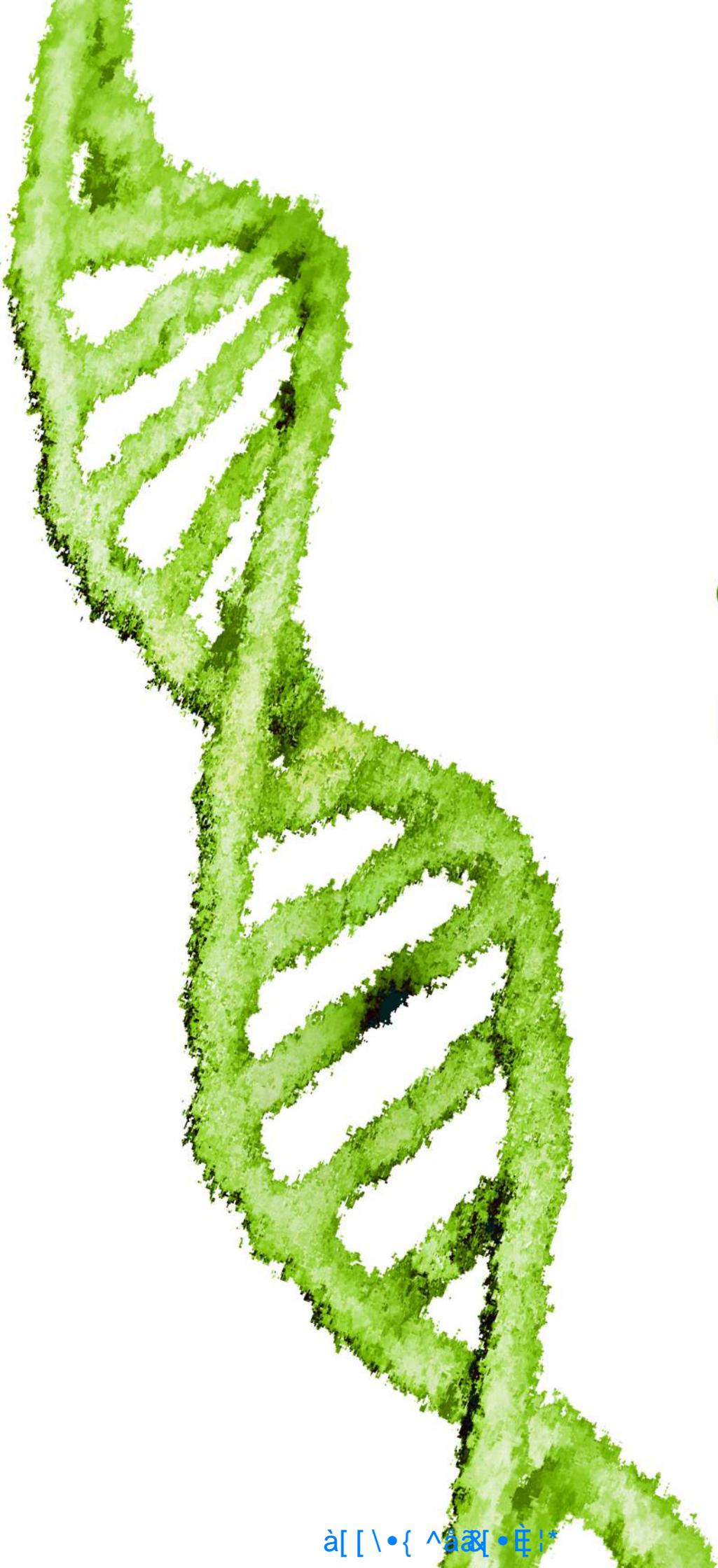
I	Intrón
IASCL	Asociación Internacional para el Estudio del Cáncer de Pulmón
ICPEMC	Comisión Internacional para la Protección Contra Mutágenos y Cancerígenos Ambientales (<i>International Commission for Protection against Environmental Mutagens and Carcinogens</i>)
IH	Índice de homocigosidad
IIB	Instituto de Investigaciones Biomédicas
INEC	Instituto Nacional de Estadísticas y Censos
IP	Índice de paternidad
IRC	Insuficiencia renal crónica
ITQ	Inhibidores de tirosina quinasa (<i>Tyrosine kinase inhibitors</i>)
Kb	Kilobases
KCl	Cloruro de potasio
Kg	Kilogramo
LD	Dosis letal
LINE	Elementos nucleares intercalados en largas distancias (<i>Long interspersed nuclear element</i>)
LLA	Leucemia linfoblástica aguda
LMC	Leucemia mieloide crónica
MAPK	Proteína quinasa activada por mitógenos (<i>Mitogen-activated protein kinase</i>)
MED	Dosis mínima para eritema
Mb	Megabases
MgCl₂	Cloruro de magnesio
MHC	Complejo mayor de histocompatibilidad (<i>Major histocompatibility complex</i>)
miARN	Micro ARN
Mn	Manganeso
MPTE	Madre portadora de translocación equilibrada
MSME	Misión Solidaria Manuela Espejo
n	Individuos
Na	Sodio
NADH	Nicotinamida adenina dinucleótido reducido
NCBI	Centro Nacional de Información Biotecnológica (<i>National Center for Biotechnology Information</i>)
ng	Nanogramos
nm	Nanómetros
NOR	Regiones organizadoras nucleolares (<i>Nucleolus organizer region</i>)
NS	Estadísticamente no significativo
nv	Nacidos vivos
OMIM	Enfermedades mendelianas de humanos en línea (<i>Online Mendelian Inheritance in Man</i>)
OMS	Organización Mundial de la Salud (<i>World Health Organization</i>)
ONG	Organización no gubernamental
OPS	Organización Panamericana de la Salud (<i>Pan American Health Organization</i>)
OR	Odds ratio
PAH	Hidrocarburos aromáticos policíclicos (<i>Polycyclic aromatic hydrocarbons</i>)
pb	Pares de bases
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa (<i>Polymerase chain reaction</i>)
PDGH	Proyecto de Diversidad del Genoma Humano
PGH	Proyecto del Genoma Humano (<i>Human Genome Project</i>)
PI3K	Fosfatidilinositol 3 quinasa
PLK	<i>Polo-like kinase</i>
PMAP	Patrones moleculares asociados a patógenos (<i>Pathogen-associated molecular patterns</i>)
POEA	Polioxi-etileno amina

Poli	Poliploidía
PPi	Pirofosfato inorgánico
ppm	Partes por millón
PPTE	Padre portador de translocación equilibrada
PUCE	Pontificia Universidad Católica del Ecuador
PVH	Proyecto del Varioma Humano (<i>Human Variome Project</i>)
qPCR	PCR cuantitativa (<i>Quantitative PCR</i>)
Rad	Unidad de radián
RFLP	Polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción (<i>Restriction fragment length polymorphism</i>)
RISC	Complejo inductor del silenciamiento del ARN (<i>RNA-induced silencing complex</i>)
RLC	Receptores de lectina
RNCAVCH	Registro Nacional Colaborativo de Alteraciones y Variantes Cromosómicas Humanas
ROS	Especies óxido reactivas (<i>Reactive oxygen species</i>)
RV	Cebador antisentido
S	Coefficiente de selección
S.	Síndrome
SEGH	Sociedad Ecuatoriana de Genética Humana
SENESCYT	Secretaría de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación
SH₂	Ácido sulfhídrico
SIDA	Síndrome de inmunodeficiencia adquirida
SINE	Elementos nucleares intercalados en distancias cortas (<i>Short interspersed nuclear element</i>)
SNC	Sistema nervioso central
SNP	Polimorfismo de nucleótido simple (<i>Single nucleotide polymorphism</i>)
SO₂	Dióxido de azufre
SO₄H₂	Ácido sulfúrico
SOD	Superóxido dismutasa
SRD5A2	5 α -reductasa tipo II
SSCP	Polimorfismo en la conformación de la cadena simple (<i>Single-strand conformation polymorphism</i>)
STR	Repeticiones cortas en tándem (<i>Short tandem repeats</i>)
t	Translocación
T	Timina
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
TDF	Factor de determinación testicular (<i>Testis-determining factor</i>)
TGF α	Factor de crecimiento transformante α (<i>Transforming growth factor α</i>)
TGS	Lugar a nivel transcripcional
TLR	Receptores similares a toll (<i>Toll-like receptors</i>)
UDLA	Universidad de las Américas
UVA	Ultravioleta A
UVB	Ultravioleta B
UV	Ultravioleta
Va	Variabilidad ambiental
Vc	Variabilidad correlacionada
Vg	Variabilidad genética
VIH	Virus de inmunodeficiencia humana (<i>Human immunodeficiency virus</i>)
VNTR	Repeticiones en tándem de número variable (<i>Variable number tandem repeat</i>)
Vp	Variabilidad fenotípica poblacional
VPH	Virus del papiloma humano (<i>Human papillomavirus</i>)
W	Adaptabilidad

WAOPD	Organización Mundial para la Prevención de Defectos del Nacimiento (<i>World Alliance of Organizations for the Prevention of Birth Defects</i>)
Wt	Tipo salvaje (<i>Wild type</i>)
Zn	Zinc
χ^2	Chi-cuadrado

1

**HISTORIA
DE LA
GENÉTICA
EN EL
ECUADOR**





ä [\ • { ^ å æ • ð ! *

CAPÍTULO I

HISTORIA DE LA GENÉTICA EN EL ECUADOR

Lo más importante al estudiar la historia de una ciencia es entender con rapidez el nivel que esta ha alcanzado y apreciar los conocimientos en su verdadera dimensión, dentro de los contextos de desarrollo de la sociedad y de la ciencia en general. Además, este estudio permitirá dilucidar los intrincados caminos filosóficos a los que nos enfrenta el conocimiento. Asimismo, el estar al tanto de los hechos científicos nos alejará de teorías caducas, previniéndonos de repetir ensayos o “descubrimientos” ny brindándonos la posibilidad de romper con mitos o acabar con lo pseudocientífico. La historia de la ciencia nos ayudará a apreciar sus interrelaciones y a concatenar hechos, nos introducirá a terminologías nuevas que se convertirán de por sí en aprendizajes y nos llevarán a profundizar la propia ciencia. En especial, nos permitirá descubrir a personas egregias, que con su trabajo constante han contribuido al bienestar de la humanidad, cuyos nombres servirán no solo de estímulo y ejemplo, sino que aportarán a la valoración de la humildad frente a nosotros mismos y a la grandeza del saber. Si el lector o lectora concuerda con ello, estará preparado para sumergirse en el maravilloso y apasionante mundo de la Genética Humana.

En la actualidad, el interés por la Genética Humana se ha acrecentado en forma acelerada, debido a los sorprendentes descubrimientos e investigaciones que está aportando, y que revolucionan las concepciones que con anterioridad han dominado el quehacer científico. En la presente época, las ramas de la Genética Humana se han diversificado a tal punto que existe una verdadera superespecialización. Así, se habla de Citogenética y Genética Clásica, Citogenética y Genética Molecular, Micromanipulación, Ingeniería Genética, Biotecnología, Nanotecnología Genómica, Proteómica y Transcriptómica. En este contexto, el Ecuador se ha desarrollado con mayor lentitud frente a otros países de la región, ocupando lastimosamente puestos muy retrasados. Si se revisa la historia del trabajo científico genético en el Ecuador, se aprecia que no ha existido una línea de investigación conformada o con tradición. Los aportes han sido escasos y más bien provienen de estudios aislados y de temas muy puntuales, que los autores han informado alrededor de uno u otro problema “genético” observado. Nos proponemos, por lo tanto, explicar de forma global los fundamentos teóricos, los avances científicos y los resultados de investigaciones ecuatorianas relacionadas a la Genética Humana.

De los documentos históricos existentes se puede recuperar valiosa información sobre Biopatología Genética en el Ecuador, lo cual indica que, al parecer, los autores coinciden con una visión particular de la Genética; esto es, la de una ciencia que estudia pluralidad de niveles de organización de la realidad, desde moléculas hasta organismos complejos, pasando por organismos celulares, comportamiento social de las células e incluso enfermedades. Es que lo fascinante de la Genética radica en que su estudio no excluye a estructura alguna: virus, bacterias, plantas, animales y seres humanos. Todos han sido y son idóneos para la investigación, y en cualquiera de los niveles de organización de la materia, los frutos y avances siguen siendo sorprendentes. De ahí que, a la luz de los conocimientos actuales, incluso hasta cabría presumir que los seres vivientes son tan sólo una expresión “caprichosa” del ácido desoxirribonucleico (ADN) en interacción armónica con el medio natural.

Nos toca pues, a los seres humanos, estudiar y tratar de entender los complicados mecanismos de la evolución biológico-genética, sus leyes y caminos, precisamente por estar, de manera circunstancial, en el nivel superior de la escala biológica.

1. ETAPAS DEL DESARROLLO HISTÓRICO DE LA GENÉTICA HUMANA

Los orígenes empíricos de la Genética son tan antiguos como el hombre mismo. Desde que a los primeros *Homo sapiens* les preocupó la existencia y organización del entorno, se empezó a sacar conclusiones sobre las similitudes entre diferentes especies y dentro de la propia descendencia. Los celtas y egipcios se ocuparon del cuidado de las especies vegetales y animales, los árabes de la búsqueda de la pureza de sangre en los caballos, los griegos de la eugenesia, las monarquías e imperios antiguos guardaron celosamente sus genealogías y, en América, se celebraban matrimonios entre el Inca y su hermana en busca del primogénito puro. Todas estas son muestras de la inquietud universal y milenaria por la herencia.

Por otra parte, la Paleogenética es una valiosa ayuda para la revisión de la patología malformativa precolombina. En esta área, Hermida ha analizado la *Venus dicephalus* de la cultura Valdivia (7000 años antes de la actualidad (AA)), polidactilia, ectrodactilia y posiblemente un malformado de la cultura Chorrera (1500 años AA); examina los enanos y gigantes de la cultura La Tolita y Jama-Coaque (500 años AA), entre otros. En estas piezas arqueológicas se evidencia el interés que sobre las malformaciones tuvieron nuestros antepasados (Hermida, 1986; 1991; 1992).

En la historia de la humanidad, el estudio de los seres vivos ha inquietado a muchos filósofos como Aristóteles, Descartes, Diderot, Spencer, Bergson o como en la actualidad, por ejemplo, al tratadista Bunge. Así, se han conformado teorías por demás interesantes con relación a la esencia de lo vivo, a su dinámica y sus interrelaciones.

En un principio, el desarrollo de las ciencias estuvo siempre supeditado a falsas creencias dominadas por el animismo, la falta de sistematización y de conocimientos. Se especulaba más allá de la realidad. Pese a ello, hasta fines del siglo XVII, las ciencias naturales, con una concepción materialista, se abrieron paso en medio del idealismo, la metafísica y el agnosticismo. A partir de este siglo, la Biología, y la Genética como tal, avanzaron por tres revoluciones científicas conocidas como: 1) Teoría Celular, 2) Teoría Evolucionista y Mendeliana, 3) Genética Molecular y Biotecnología. Las tres dan como resultado la siguiente periodización del desarrollo de la Genética científica:

1.1. Período antiguo o precitogenético

Va desde el descubrimiento de la célula por Hooke, en 1666, y finaliza con la publicación de la famosa obra de Wilson, *La célula en el desarrollo y la herencia*, en 1896. En este período la ciencia estuvo influenciada por muchos mitos; se pensaba que los fenómenos biológicos se producían al azar y que su estudio era imposible. El método científico era muy incipiente y existían pocas sistematizaciones de la realidad.

La Genética como ciencia se desarrolló muy tardíamente. La modernización de la sociedad y sus exigencias industriales, agroalimentarias, farmacéuticas, económicas y militares, ejercieron influencias determinantes en la potenciación de la Biología. El

avance de la Genética estuvo ligado a los coleccionistas y observadores. Las tendencias vitalistas de Uesekull, Driesch y Wenzl, quienes sostenían que los organismos se adaptaban fatalmente al medio por poseer ánimas, estuvieron fuertemente presentes hasta muy avanzado el siglo XVIII.

Para emprender las investigaciones biogenéticas se debió adelantar en la clasificación de las especies. El descubrimiento del Nuevo Mundo cuestionó muchas creencias pseudocientíficas e hizo reclasificar las especies. Recién en el siglo XVIII, Linneo propuso una clasificación rigurosamente científica y esto fue trascendental, ya que posibilitó saber con certeza la especie o familia que se estaba estudiando.

El desarrollo de la Morfología y la Anatomía Comparada, marcó diferencias esenciales entre lo normal y lo patológico. La construcción del microscopio y la observación de la célula por Hooke, dieron inicio a la Teoría Celular.

Con una nueva visión filosófica del mundo, los naturalistas profundizaron el estudio de los linajes y árboles genealógicos. En 1739 Buffon destacó las interrelaciones de los organismos antes clasificados. Y estos fueron los cimientos fundamentales para el criterio actual acerca del mismo origen molecular de las especies (hoy se sabe que el código genético es único y universal). En 1809 el naturalismo de Lamarck, con su teoría de que una especie proviene de sus antecesoras, pone las bases de la revolución biológica de Darwin. En 1771 la Teoría Celular de la herencia queda totalmente conformada con los trabajos de Bichat, quien inició la Patología Celular. Con los estudios de Embriología hechos por Von Baer (1792), quien observó que los organismos se desarrollaban a partir del cruce de un espermatozoido con un óvulo; y, con los trabajos de Amici (1827) sobre Histología que dan una globalidad perfecta a esta teoría, pues hasta ese momento era poco objetiva y no demostrable.

A partir de aquí, las teorías empiezan a polarizarse. El fijismo preformista de Weismann (1834), la teoría del homúnculo (el fenotipo completo del hombre está almacenado como un ser minúsculo en el espermatozoido), y la teoría metafísica de De Vries sobre la evolución por saltos catastróficos (aparición de nuevas especies por accidentes, sin evolución), se contraponen a las tendencias naturalistas y evolucionistas de Darwin y sus seguidores.

En el Ecuador, el desarrollo científico biogenético estuvo vinculado a las ideas biológicas del padre Solano (1839), sobre las especies zoológicas de nuestro territorio. Apareció la primera obra de Anatomía microscópica de Sotomayor (1896). Se describieron ciertas malformaciones cardíacas y se hicieron presentes las ideas de protección de la descendencia, mediante la promulgación de varias leyes de divorcio justificadas por causas biológicas que atentaran contra la salud y bienestar tanto de la madre como de sus hijos (1899).

1.2. Período de la Genética y Citogenética clásica

Se inicia con el redescubrimiento de las leyes de Mendel por Tschermak, De Vries y Correns (recuérdese, que Mendel postuló sus leyes en 1865 y debieron pasar 45 años para que fuesen valorizadas en su verdadera dimensión), continúa con el surgir del darwinismo y el evolucionismo. Darwin introdujo criterios nuevos acerca de la adecuación de los organismos al medio; sostenía que el medio influye en la variación de

las especies (neolamarckismo), sin que experimentalmente lo pudiera demostrar; pero, la selección natural, la variabilidad, la supervivencia del más apto, marcan las bases teóricas materiales de la adecuación de las especies al medio. El mérito de Darwin al implantar la teoría evolucionista fue expulsar de la ciencia a las teorías metafísicas y vitalistas. La controversia con los postulados de Lamarck, Michurin y Lisenko, son notables en este período.

Los trabajos de Mendel, con guisantes, hicieron posible que se determine matemáticamente las leyes básicas de la herencia, hoy aplicables a la herencia monogénica: autosómica dominante, recesiva y ligada al sexo. Mendel inauguró los conceptos de herencia de los caracteres unitarios, cuya consecuencia fue la Teoría Genética de la Herencia. Lo estudiado por él fue corroborado citológicamente en 1910 por Morgan, quien observó que en núcleos celulares se presentaban los cromosomas y sus alteraciones estaban relacionadas con alteraciones del fenotipo del individuo, con lo cual se conforma la Teoría Cromosómica de la Herencia. A partir de entonces, la Citogenética tiene un gran avance como ciencia objetiva y experimental, poniéndose de manifiesto la interrelación dialéctica de la unidad entre causa y efecto. El desarrollo de la Citogenética se debió al descubrimiento de técnicas y a la readecuación de otras ya existentes, así:

- a) Desarrollo de las técnicas de cultivo celular por suspensión, perfeccionamiento de la técnica directa para preparar cromosomas e introducción de los agentes mitóticos, como la fitohemaglutinina.
- b) Introducción de bloqueadores del huso acromático (colchicina), desencadenando un bloqueo de la mitosis.
- c) Pretratamiento de las células cultivadas en soluciones acuosas hipotónicas, cuyo efecto osmótico separa los cromosomas y los hace observables al microscopio.
- d) Técnica de extensión de cromosomas.

Tras décadas de discusión, en 1956, Tjio y Levan asignaron el número cromosómico humano en 46. Pocos años después, Lejeune describe las primeras alteraciones cromosómicas: el síndrome de Down y el síndrome de Turner. En este período son importantes además: el descubrimiento de la técnica de cultivo de linfocitos estimulados con fitohemaglutinina, por Nowell, en 1960; y el desarrollo de las técnicas de diagnóstico prenatal citogenético en el líquido amniótico, que permiten la prevención de enfermedades genéticas y cromosómicas, por Breg y Steel, en 1966.

Aunque el período citogenético continúa en la actualidad con aportes importantes, fue trascendental el descubrimiento de las técnicas de bandeamiento cromosómico hechas por Caspersson en 1970, con las cuales fue posible la descripción de síndromes por reestructuraciones cromosómicas y la citogenética del cáncer. Otros hechos importantes en este período fueron el ensayo de técnicas nuevas de tinción de los cromosomas y de sus diferentes porciones teloméricas, centroméricas y satélites.

Este período tiene aportes interesantes en el Ecuador: Los científicos influenciados por el darwinismo (Darwin llega a las islas Galápagos en 1835) retoman diferentes temas como la persistencia en el impedimento de matrimonios con linajes aberrantes y se da importancia a las anomalías anatómicas. Gracias a Torres, en 1921, y

a Hidalgo, en 1915, la Embriología toma un gran auge, y se empieza a discutir sobre los problemas de la herencia patológica.

Existen referencias sobre la herencia, los dermatoglifos, los grupos sanguíneos y los efectos de los rayos X sobre las células sanguíneas. En 1931 Garzón propone “Ligeras anotaciones sobre la herencia”. En 1939 Arauz habla sobre la “Célula y la Teoría Celular”. En 1940, se discute los mecanismos de la determinación del sexo, su evolución y sus modificaciones. En 1945 Herdoiza escribe sobre “La herencia consanguínea”. En 1946 Espinosa publica “Significado de la Genética y posibles aplicaciones de esta ciencia”. En 1949 se cobra importancia el estudio del feto, y se empieza a debatir temas que en la actualidad abarca la Bioética, tales como la eugenesia y esterilización.

Los estudios sobre biología del cáncer se hacen presentes en 1947. En el mismo año, se publica el primer libro de genética denominado *La genética y el hombre*, de Hoffstetter. Por otra parte, en 1954, Endara y Espinosa hablan de la patogénesis del mongolismo. Arias dedica algunos trabajos a las malformaciones congénitas como la fisura labio-palatina y malformaciones del tubo digestivo. Hay publicaciones acerca de las malformaciones congénitas del corazón. En 1962, Amen y Weilbauer informan, respectivamente, sobre la herencia y en torno a la herencia de los trastornos sanguíneos. En 1965 Pérez habla del estudio cromosómico en médula ósea para diagnóstico de leucemias. En 1967, Semiglia se informa sobre un caso de síndrome de Klinefelter; mientras que, en 1968, Torres realiza un estudio sobre el síndrome de Down.

En esa década se desarrolla la Biología y la Genética experimental en las facultades de Biología de las universidades del país, con el trabajo de Arcos. A partir de 1984 se potencia la citogenética médica en el Ecuador con la experiencia de Paredes, Santillán, Paz-y-Miño, Chaw y Moreta. En 1986 se hace el primer diagnóstico prenatal en líquido amniótico. Varios hospitales de Quito incluyen la Genética en servicios asistenciales. En 1987 Paz-y-Miño inicia los estudios cromosómicos en cáncer y realiza la primera biopsia corial para diagnóstico prenatal. En 1990 Varas realiza el primer estudio de incidencia de malformaciones congénitas en el que se incluye el estudio cromosómico de los polimalformados.

A partir de aquí, la discusión médica en torno a la Genética se establece; empiezan a presentarse investigaciones y resultados interesantes sobre variantes y anomalías cromosómicas, malformaciones y citogenética del cáncer. En 1990 Paz-y-Miño organiza el Registro Nacional Colaborativo de Alteraciones y Variantes Cromosómicas Humanas (RNCAVCH). Por consiguiente, el quehacer científico en Genética logra tener alguna representación con publicaciones nacionales, internacionales, y participaciones en congresos, talleres, cursos y conferencias.

La Genética irrumpe en el campo de la mutagénesis, analizando los efectos de los genotóxicos en los seres humanos: radiaciones, pesticidas, metales pesados, luminoterapia, antibióticos, y se procuran los primeros pasos en la Genética de poblaciones con estudios de frecuencias génicas de marcadores sanguíneos.

En el 2002 se desarrollan los primeros ensayos con varias técnicas de citogenética molecular. La hibridación in situ fluorescente (FISH) es la prueba con la cual se empezó a detectar alteraciones cromosómicas pequeñas, síndromes y patologías

que antes no eran detectables. También se hizo posible evidenciar las aberraciones mediante la tinción de los cromosomas, cobrando auge el concepto de síndromes por microdeleciones de cromosomas.

1.3. Período moderno, Genética Molecular y Biotecnología

Se inicia con las pruebas de transformación bacteriana hechas por Griffith en 1928, que son la base de la Teoría Molecular de la Herencia. En 1953, Watson, Crick y Wilkins, postulan la estructura en doble cadena del material hereditario (ADN); en 1963 Nieremberg describe el código genético. En 1970 Khorana hace la primera síntesis de un gen *in vitro* y Kan, en 1979, el primer diagnóstico genético por medio del análisis del ADN. En 1979 Goeddel produce por primera vez la insulina mediante ingeniería genética. Todas las técnicas moleculares como la secuenciación del ADN, la hibridación celular y del ADN, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la manipulación biotecnológica continúan con gran ímpetu en la actualidad. Se ha llegado a formar importantes convenios internacionales para el estudio del genoma humano. Existe un estrecho vínculo entre la Genética Molecular y la Citogenética, desarrollándose la llamada Citogenética Molecular, que introduce tinciones selectivas de porciones de genes presentes en cromosomas o de genes precisos.

Tanto la Teoría Genética de la Herencia como la Teoría Cromosómica de la Herencia conforman la llamada Genética Cualitativa, para la cual los caracteres cumplen la ley del todo o nada; es decir, que la alteración de un gen o de un cromosoma produce un efecto discernible (síndromes). Se dan los primeros pasos para relacionar un fenotipo específico con un gen específico.

En el Ecuador, Beadle y Froehlich publicaron sobre el ADN en 1967, pero debieron pasar casi tres décadas hasta que existiera un creciente interés en la tecnología del ADN humano. Gutiérrez, bajo el título *Milagros de la Genética*, hace una interesante revisión de los aspectos actuales de la Genética Molecular.

En 1995 Paz-y-Miño inicia, de forma pionera en el Ecuador, el Laboratorio de Genética Molecular y Citogenética Humana en el Departamento de Ciencias Biológicas de la PUCE, y se comienza el trabajo en técnicas de Genética Molecular Humana, con la extracción de ADN de células sanguíneas, tumores sólidos y leucemias, para análisis de mutaciones de genes específicos, como el gen de la hemocromatosis, genes reparadores, el gen de la fibrosis quística del páncreas, etc. Se utiliza la PCR y la técnica de polimorfismo en la conformación de la cadena simple (SSCP), para el estudio indirecto de mutaciones genéticas. A partir de 1999 se trabaja con las técnicas de secuenciación manual y automática de genes. Para el estudio de daños del ADN se desarrollan técnicas de inestabilidad cromosómica y determinación de la fragmentación del ADN, como el ensayo cometa.

En el año 2005 se formaron varios laboratorios que operaron ya con técnicas moleculares para diagnóstico de enfermedades como acondroplasia, distrofia muscular de Duchenne y Becker, corea de Huntington, síndrome de X frágil, entre otras. Así mismo, los conocimientos del ADN han permitido desarrollar las técnicas de Genética Forense para identificación de individuos y pruebas de paternidad (Hospital Metropolitano y Cruz Roja Ecuatoriana de Quito). Estas pruebas se realizan a través del

estudio de marcadores moleculares denominados repeticiones cortas en tándem (*short tandem repeats*) (STRs), seleccionados según los estándares internacionales.

El Instituto de Investigaciones Biomédicas (IIB) de la Universidad de las Américas (UDLA) se inició en octubre del 2008. El grupo de investigadores del IIB ha efectuado un considerable número de publicaciones científicas mediante libros y artículos, ha organizado las conferencias científicas BioScientis y ha brindado asesoramiento y diagnóstico de enfermedades genéticas. El IIB lidera en el Ecuador los estudios del genoma asociados a diversas patologías como el cáncer, enfermedades neurodegenerativas, enfermedades infecciosas, síndromes malformativos y alteraciones cromosómicas; ha contribuido con el país caracterizando genéticamente a la población ancestral ecuatoriana y a varias especies de animales como el tapir, la vizcacha y el cóndor; de igual forma, ha analizando los efectos de genotóxicos en población expuesta a pesticidas, hidrocarburos y radiación ionizante (Paz-y-Miño et al., 2008a; 2012a).

En el año 2013, el IIB expande sus áreas de investigación, trazándose como objetivo el entendimiento de enfermedades relevantes para el Ecuador, mediante el análisis de la expresión de cascadas genéticas, la aplicación de microarreglos de ADN, de vectores y de la secuenciación genómica. Gracias al esfuerzo de los miembros del IIB, este laboratorio es un referente de la investigación biomédica en el país.

2. VISIÓN EPISTEMOLÓGICA

Lo mencionado anteriormente indica que el último siglo ha sido el de mayores aportes científicos en el área de la Genética Humana, y esto favorece algunos comentarios desde planos filosóficos.

La Genética inicial se fundamentó, entre otros, en Galton y Pearson, que introdujeron los análisis matemáticos y estadísticos. Así mismo, se inicia la Genética Cuantitativa con las tesis del efecto umbral en las patologías genéticas y la acumulación de riesgos individuales, familiares o étnicos, y la llamada herencia de caracteres de grado, continua o multifactorial.

En 1908 se postula la ley de Hardy-Weinberg sobre la Genética de Poblaciones, tomando en consideración las variables de endogamia, migración, mutación y selección. Hoy en día esta ley se aplica ampliamente en el asesoramiento y consejo genético.

En el Ecuador, bajo una concepción neodarwinista, Sykes y Blum retoman el tema de la eutanasia y en los escritos aparecen argumentaciones con tintes racistas. En 1971, influido por el biologismo social, Amarista habla de los factores genéticos y el origen de la delincuencia.

Los postulados de la Genética de poblaciones inquietaban a los científicos. Existían serias dudas sobre el comportamiento de los genes, sus cambios, estabilidad, etc. En 1901, De Vries descubrió las mutaciones. En 1927 Muller demostró la producción de las mismas con agentes físicos (rayos X); de ahí en adelante, muchos químicos, fármacos y agentes biológicos han estado implicados en la inducción de mutaciones que han acarreado efectos malformativos. Históricamente han existido varios eventos que han desencadenado enfermedades genéticas, como las bombas

atómicas en la Segunda Guerra Mundial, la talidomida, el síndrome de rubeola congénita, la catástrofe de Chernóbil, el síndrome de SIDA fetal. En nuestro medio se pone atención a los problemas de los rayos X y sus efectos en los cromosomas humanos, y su evaluación con el ensayo cometa.

Descubiertas y confirmadas las mutaciones, los trabajos científicos pronto llamaron la atención sobre fenómenos muy interesantes relacionados con los cambios del material hereditario, como la tendencia de las especies a mantener las mutaciones en sus genomas, primero mediante los polimorfismos genéticos o cromosómicos (hemoglobinas, haptoglobinas, regiones heterocromáticas de los cromosomas) y luego por la manera en que estos se integran a la especie para ser posteriormente heredadas. Con estas bases, el estudio comparativo de las especies en el ámbito de la Genética Molecular, Bioquímica y Citogenética demuestran y reafirman la Teoría Cromosómica y Genética de la Evolución.

En 1909, acerca de la Teoría Cromosómica de la Herencia, Johannsen postuló que los genes, que son la unidad de la herencia, ocupan lugares específicos en los cromosomas. En 1915 Morgan denominó loci a las regiones específicas de los genes en los cromosomas, denominando alelos a las variantes del mismo gen. La diferente combinación de estos alelos posibilita la presencia de individuos homocigotos o heterocigotos. Con tal concepción, Haldane y Penrose construyeron los primeros mapas genéticos, en los cuales asignaban diferentes genes a sitios cromosómicos específicos.

Sobre la base de los trabajos de Garrod, que demostraron que las enfermedades bioquímicas son producto de alteraciones genéticas, en 1902 se conformó el concepto de que un gen es una enzima. Los organismos se consideraron sistemas biológicos cerrados y los genes la última unidad, indivisible, del material hereditario, autoperpetuables y poco modificables en cuanto a su relación con el medio, lo que se denominó la Teoría Autogenética de la Herencia. Así, el avance de la Genética Molecular hizo que los conceptos genéticos se afinaran. En 1957 Benzer lanza el concepto del cistrón, y se modifica el anterior concepto estático del gen. El cistrón es una secuencia de ADN con capacidad de producción de un polipéptido.

Los conceptos genéticos, bajo influencias filosóficas nuevas, adquieren otras dimensiones. Se demuestra que el gen es “divisible” y, aún más, se descubre que un mismo gen puede codificar dos y posiblemente más proteínas (un cistrón varios polipéptidos), mediante el empalme alternativo de exones (secuencias codificables) e intrones (secuencias no codificadoras) (Krebs et al., 2009). En la actualidad se presta atención a ciertos patrones de herencia atípicos o raros, no mendelianos, agrupados en lo que se denomina herencia mitocondrial y herencia por impresión génica (*genomic imprinting*).

Con la finalidad de conocer todo el patrimonio genético de los seres humanos, se inició a escala internacional el Proyecto Genoma Humano en 1988. La secuenciación del genoma humano fue fruto de un consorcio estatal y privado comandado por Estados Unidos y la empresa Celera Genomics, apoyado por Alemania, Francia, Japón, Inglaterra, Brasil, entre otros. Este conocimiento determinó que la Genética Humana cambiara drásticamente, incluyendo en sus propósitos los experimentos de terapia génica, clonación de individuos, células madres, manipulación de embriones y selección genética; aspectos nuevos para la tendencia investigativa, alrededor de los cuales ha

cochado un valor importante la discusión bioética de las nuevas tecnologías, se han conformado comités y se han abierto foros para expertos y no expertos.

Lo curioso es que pese al despliegue informativo dado sobre dicho proyecto y sus logros, los estudios que hemos realizado en población urbano-marginal y en los chamanes del Ecuador, hacen ver que los avances más bien son limitados en el campo de la Genética y que a la población general llegan muy pocos o mal interpretados. Puede consultarse más sobre este asunto en el artículo titulado *Genetics and congenital malformations: Interpretations, attitudes and practices in suburban communities and the shamans of Ecuador* publicado en la revista *Community Genetics*, en el año 2006 (Paz-y-Miño et al., 2006a).

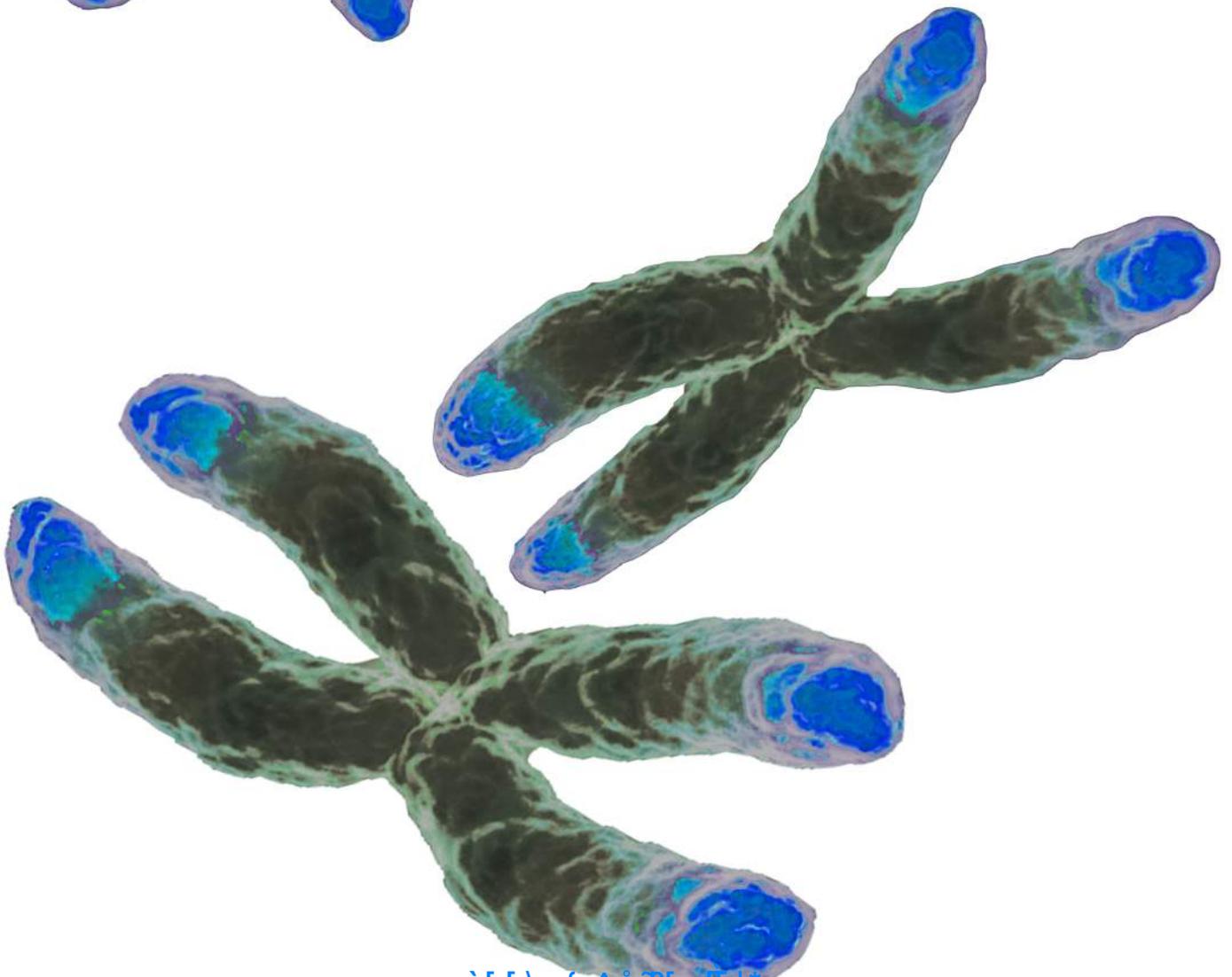
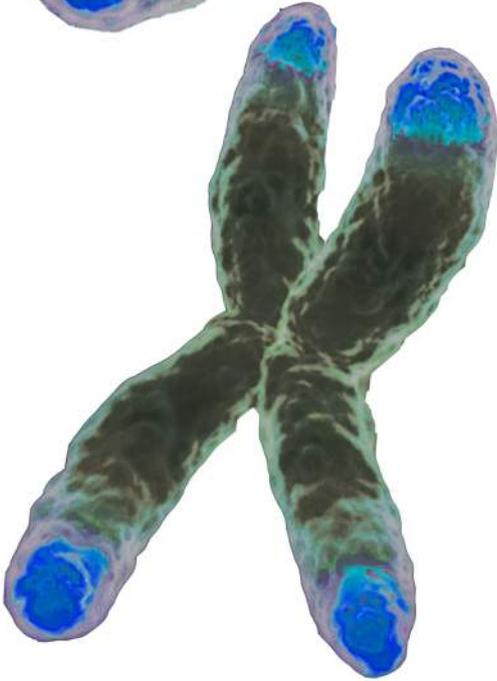
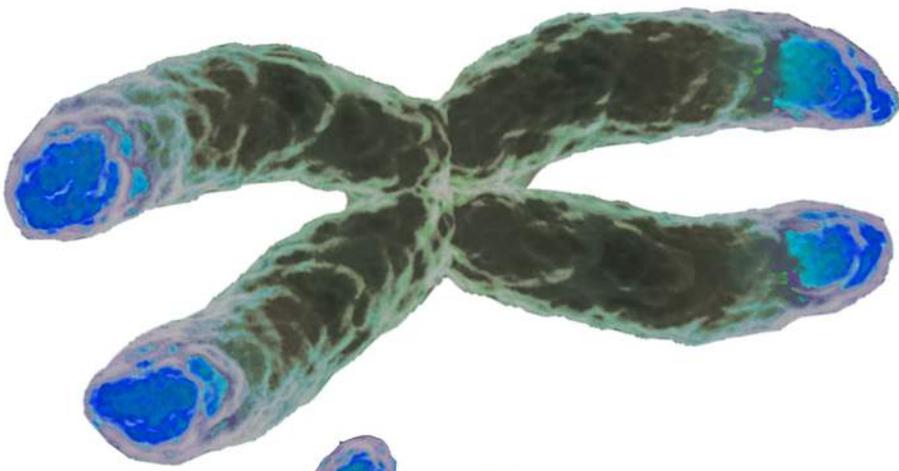
A principios del presente siglo, la aplicación mecánica del materialismo histórico hizo que Michurin y Lisenko desarrollaran el concepto de que la herencia génica no era la responsable del fenotipo y atribuyeran al medio ambiente un valor primordial en la génesis de los caracteres. Con sus experimentos neolamarckianos, postularon que la manipulación del ambiente resultaba en fenotipos deseados; es decir, que las “mutaciones eran controlables”. La Genética moderna demuestra que la capacidad de adaptación a las condiciones adversas del medio se debe a la selección de genes favorables “preexistentes” en las especies, en función de la presión de mutación (valor preadaptativo de la mutación), lo cual se sustentó en los experimentos de Avery en 1944, que mostraron el rol primordial del ADN en la herencia. Actualmente, se sabe que las características somáticas o fenotipo son el resultado de la relación sumatoria de las características genéticas más la influencia ambiental (epigenética). En esta fórmula, el genotipo proporciona la base física para las funciones y reacciones orgánicas frente al medio.

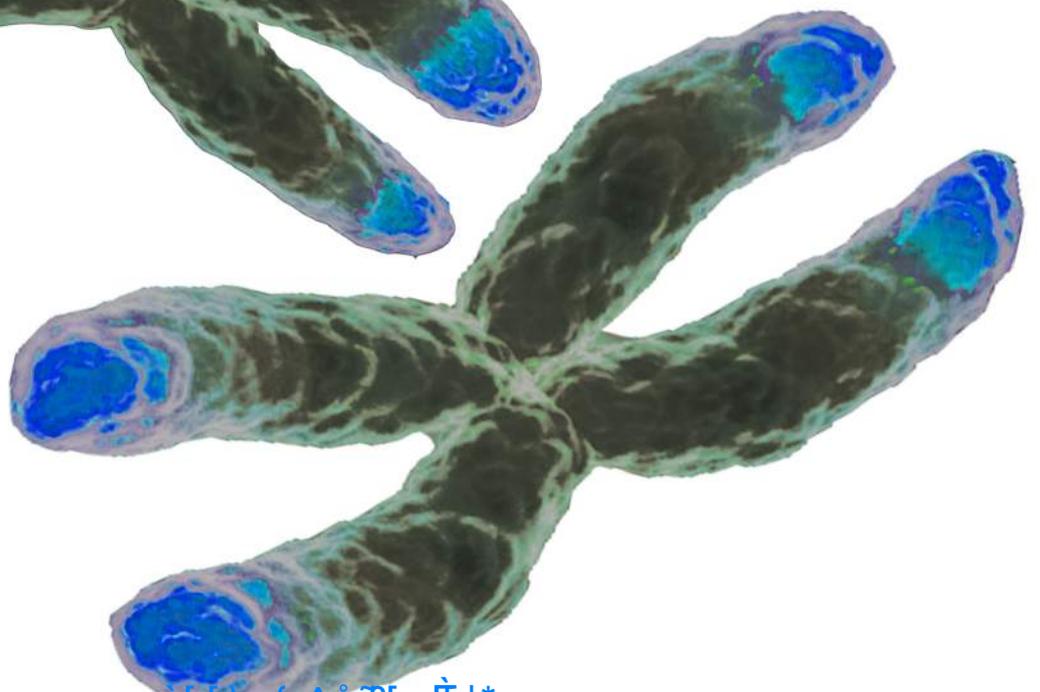
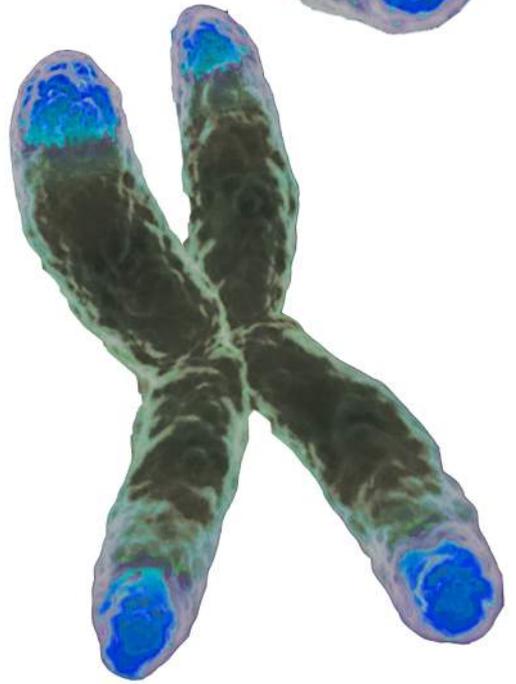
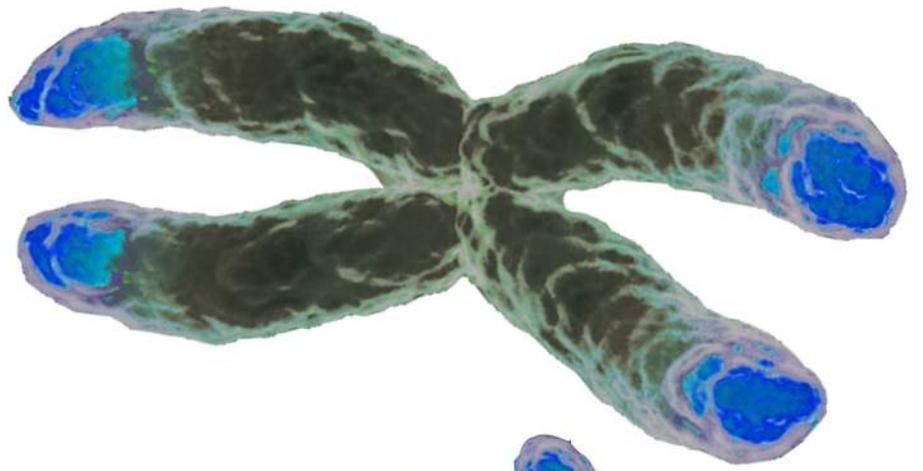
A la luz de nuevas concepciones científico-filosóficas, los organismos se constituyen en sistemas biológicos abiertos al medio, de existencia integral y armónica del ADN, ARN y proteínas; además, son individualizados, autoregulados, con propiedades de reproducir formas de información compleja (genes) y de perpetuar esa información que está sujeta a presiones y cambios en el desarrollo individual, social, e histórico. Se inaugura así la tendencia ecogenética, que se refuerza más e imprime su influencia en la mayoría de tendencias en Genética General y Humana. Muchos de los movimientos ecologistas y personalidades científicas, abanderan sus posiciones en la defensa del patrimonio genético de las poblaciones y del mantenimiento de la biodiversidad.

La experiencia en Genética Médica nos muestra que muchos de los conceptos y bases filosóficas de la ciencia son descuidados en la actividad profesional ecuatoriana. Existe una mezcla de razones: por un lado, el criterio individualista y comercial de la medicina ha descuidado el trabajo científico sistematizado y más bien consumimos conocimientos antes que producirlos. Por otro lado, las exigencias de la población de enfermos son diversas a las de otras geografías y el criterio de curación prima sobre el de prevención, por lo tanto, a un enfermo le interesa poco una prueba genética de detección temprana, pues esta no le servirá para curarse de su mal. En este marco, las acciones preventivas de la Medicina Genética tienen poco espacio en la sociedad, a lo que se agregan escasa formación científica y limitaciones de acceso o preferencia por el conocimiento.

2

IMPACTO SOCIAL DE LOS TRASTORNOS GENÉTICOS





CAPÍTULO II

IMPACTO SOCIAL DE LOS TRASTORNOS GENÉTICOS

Entre los antiguos objetivos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) se observaba el eslogan “La salud para todos en el año 2000”, es decir, el acceso de toda la población a la salud, empezando por los grupos prioritarios: niños, mujeres en edad fértil e impedidos. En el momento actual esto no ha ocurrido, al menos no en el Ecuador. Los problemas de salud se han mantenido en muchos aspectos de similar forma que hace veinte años. Igualmente, la Organización Panamericana de la Salud (OPS), en su reunión en Washington (1982), estimó necesario que en América Latina se inicien actividades en el campo de la Genética, con un enfoque particular en los defectos congénitos (OPS, 1984). Es importante subrayar los planteamientos que las máximas autoridades han mencionado hace décadas y analizar la realidad de la salud en cada uno de los países, ya sea en el área de la Genética o en otras.

Se conoce que del total de recién nacidos, las enfermedades genéticas y defectos congénitos representan el 5%. Estos defectos constituyen una de las diez causas de mortalidad infantil; oscilan entre 2 y 27%, según la región. Adicionalmente, los defectos congénitos y genéticos son la causa del 10 al 25% del total de hospitalizaciones. Por otro lado, las anomalías cromosómicas representan entre el 0,5 al 1% del total de nacimientos, mientras que estudios en abortos tempranos revelan que el 50% de estos casos presentan alguna anomalía cromosómica (OPS, 1987).

Los problemas de infertilidad y esterilidad son explicables entre el 0,59 al 5,3% de los casos, por cromosopatías. Otras enfermedades de clara predisposición genética manifestadas en los adultos representan un 15%. Gran proporción de impedimentos físicos y mentales, como retraso, sordera, ceguera, problemas motores y de lenguaje, son de origen genético en el 11% de la población de América Latina. Algunos estudios llegan a la conclusión de que al menos el 7% de concepciones humanas tienen cromosopatías, de estas, el 90% no sobreviven luego del nacimiento; del 10% que sobrevive, la mitad padece de gonosomopatías (afección de los cromosomas sexuales). Un dato digno de tomar en cuenta es que el 2% de embarazos que cursan sin complicaciones y que llegan a término sin problemas obstétricos, resultan en un hijo con anomalías (Paz-y-Miño, 1991).

Estudios poblacionales indican que 1 de cada 500 individuos posee una alteración cromosómica estructural balanceada, es decir, translocaciones e inversiones. Si bien no producen alteraciones fenotípicas en el portador, pueden originar alteraciones en la descendencia (Ballesta & Baldellou, 1971), debido a que si las alteraciones cromosómicas se asocian con un cambio en la lectura del ADN, esta información alteraría la síntesis de proteínas, y por ende se desencadenarían problemas a nivel fisiológico en los diferentes sistemas del cuerpo humano.

En el Ecuador las anomalías congénitas están comprendidas entre las 17 primeras causas de mortalidad referente a enfermedades, con una tasa de 4,9 por cada 100000 habitantes. Las causas de mortalidad con los más altos porcentajes son las enfermedades hipersensitivas (7%), la diabetes mellitus (6,5%), la influenza y neumonía (5,4%), y las enfermedades cerebrovasculares (5,3%) (Tabla II.1).

Tabla II.1. Causas de mortalidad referente a enfermedades

Enfermedades	Porcentaje (%) del total de defunciones
Enfermedades hipertensivas	7
Diabetes mellitus	6,5
Influenza y neumonía	5,4
Enfermedades cerebrovasculares	5,3
Enfermedades isquémicas del corazón	3,2
Cirrosis y otras enfermedades del hígado	3,1
Insuficiencia cardiaca	3
Enfermedades sistema urinario	2,6
Neoplasia maligna del estómago	2,5
Enfermedades crónicas en vías respiratorias	2
Neoplasias en tejido linfático	1,6
Neoplasia maligna de próstata	1,4
Septicemia	1,3
Enfermedad virus VIH	1,2
Neoplasia maligna en útero	1,2
Neoplasia maligna pulmón	1,1
Malformaciones congénitas y anomalías cromosómicas	1,1

Además, en Ecuador los datos de malformaciones son variables a pesar de que todos se encuentran dentro de las cifras aceptadas para incidencia y frecuencia de estas patologías (Varas, 1989; Romero & Carrión, 1990) (Tabla II.2), así:

Tabla II.2. Estudios sobre frecuencias de malformaciones en Quito

Malformaciones (%)	Casos (nacidos vivos)
1,08	25125
4,90	54079
0,82	7527
2,12	12112
1,7	66843*

[*] Se registraron en los 12 hospitales ecuatorianos de la red ECLAMC, 66843 nacimientos de los cuales: 7 hospitales se localizan por encima de los 2000 msnm, con 41218 nacimientos y 5 hospitales por debajo de los 2000 msnm, con 25625 nacimientos.

La investigación realizada por Varas en 1989 establece que el 1,5% de casos analizados presentaron malformaciones congénitas. Tuvimos la oportunidad de seguir de cerca este estudio y constituye el único informe en el cual constan resultados de cromosomopatías. Este estudio, siguiendo los criterios de clasificación del Estudio Colaborativo Latinoamericano de Malformaciones Congénitas (ECLAMC), constituye una contribución sobre frecuencias e incidencias de malformaciones congénitas. Las cifras informativas son las siguientes: sobre los 12112 nacidos vivos estudiados, 257 (2,12%) presentaron malformaciones; de estas, 144 (56,0%) corresponden a varones; 112 (43,6%) a mujeres y 1 caso (0,4%) a sexo indeterminado (razón sexual H:M = 1,3) (Varas, 1989; Paz-y-Miño, 1993a; ECLAMC, 2013).

Con respecto a las malformaciones por sistemas en nacidos vivos en Quito, se realizó un análisis por sistema afectado, obteniendo como resultado que de los 211 niños estudiados, el 22,8% presentó afectado el sistema esquelético, el 20,9% presentó problemas en el sistema auditivo, y el 14,2% presentó cromosomopatías. Estos datos se los detalla en la Tabla II.3.

Tabla II.3. Distribución de malformaciones por sistemas en nacidos vivos en Quito

Sistema afecto	Casos (%)	Frecuencias
Sistema esquelético	48 (22,8)	0,40
Sistema auditivo	44 (20,9)	0,36
Cromosomopatías	30 (14,2)	0,25
Sistema maxilofacial	19 (9,0)	0,16
Sistema nervioso	16 (7,6)	0,13
Sistema digestivo	15 (7,1)	0,12
Sistema génito-urinario	13 (6,2)	0,11
Sistema circulatorio	10 (4,7)	0,08
Sistema epitelial y anexos	6 (2,8)	0,05
Tumores	5 (2,4)	0,04
Sistema respiratorio	3 (1,4)	0,03
Aparato ocular	2 (0,9)	0,02
Total	211 (100)	

Uno de los estudios más importantes en Ecuador, sobre malformaciones fue el realizado por el ECLAMC, coordinado por el Hospital del Seguro Social Carlos Andrade Marín. El registro aglutinó por primera vez en el Ecuador a doce centros con la misma metodología. El estudio de malformaciones hace referencia a 60 diferentes tipos de problemas, contemplados en la clasificación internacional de enfermedades. Los centros que aportaron a este estudio se detallan en la Tabla II.4 (ECLAMC, 2013).

Tabla II.4. Centros que conforman el ECLAMC en Ecuador

Hospital	Provincia	Ciudad	Altitud (msnm)	Nacidos/año
Andrade Marín	Pichincha	Quito	2880	3500
Isidro Ayora	Pichincha	Quito	2880	12000
Rodríguez Zambrano	Manabí	Manta	13	2200
Napoleón Dávila	Manabí	Chone	110	1600
Miguel Alcívar	Manabí	Bahía de Caráquez	3	1200
Luis Martínez	Cañar	Cañar	3050	600
Fundación Mano Amiga	Cañar	Cañar	3050	600
Verdi Cevallos Balda	Manabí	Portoviejo	36	2800
Isidro Ayora	Loja	Loja	2310	2900
San Vicente de Paul	Imbabura	Ibarra	2215	3000
Homero Castanier	Cañar	Azogues	2520	1500
Teófilo Dávila	El Oro	Machala	6	1900

Con respecto a los resultados del estudio, las 15 mayores frecuencias de malformaciones en el ECLAMC (Ecuador) se presenta en la Tabla II.5.

Un aspecto fundamental del estudio del ECLAMC es que, al hacer una revisión de los problemas más frecuentes, en términos generales se observa una baja frecuencia de onfalocele, gastrosquisis, anencefalia, espina bífida, hidrocefalia, cefalocele, defecto conotruncal, defecto septal, persistencia de ductus, otras cardiopatías, hipospadias, agenesia renal, hidronefrosis, pie equinovaro, pie talovalgo, polidactilia postaxial, polidactilia preaxial, artrogriposis, síndrome de Down, síndromes etiológicos, síndromes patogénicos. Hay una alta frecuencia de an-microtia y labio leporino anotia/microtia es el único tipo de malformación más frecuente en hospitales ecuatorianos (10,68/10000) que en el resto del ECLAMC (5,08/10000). Posiblemente esta diferencia sea aún mayor de no existir las deficiencias de registro mencionadas anteriormente. Este dato confirma la observación realizada en el año 1970, cuando se

participó en el inicio del ECLAMC y que ubicó al Ecuador como uno de los países con más alta patología a nivel de oído externo (seis veces más alta). Situación similar ocurrió con la dislocación congénita de cadera, que el ECLAMC de aquella época detectó cuatro veces más alta en Ecuador que en el resto de América Latina, y que el ECLAMC (Ecuador) también la ubicó como tres veces más alta, al compararla con el resto del registro. La observación fue realizada a más de los 2000 msnm (Tabla II.5) (Paz-y-Miño et al., 2002a; Montalvo et al., 2005; ECLAMC, 2013).

Tabla II.5. Frecuencias de malformaciones del ECLAMC en el Ecuador

Malformación	Frecuencia	< 2000 msnm	> 2000 msnm
Labio fisurado más paladar hendido	18,84	11,08	20,18
Subluxación de cadera	14,44	3,08	15,41
Síndrome de Down	13,50	11,70	13,94
Pie varo	11,62	9,85	9,54
Polidactilia	11,62	9,85	12,85
Hidrocefalia	7,54	2,46	8,70
Espina bífida	4,71	4,93	4,77
Paladar hendido	4,40	6,16	2,94
Atresia esofágica	4,08	2,46	3,30
Hipospadias	3,77	1,23	3,67
Anencefalia	3,77	1,23	4,40
Defectos septales	3,45	0,00	4,40
Microftalmia	3,14	2,46	2,94
Defectos conotruncales	2,51	0,62	2,94

(Montalvo et al., 2005)

Actualmente se discute mucho la relación entre la altura geográfica y la variabilidad de las patologías, y muchos estudios relacionan la altura con enfermedades. En relación a la altura, existe alguna evidencia interesante sobre esta asociación, los estudios de tumor de cuerpo carotideo hablan de un umbral de activación a partir de los 1800 msnm.

La influencia de la altura ha sido estudiada desde muchos puntos de vista: fisiológicos, fenotípicos, adaptativos, enzimáticos, bioquímicos, inmunológicos, entre otros. Estudios en lugares altos como los Himalayas, los Andes, algunos sitios altos de Europa y otros de Asia postulan hipótesis bien respaldadas, pero no logran descifrar satisfactoriamente qué y cuáles ventajas son clave para entender los mecanismos de la adaptación a la altura (Moore, 2000; Rupert & Hochachka 2001). La discusión actualmente, se centra en si los hallazgos son simplemente adaptaciones naturales o genéticas y se aborda las limitaciones de los diversos estudios y su metodología (Brutsaert, 2001).

Por otro lado, hay que considerar que las enfermedades también tienen comportamientos diferentes según el grupo poblacional, lo que se denomina heterogeneidad geográfica. Por ejemplo, variaciones en el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) se asocian a una mayor predisposición a edema pulmonar en población de altura (Hanaoka et al., 1998). Estudios sobre alelos del beta-fibrinógeno en poblaciones nativas de altura revelan polimorfismos del gen, asociados a una mejor adaptación a la altura, específicamente a mayores concentraciones de fibrinógeno (Rupert et al., 1999), así mismo, estudios de polimorfismos de los receptores beta 2 adrenérgicos, en poblaciones que viven entre 3200 y 4200 metros

sobre el nivel del mar, muestran un polimorfismo mayor asociado a un mejor funcionamiento bronquial (Rupert et al., 1999). Las malformaciones a nivel latinoamericano muestran diferentes incidencias según los países. La microtia y la dislocación congénita de cadera tienen un mayor índice de presentación en población de altura, especialmente en Quito (Castilla & Orioli, 1986). Los estudios de la distribución del cáncer por grupos poblacionales muestran que existe diferente incidencia según sexo, región geográfica y grupo poblacional con características genéticas comunes. Estudios realizados en Haití, Bolivia, Rusia y Ecuador muestran que la incidencia del cáncer es mayor en la población de montaña (Ríos-Dalenz et al., 1981; Akhtiamov & Kaïrakbaev, 1983; Mitacek et al., 1986). Fenómeno similar con relación a la altura, ocurre con los tumores, como el del cuerpo carotideo.

1. MALFORMACIONES CONGÉNITAS

Dentro del concepto de malformaciones se debe incluir también los trastornos funcionales, por lo que se puede definir una malformación congénita como una anomalía de estructura, función o metabolismo, ya sea genéticamente determinada o por el resultado de la interferencia ambiental durante la vida embrionaria, fetal o postnatal, y que puede manifestarse en el momento del nacimiento o posteriormente. Otros autores prefieren llamarlas anomalías congénitas, porque esta denominación incluye tanto las malformaciones como las alteraciones cromosómicas y metabólicas, englobando toda irregularidad o discrepancia en el desarrollo normal. Las anomalías funcionales son ejemplificadas por errores innatos del metabolismo, hemoglobinopatías, o retraso mental.

El estudio de las malformaciones congénitas suele designarse como Teratología, pero es preferible utilizar el término Dismorfología, que se refiere al estudio de las anomalías del desarrollo morfológico, incluyendo las pequeñas malformaciones.

La frecuencia de las malformaciones congénitas es bastante elevada; si se tiene en cuenta los nacidos muertos, los niños que mueren en el período neonatal y los que sobreviven más allá del primer año de vida, se obtiene una cifra de un 6% de los recién nacidos. Colectivamente, todos los desórdenes genéticos y defectos del nacimiento tienen una predominancia mínima de 50 por 1000, en el nacimiento. La predominancia promedio de malformaciones congénitas, en el nacimiento, en los países en desarrollo es aproximadamente del 2 al 3%, dato similar al de los países industrializados (Lian et al., 1987; Mutchinick et al., 1988). Algunas malformaciones muestran amplias variaciones geográficas. Por ejemplo, los defectos del tubo neural, al nacer, son muy prevalentes en Egipto, China, México y América Central (Lian et al., 1987; Mutchinick et al., 1988). Mientras que las fisuras labial y palatina son frecuentes en las poblaciones amerindias y asiáticas, y microtia en Ecuador (Castilla & Orioli, 1986). Las interacciones entre el ambiente y los factores constitucionales fundamentan las variaciones observadas en la frecuencia entre poblaciones. Sin embargo, los factores ambientales también cumplen un rol importante, tal como el síndrome de alcoholismo fetal en África del Sur.

Se entiende por etiología el punto de partida de la cadena de acontecimientos que llevarán finalmente a la aparición de uno o varios defectos congénitos en un feto. La cadena de acontecimientos es la patogenia y el cuadro final será la manifestación clínica del proceso.

Los defectos congénitos se dividen en tres grandes grupos según su etiología: genética 13% (monogénica 3% o cromosómica 10%), ambiental 5% y desconocida 82%. Aproximadamente 6 de cada 1000 nv tiene anormalidades cromosómicas que conducen a malformaciones congénitas, retraso mental y desórdenes de la diferenciación sexual. Aunque la mayoría de cuadros dismórficos de etiología genética se producen como consecuencia de errores no reparados en la replicación del ADN, se debe considerar también que la etiología de algunos casos producidos por la presencia de un gen o un cromosoma alterado puede ser también ambiental (agentes mutagénicos). En estos casos, la alteración genética es el inicio de la patología.

Existe heterogeneidad tanto etiológica como clínica en el proceso dismorfogénico: un factor etiológico puede dar lugar a cuadros clínicos diversos (dependiendo de la dosis y la susceptibilidad genética del embrión), y un cuadro clínico puede ser producido por la acción de factores etiológicos distintos. El esfuerzo conjunto de la teratología y la embriología está ayudando a la comprensión del fenómeno dismorfogénico. Este conocimiento, importante desde el punto de vista biomédico, puede abrir nuevas vías en el reconocimiento de agentes teratogénicos desconocidos.

1.1. Factores maternos

Existen factores maternos relacionados a infecciones y a enfermedades crónicas.

1.1.1. Infecciones

- Rubéola (aborto, malformaciones múltiples, ceguera, cardiopatías, prematuridad).
- Citomegalovirus (retardo mental, microcefalia, calcificación intracraneal, coriorretinitis, pérdida de la audición, dificultad del aprendizaje).
- Parvovirus (edema fetal).
- Poliovirus (abortos espontáneos, en algunos casos malformaciones congénitas, peso bajo, niños prematuros).
- Toxoplasmosis (abortos, infección congénita severa con efectos teratogénicos, crecimiento anormal, en algunos casos se presenta calcificación intracerebral, coriorretinitis, hidrocefalia o microcefalia, fluido espinal anormal, anemia, esplenomegalia, ictericia, fiebre, linfadenopatía, convulsiones y vómito, retraso mental, deficiencias visuales y auditivas, ataques).
- VIH (microcefalia, retardo del crecimiento, dismorfismo craneofacial).
- Herpes simple (abortos espontáneos, niños con una enfermedad localizada no muy severa, mientras que otros niños experimentan una enfermedad frecuentemente fatal afectando a múltiples órganos).
- Papiloma virus humano (papilomatosis fetal de la laringe asociado con tracto genital materno condilomatoso).
- Varicela-zoster (lesiones de la piel, hipoplasia de los miembros, atrofia cortical, retardo mental, microcefalia, coriorretinitis, microftalmos, nistagmus y cataratas).
- Sífilis (infección congénita, muerte neonatal, hepatoplenomegalia, linfadenopatía, pseudoparálisis).
- Paperas (abortos espontáneos).

1.1.2. Enfermedades crónicas

- Diabetes mellitus.

- Fenilcetonuria.
- Hipotiroidismo.
- Hiperplasia suprarrenal.

1.2. Factores externos

Existen factores externos como agentes físicos, químicos y hábitos.

1.2.1. Agentes físicos

- Radiaciones ionizantes (infertilidad, microcefalia, retraso mental, aberraciones estructurales cromosómicas, mosaicismo, mutaciones génicas, predisposición al cáncer, náusea, vómito, daño a la vejiga o al tracto gastrointestinal. En dosis altas: destrucción del sistema inmune, del tejido nervioso y del cerebro).
- Rayos ultravioleta (mutaciones puntuales, cáncer de piel).
- Hipertermia (en organismos experimentales se ha revelado embriotoxicidad durante el estadio de preimplantación, efectos físicos similares a aquellos de fiebre alta y la inducción de cataratas).
- Fuerzas mecánicas.
- Ultrasonido (puede afectar material biológico por hipertermia; cavitación, que puede dañar estructuras subcelulares; o estrés mecánico directo).

1.2.2. Agentes químicos y medicamentos

- Talidomida (deformidades de los miembros, anomalías auditivas, anormalidades nasales, defectos del lóbulo medio del pulmón derecho, malformación cardíaca, estenosis duodenal o pilórica y atresias gastrointestinales).
- Estreptomina (deficiencias auditivas y daño en el octavo nervio craneal, ototoxicidad fetal del 3 al 11%).
- Tetraciclina (afecta al color de la dentadura).
- Ciclofosfamida (defectos en las extremidades).
- Antagonistas del ácido fólico: aminopterin, metotrexato (desarrollo óseo alterado, cabezas globulares, facies triangulares anormales, orejas pequeñas, retraso del crecimiento).
- Anticonvulsivantes: hidantoínas (retardo del crecimiento intrauterino, microcefalia, retardo mental, pliegues internos del epicanto, ptosis del párpado, puente nasal ancho deprimido, hipoplasia de las falanges distales y hernias), ácido valproico (defectos del tubo neural lumbo-sacro), trimetadiona (retardo del crecimiento y desarrollo, cejas en forma de V, implantación baja de las orejas, anomalías del paladar, pliegues del epicanto y dentadura irregular, anomalías cardiovasculares y viscerales).
- Andrógenos (masculinización del feto femenino, fusión labioescrotal antes de la doceava semana de gestación).
- Anticoagulantes: warfarina (hemorragia fetal, hipoplasia nasal, atrofia óptica, microcefalia), dicumarínicos.
- Ácido retinoico (microcefalia, anormalidades auditivas, defectos cardíacos y lesiones del sistema nervioso central).
- Busulfan (malformaciones y retardo del crecimiento intrauterino).
- Clorambucil (agenesis renal unilateral y ureteral).

1.2.3. Hábitos

- Alcohol (Síndrome del alcoholismo fetal incluye disminución del coeficiente intelectual, retraso del crecimiento intrauterino, anomalías oculares, anomalías de las articulaciones y problemas cardíacos).
- Cocaína (disminución del comportamiento interactivo y pobre respuesta organizacional a los estímulos del medio ambiente).
- Cigarrillo (retraso del crecimiento intrauterino).
- Sustancias industriales y ocupacionales.
- Mercurio orgánico (toxicidad fetal, daño del sistema nervioso central).

Habitualmente los defectos congénitos se clasifican en dos grupos: alteraciones individuales de la forma o la estructura, y patrones o entidades polimalformativos.

1.3. Alteraciones individuales

Según la terminología de Spranger, se manejan los siguientes conceptos a nivel mundial (Spranger et al., 1982):

1.3.1. Malformación

Defecto estructural macroscópico de un órgano, parte de un órgano o una región del organismo, que resulta de un proceso de desarrollo intrínsecamente anormal. Ej. Ectropía de la vejiga, raquisquisis.

1.3.2. Deformación

Anomalía de la forma o la posición de una parte del organismo, causada por fuerzas mecánicas intrauterinas, que distorsionan las estructuras normales. Ej. Deformación del oligohidramnios.

1.3.3. Disrupción

Defecto morfológico o estructural de un órgano, parte de un órgano o una región del organismo, resultante de una interferencia en un proceso de desarrollo que originalmente era normal. Ej. Amioplastia congénita, disrupción de tejidos normalmente desarrollados por bandas amnióticas.

Si bien el concepto de deformación no ofrece dudas, en algunos casos puede no ser evidente la diferencia entre malformación y disrupción. El concepto de disrupción surge para explicar cuadros como los producidos por bridas amnióticas o por interrupciones en el aporte sanguíneo a una zona embrionaria determinada, pero si se es estricto con la definición, cualquier defecto congénito producido por la acción de un agente teratogénico, sea cual fuere su mecanismo patogénico, será una disrupción.

1.3.4. Variación

Desviación o fluctuación dentro de lo que se considera normal, es decir cambios que no comprometen ni la morfología, ni la función. Por ejemplo: nariz chata o aguileña; talla pequeña o talla alta.

1.3.5. Defecto

Es la imperfección o la falta de cualidades normales, es decir todo lo que se aparta de lo normal y de sus variaciones. Se refiere también a las desviaciones celulares o metabólicas que alteran la función. Ejemplos: el albinismo, la alcaptonuria.

1.3.6. Monstruosidad

Deformación insólita o grave, generalmente incompatible con la vida. Por ejemplo: acráneo, acardio, anencéfalo.

La frecuencia de las anomalías es mayor de la que se puede imaginar; se estima que las posibilidades de malformaciones en el recién nacido son de alrededor de 1 por cada 165. Esta incidencia es mucho mayor si se agregan las anomalías menores y alteraciones congénitas del metabolismo. Sin embargo, las estadísticas no son concordantes y dependen de muchos factores como los raciales, geográficos y ambientales, lo que ocasiona que mientras para algunos investigadores el número de anomalías congénitas al momento del nacimiento es de 1 por cada 165, para otros llegue a 1 por cada 44; y si a estas cifras se suman las halladas en los abortos, las posteriores al nacimiento y las que se presentan durante el desarrollo, las cifras se elevan al 7% y hasta el 14% (Cordero, 1975).

1.4. Entidades polimalformativas

Si se pudiese seguir todo el proceso patogénico, desde la acción del agente etiológico hasta la manifestación clínica, únicamente existiría un tipo de entidad malformativa: la secuencia. Se puede diferenciar dos tipos de secuencias: la monotrópica y la pleiotrópica, dependiendo de si la molécula, células o tejido alterado en primera instancia por la acción del agente causal presentan durante el período embrionario una acción local (en células, tejidos u órganos próximos entre sí), multifocal o espectro de acción.

Los cuadros con múltiples defectos congénitos pueden ser clasificados en alguna de las siguientes seis entidades polimalformativas que no son excluyentes entre sí:

1.4.1. Secuencias

Es el conjunto de cambios funcionales o defectos estructurales derivados de un único, conocido o supuesto factor mecánico, malformación. Es decir, se trata básicamente de un concepto patogénico.

1.4.2. Defectos de zona de desarrollo

Se definen como "regiones o partes del embrión que responden como una unidad coordinada a un fenómeno de interacción embrionaria, dando lugar a alteraciones múltiples que afectan diversas estructuras anatómicas". Según John Opitz las "zonas" son aquellas partes del embrión en las que el proceso de desarrollo está controlado y coordinado de una forma sincronizada en el tiempo y en el espacio. Ejemplos de estas zonas son el mesodermo axial, los arcos branquiales o la cresta neural.

1.4.3. Asociaciones de alta frecuencia

Presentación no debida al azar, en dos o más individuos, de múltiples anomalías no catalogadas como secuencia, síndrome o zona. Por lo tanto, es una combinación estadística de manifestaciones (no patogénica ni causal).

1.4.4. Espectros

Un espectro engloba patologías que anteriormente se consideraban de forma separada y que, probablemente, no representan más que distintas manifestaciones o diversos grados de severidad de un error común o similar durante el período de morfogénesis. Este hipotético error, que daría lugar a un proceso patogénico similar, puede tener etiologías diferentes.

1.4.5. Síndromes

De forma general se definen como un patrón de múltiples anomalías (malformaciones, disrupciones, deformidades) que afectan múltiples áreas del desarrollo, y que están relacionadas etiopatogénicamente. Su etiología puede ser:

1.4.5.1. Síndromes de etiología conocida

Incluye todos los cuadros clínicos en los que se ha podido identificar una causa:

a) Síndromes teratogénicos

El embrión ha estado expuesto a un agente teratogénico durante un período susceptible de la gestación.

b) Síndromes cromosómicos

Existe una alteración en el número o la forma de alguno de los cromosomas del producto de la gestación.

c) Síndromes génicos

Se detecta (análisis de ADN), deduce (análisis genealógico) o infiere (identificación clínica por similitud con casos publicados) una mutación génica.

1.4.5.2. Síndromes de etiología heterogénea

Se trata de entidades puramente clínicas. Este grupo y el siguiente contienen cuadros que se acercan mucho a la definición del diagnóstico.

1.4.5.3. Síndromes de etiología desconocida

Se trata de entidades clínicas. Cuando se tengan datos sobre su posible etiología pasarán a formar parte de alguno de los dos grupos anteriores de síndromes, dependiendo de si su etiología es común (síndromes de etiología conocida) o no puede asumirse que lo sea para todos los cuadros (síndromes de etiología heterogénea).

1.5. Polimalformados no encuadrables

En este grupo se incluyen a todos aquellos polimalformados que no pueden ser clasificados en ninguno de los grupos anteriores.

2. DIAGNÓSTICO GENÉTICO DE MALFORMACIONES

Ante un paciente con un cuadro de defectos congénitos solo hay una manera de intentar obtener un diagnóstico: acumular toda la información descriptiva necesaria, la misma que debe incluir datos sobre la historia familiar, la historia gestacional, la propia descripción pormenorizada del cuadro y los resultados de los análisis complementarios (cariotipo, necropsia, serología). Luego del proceso de diagnóstico, los hechos médicos disponibles son discutidos con el paciente y/o la familia, en el proceso del consejo genético, el cual debe ser no solamente retrospectivo, sino también prospectivo. Finalmente si el caso así lo requiere se hará la intervención terapéutica adecuada y el respectivo apoyo psicosocial.

Entre los estudios de malformaciones congénitas realizados en el Ecuador se puede citar el llevado a cabo en la maternidad del Hospital Docente San Vicente de Paúl, de la ciudad de Cuenca, cuyos datos fueron publicados en 1975. Durante los 15 años de recopilación de información se atendieron 3990 partos, se encontró mortalidad perinatal de 130 niños; 106 de ellos fueron necropsiados, de estos, 75 fueron mortinatos y 31 fallecieron durante los cinco primeros días de vida. En los 106 casos estudiados se encontraron 20 malformaciones, de las cuales, 13 fueron de importancia y 7 de menor significación, simples variaciones o malformaciones que no comprometían la función orgánica, por lo que fueron descartadas. Después de algunos análisis se llegó a la conclusión de que la hiponutrición y la anoxia fueron los dos factores etiológicos de mayor importancia.

Se conoce que en los países en desarrollo han nacido más de dos tercios de niños en el ámbito mundial. Si la incidencia de los defectos de nacimiento en estos países es al menos igual a aquella de los países industrializados, se puede estimar que al menos 3,3 millones de niños con defectos de nacimiento, nacen anualmente en los países en desarrollo. Por lo que es indispensable que los gobiernos, ONGs, y otras instituciones de salud, reconozcan la necesidad de establecer servicios integrados de genética, incluyendo vigilancia de defectos de nacimiento en todos los sistemas de cuidado de la salud (OMS/WAOPBD, 1999).

Con el objetivo de valorar el estado de los servicios de genética en los países en vías de desarrollo, la Organización Mundial de la Salud y la Alianza de las Organizaciones Mundiales para la Prevención de Defectos del Nacimiento (WAOPD) reunieron a un grupo de expertos en Genética Médica, quienes trabajan o están familiarizados con los problemas sociales, económicos y de salud de los países en desarrollo. Su propósito fue hacer recomendaciones para la futura implementación de programas, para el manejo y prevención de desórdenes genéticos y defectos del nacimiento en la atención primaria de salud y niveles comunitarios en dichos países (OMS/WAOPBD, 1999).

Este grupo de consultores recomendó que los ministerios de Salud de los países en desarrollo distribuyan recursos para los programas de Genética y establezcan una oficina de servicios genéticos dentro de su estructura administrativa, con el fin de determinar la existencia de desórdenes genéticos, defectos del nacimiento en la población y el estado de los programas existentes para su control. La investigación deber ser incentivada para proveer mejores datos de la predominancia y los tipos de defectos del nacimiento, enfermedades genéticas y predisposiciones a enfermedades comunes a nivel nacional. Adicionalmente, debe considerarse la información acerca del impacto que los desórdenes genéticos y los defectos del nacimiento tienen en los individuos, en su familia y en las comunidades. El currículo a nivel de pregrado debe modernizarse y la Genética debe incluirse en la formación médica. La educación en este aspecto debería comenzar en el colegio (OMS/WAOPBD, 1999).

En nuestra consulta de Genética Pediátrica se han evaluado 3584 personas con problemas genéticos y cromosómicos. Las 1924 alteraciones cromosómicas halladas forman parte del Registro Nacional Colaborativo de Alteraciones y Variantes Cromosómica Humanas (RNCAVCH) (Paz-y-Miño, 1993a), mientras que 513 alteraciones monogénicas, poligénicas o multifactoriales, divididas en los diferentes tipos de herencia, se las recoge en la Tabla II.6:

Tabla II.6. Alteraciones genéticas, cromosómicas y multifactoriales

Tipo de alteración en consulta genética	No. personas estudiadas
Alteraciones cromosómicas	1924
Enfermedades autosómicas dominantes	393
Enfermedades autosómicas recesivas	395
Enfermedades ligadas al sexo	191
Enfermedades multifactoriales o poligénicas	583
Enfermedades de origen ambiental	98
Total	3584

A continuación se detallan 1302 casos de síndromes y alteraciones cromosómicas hallados en la consulta genética por nuestro equipo de genetistas (Paz-y-Miño, 1993a). Del total de casos analizados en la consulta genética, 524 correspondieron a cromosomopatías, 22 presentaron estatura pequeña sin displasia esquelética, 23 con estatura moderadamente corta, 3 presentaron crecimiento acelerado con defectos asociados, 27 con cerebro inusual y hallazgos neuromusculares con defectos asociados, 69 presentaron defectos faciales con componente mayor, 11 tuvieron afección facial y de miembros como componente mayor, 19 tuvieron alteraciones de miembros como componente mayor, 16 se hallaron con osteocondrodisplasias, 7 con craniosinostosis, 22 presentaron enfermedades de depósito, 12 tuvieron alteraciones del tejido conectivo, 16 estuvieron con hamartosis, 5 con displasias ectodérmicas, 17 presentaron alteraciones debido a agentes ambientales, 35 presentaron síndromes misceláneos, 6 tuvieron alteraciones generales, 216 con anomalías varias, 250 pacientes presentaron dismorfías y polimalformaciones no tipificadas y 2 con síndromes misceláneos.

La agrupación sindrómica se ha conformado con base en las investigaciones de Smith (Smith, 1984) (Tabla II.7).

Tabla II.7. Alteración monogénica, poligénica, multifactorial y cromosómica

Alteraciones genéticas	Casos	Alteraciones genéticas	Casos
Cromosomopatías		Defectos faciales como componente mayor	
Trisomías (todos los tipos)	402	S. Blefarofimosis	3
Alteraciones estructurales	17	S. Pierre Robin	15
Monosomías	87	S. Blefarofimosis	3
X frágil o síndrome de Martin Bell	6	S. Pierre Robin	15
Triple X	4	Fisura labio-palatina	21
Otras alteraciones	8	Fisura palatina	6
		Displasia frontonasal	6
		Síndromes de primer arco Treacher Collins	
Estructura pequeña sin displasia esquelética	12		
S. Cornelia de Lange	2	Afección facial y de miembros como componente mayor	
S. Rubinstein-Taybi	2	S. Oto-palato-digital	1
S. Russel-Silver	1	S. Trico-rino-falange	3
S. Dubowitz	1	S. Oculo-rino-falange	1
S. Bloom	1	Displasia ectodérmica	1
S. Johanson-Bizzard	3	S. Roberts	3
S. Seckel		S. Townes	2
Estructura moderadamente corta, facial +/- genital	3	Alteraciones de miembros como componente mayor	
S. Smith-Limli-Optiz	2	S. Poland y cardio-digital	19
S. Williams	18		
S. Noonan		Craniosintostosis	
Crecimiento acelerado con defectos asociados		S. Carpenter	1
S. Sotos	2	S. Kleeblattschädel	1
S. Beckwith-Wiedemann	1	S. Crouzon	5
Cerebro inusual		Enfermedades de depósito	
S. Artrogriposis distal	4	Gangliosidosis tipo 1	1
S. Pena-Shokeir II	3	Mucopolidosis tipo II	7
Hidrocefalia ligada al sexo	10	Mucopolisacaridosis tipo II	9
S. Prader Willi	10	Mucopolisacaridosis tipo IV	5

Tabla II.7. Alteración monogénica, poligénica, multifactorial y cromosómica (continuación)

Alteraciones genéticas	Casos	Alteraciones genéticas	Casos
Osteocondrodisplasias		Holoprocencefalia	9
Displasia tanatofórica	2	Mielomeningocele	9
Displasia torácica asfixiante	1	S. Klippel-Feil	4
Acondroplasia	9	Onfalocele	7
Displasia metatrófica	2	Vater y Charge	4
Ellis-Van Creveld	1		
Hipofosfatemia	1	Alteraciones generales	
		Ruptura de amnios (S. bridas amnióticas)	4
Alteraciones del tejido conectivo		S. Facio-aurículo-ventral y alteración facial-miembro	2
S. Marfan y Ehlers-Danlons	12		
		Anormalidades varias	
Hamartosis		Indiferenciación sexual (genitales ambiguos)	60
Sturge Weber	1	Microsomía hemifacial	6
Esclerosis tuberosa	4	Anencefalia, microcefalia y macrocefalia	17
Neurofibromatosis	9	Microtia	20
S. Peutz-Jeghers	2	Retinoblastoma	20
		Fibrosis quística del páncreas	20
Displasias ectodérmicas		Metaboloopatías (no tipificadas)	30
Displasia ectodérmica hipohidrótica	5	Distrofias musculares	17
		S. Norrie, Saethre-Chotzen y Fraser	4
Agentes ambientales		Atrofia muscular infantil (Werdning-Hoffmann)	2
S. rubeola congénita	5	Ataxia de Friederich	6
S. toxoplasmosis congénita	6	Retinitis pigmentosa	4
S. alcoholismo fetal	5	Freman Sheldon	1
S. sífilis congénita	1	Polidactilia postaxial	9
		Dismorfías y polimorfismos no tipificados	
Síndromes misceláneos		Polimorfismos, dismorfías y retardo mental	250
S. Laurence-moon-bield	1		
S. cerebro-costo-mandibular	1		
(S.) Síndromes		TOTAL	1302

3

CONCEPTOS BÁSICOS DE LA GENÉTICA MOLECULAR





ā[[\ • { √āæ[• ē! *

CAPÍTULO III

CONCEPTOS BÁSICOS DE LA GENÉTICA MOLECULAR

Desde el descubrimiento de la célula por Hooke, en 1666, el desarrollo científico en muchas áreas no ha tenido la celeridad deseada. El caso de la Genética es especial. En sus primeros momentos tuvo un avance lento, pero actualmente la avalancha de datos es tan espectacular, que no existe área alguna de la Biomedicina, en la que los conceptos y conocimientos de esta ciencia dejen de influir. Se la considera la ciencia del siglo XXI, pero por lo poco conocida crea muchos recelos y dudas en los no entendidos, lo cual determina una interesante discusión bioética e ideológica (Borgaonkar, 1987).

La actividad de la Genética se ubica en al menos tres áreas claras: genética cualitativa o herencia discontinua, caracterizada porque el efecto individual de los genes es discernible (todo o nada), los caracteres son de clase (se manifiestan o no), las variantes fenotípicas son discretas entre los individuos afectados y, sobre todo, se conocen los patrones hereditarios y su comportamiento matemático preciso (herencia autosómica dominante, recesiva o ligada al sexo) (Baraitser & Winter, 1983). La Genética cuantitativa o herencia continua presenta características que coordinadamente permiten identificar el patrón hereditario poligénico o también llamado multifactorial; aquí el efecto de los genes individualizados no es discernible pues existe un enmascaramiento ambiental y se habla de un efecto sumatorio de genes, con un efecto umbral en la manifestación o no del fenotipo. Los caracteres que producen estos poligenes son de grado (desde alto, pasando por medio y llegando a bajo), es decir, que la variación fenotípica puede ser espectral. Los patrones hereditarios no son típicos ni matemáticamente demostrables y más bien se desprenden de la experiencia, y aun los riesgos de recurrencia de las patologías son empíricos. La última área se enmarca en la llamada herencia atípica o no mendeliana, en la cual se presentan transmisiones de los caracteres en forma especial. Aquí se encuentra la impresión génica, la herencia mitocondrial y un fenómeno especial de inclusión o exclusión de genes aledaños a genes principales, que constituyen los genes contiguos. El comprender uno u otro tipo de herencia se fundamenta en el entendimiento del material de la herencia, el ADN, su organización y funciones (Ayala & Kiger, 1984).

En el proceso de comprensión del ADN y sus complicadas funciones, transcurren 199 años desde que Hooke descubre la célula y Mendel describe las leyes de la herencia, y sólo 45 años más para que Tschermak, De Vries y Correns redescubran dichas leyes y se reconozca su revolucionario significado. En adelante, la descripción de enfermedades genéticas y sus patrones hereditarios cobraron importancia (Egozcue et al., 1987).

Hacia 1953, Watson, Crick y Wilkins postularon la estructura en doble cadena del material hereditario (ADN), donde se almacena la información genética. A inicios de la década de los setenta se conocían los fundamentos de la Genética Molecular de procariontes, en especial de la *Escherichia coli* y del fago lambda. La secuencia de bases en el ADN de estos microorganismos es colineal y casi la totalidad codifica para proteínas. El ADN de los distintos organismos varía en su cantidad y tamaño, y normalmente es mayor mientras más alta es la escala evolutiva. El ADN humano contiene aproximadamente 3×10^9 pares de bases (pb) y se estima que existen unos

23000 genes de tamaños diversos entre 1000 y 200000 pb nitrogenadas (Krebs et al., 2009).

Adicionalmente, la posibilidad de variación de la información genética humana es extremadamente amplia; no existen individuos iguales y ni siquiera los posibles clones son exactamente iguales. La mezcla de 23 cromosomas de origen paterno y 23 maternos durante la fecundación, asegura una variabilidad de 2×10^{23} ; más aún, la variabilidad aumenta si se considera que los 46 cromosomas humanos contienen veinte mil millones de bits de información; es decir, unos cuatro mil volúmenes de quinientas páginas, lo que equivaldría a unas quinientas millones de palabras; de ahí que la información genética del hombre sea asombrosamente enorme. Pero esta aparente y gran variación de la información hereditaria no es muy real, más bien tiende a mantenerse estable en toda la especie y los cambios (mutaciones genéticas) se presentan en proporciones muy bajas (1×10^{-8}), y cuando aparecen, se producen enfermedades genéticas (8000 conocidas). Entre los seres humanos existen pequeñas variaciones que provienen de diferencias en su material de la herencia, llamadas polimorfismos genéticos, pero que no atentan contra la uniformidad e igualdad de la especie y que han ayudado a comprender algunos fenómenos humanos interesantes, como riesgos de predisposición, resistencia y desarrollo de enfermedades. Los datos del genoma humano dan cuenta de que la información genética es parecida en población caucasoide, negroide, asiática e hispana. Esta información difiere en algo menos al 1% y con seguridad ello se debe a polimorfismos que posiblemente determinan las diferencias interétnicas. Recordemos que los polimorfismos genéticos se presentan por variación en la última base nitrogenada de los nucleótidos del código genético o por repeticiones de nucleótidos, las cuales pueden ser evaluadas a través de estudios moleculares del ADN (Krebs et al., 2009).

El 90% del ADN está concentrado en el núcleo, el resto corresponde al ADN mitocondrial. El ADN nuclear es una doble cadena de desoxirribosa, fósforo y bases nitrogenadas, purinas (adenina, guanina) y pirimidinas (citosina, timina), apareadas en forma de escalera (A-T y G-C), con una orientación eléctrica antiparalela 5'-3' y 3'-5' originada en los enlaces de los carbonos de la desoxirribosa con el fósforo. La unión A-T es de dos enlaces químicos, mientras que la unión C-G es de tres, lo que confiere al ADN diferentes propiedades citogenéticas. Se conoce que la eucromatina es funcional y rica en C-G, además, sus triples enlaces dificultan la entrada de colorantes, por lo que no se tiñe, en cambio la heterocromatina es no funcional, rica en A-T y se colorea. Esta generalización es aplicable a los cromosomas metafásicos bandeados, en los cuales las bandas claras o reversas (R) serán eucromatina rica en genes activos y las bandas oscuras (G o Q) heterocromatina rica en genes inactivos (Alberts et al., 2002). La estructura del ADN se detalla en la Figura III.1.

1. ENROLLAMIENTO DEL ADN

El ADN es una molécula tridimensional en la cual los nucleótidos (base-fósforo-azúcar), dispuestos a manera de escalera, se autoenrollan sobre sí mismos en forma antiparalela. Esta descripción corresponde a la forma B que tiene 10 pb por vuelta. Existen algunas alomorfias dextrógiras y levógiras de ADN, sean *in vitro* o *in vivo*. La forma Z es súper enrollada, presenta 12 pb por vuelta y tiene un giro hacia la izquierda. La forma relajada es la A y tiene 11 pb por vuelta. Al parecer, las formas espaciales,

tienen que ver con el estado de función del mismo, así: si la porción súper relajada replica sus zonas aledañas, se presentan súper enrolladas; además, la conformación del ADN en Z lo protege. Se ha descrito una conformación especial en triple cadena o pares de Hoogsteen (H-ADN), formada por polipirimidinas y polipurinas. Esta estructuración poco estudiada se la encuentra *in vivo*, en momentos en que la replicación del ADN está bloqueada (Lodish et al., 2008).

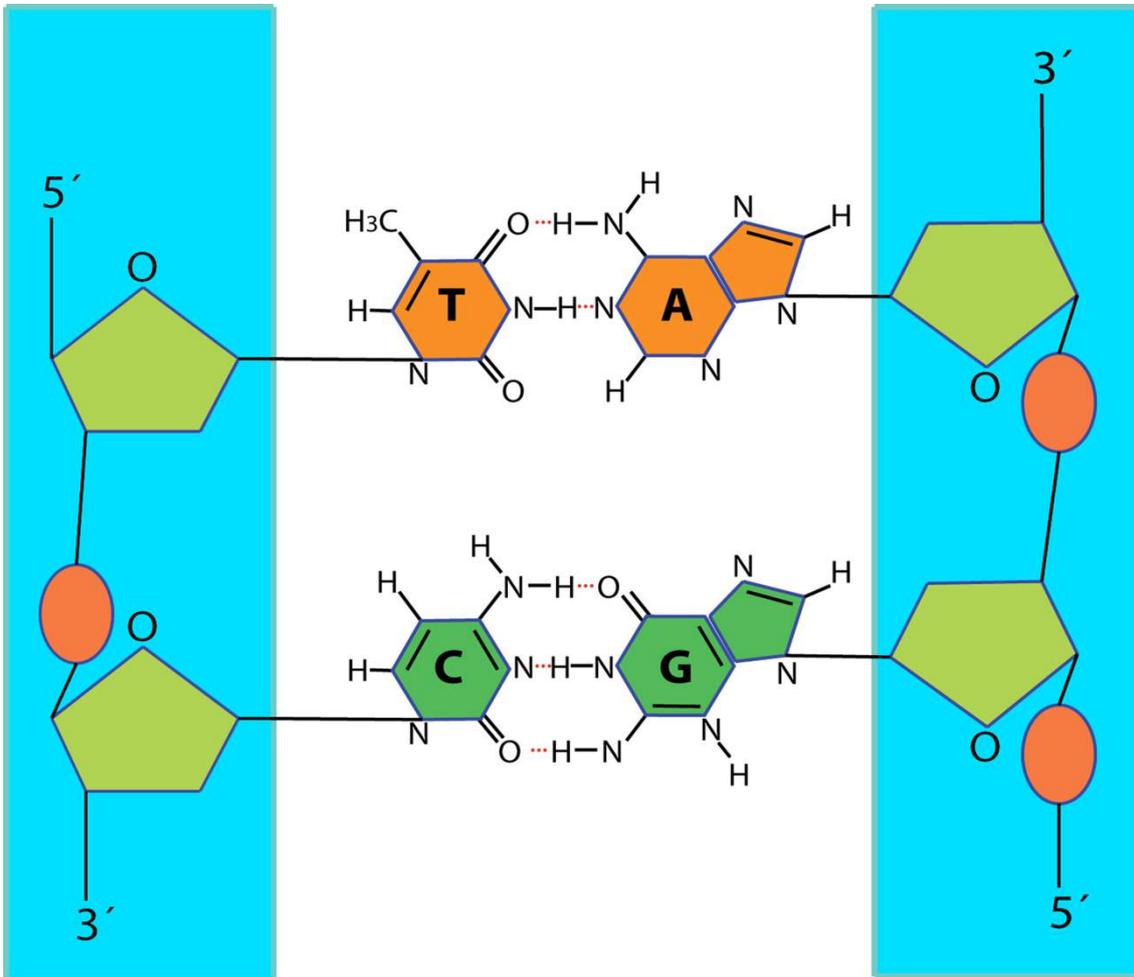


FIGURA III.1. ESTRUCTURA DEL ADN. Material genético conformado por un grupo fosfato, un azúcar y una base nitrogenada (Modificado de Lodish et al., 2008; IIB, 2014).

2. TIPOS DE ADN PRESENTES EN EL GENOMA HUMANO

El ADN está constituido por secuencias, que luego de ser desnaturalizadas al calor y renaturalizadas, presentan diferente velocidad de reasociación. Mientras más compleja la secuencia menor velocidad; así, las secuencias ricas en adenina y timina renaturalizan más rápidamente que las ricas en guanina y citosina. La reasociación se observa que es muy lenta en secuencias grandes y con una sola representación, mientras otras secuencias se reasocian muy rápido por tener fracciones cortas, pero repetidas muchas veces en el genoma.

De acuerdo con esto, el ADN se clasifica en:

2.1. ADN de secuencias únicas

El 30-50% del total de ADN codifica proteínas estructurales y está presente una sola vez en todo el genoma, mientras que el 10% lo constituyen los genes estructurales y el ADN espaciador intergénico.

2.2. ADN de secuencias repetidas

Formado por duplicación de genes en la evolución y se subclasifica en:

2.2.1. ADN de secuencias moderadamente repetitivas

Integra del 24 al 40% del genoma. Encargado de formar, en grandes cantidades de productos como ADN ribosómico (ADNr), ADN de transferencia (ADNt), ADN para proteínas histonas (ADNh), y ADN para producción de anticuerpos (ADNa). Estas secuencias están presentes entre 10 a 300000 copias en el genoma y pueden estar dispersas o agrupadas.

El ADN moderadamente repetitivo lo constituyen también secuencias dispersas en el genoma, que pueden variar de una generación a otra y muchos de estos no transcriben y si lo hacen es para producir sustancias útiles para su propia movilidad; entre éstos están:

2.2.1.1. Retrotransposones

Las secuencias repetidas dispersas largas (LINEs) entre 10 mil y 50 mil copias de 1 a 3 Mb, pueden producir enfermedades humanas por integrarse en algún gen. Retrotransposones, como las secuencias repetidas dispersas cortas (SINEs), presentan de 70 a 300 pb repetidas hasta unas 100 mil veces. La familia Alu proporciona un buen ejemplo; constituye el 3% del genoma y consiste en un grupo de 300 pb repetidas unas 300 mil veces a lo largo del genoma; su función ha sido relacionada con la producción de proteínas de membrana.

2.2.1.2. Transposones

En eucariontes, incluido el hombre, se ha descrito los transposones tipo I y II. Los de tipo I son similares a retrovirus pero no encapsulan y no tienen una fase de vida extracelular. También se encuentran genes que producen retrotranscriptasa y difieren de los retrovirus, por lo que se los llama no retrovirales. Los tipo II, codifican de ADN a ADN con repeticiones inversas en los extremos del gen; se presentan en especies diferentes a la humana.

2.2.1.3. ADN telomérico

Ubicado en los telómeros de los cromosomas, está formado por secuencias en tándem de 6 a 10 pb con 250 a 2000 repeticiones. Puede disminuir con la edad de la célula. Los telómeros confieren estabilidad a los cromosomas, protegiéndolos de fusiones y degradaciones. Se ha observado que algunos procesos malignos presentan asociaciones teloméricas, lo que significa una mayor inestabilidad del genoma

cancerígeno. El estudio de los telómeros o de las secuencias teloméricas podría servir para evaluar riesgos de desarrollo, progresión o comportamiento del cáncer.

2.2.1.4. ADN minisatélite

Son secuencias cortas de 9 a 64 pb, ricas en G-C repetidas en tándem (una tras otra) entre 0,1 a 20 Kb (al menos cuatro copias); están dispersas por todo el genoma. Son de gran interés, ya que son repeticiones de gran variedad alélica en los cromosomas y presentan altas diferencias interindividuales, por lo que constituyen regiones hipervariables, posiblemente involucradas en recombinaciones. Su utilidad radica en su alta especificidad para identificación humana.

2.2.2. ADN de secuencias altamente repetidas

Comprende el 10% del genoma y está formado por secuencias que no se transcriben, pudiendo repetirse cientos, miles o millones de veces. Las repeticiones presentan 4 a 8 pb, una a continuación de otra en tándem. Son frecuentes tanto en los cromosomas 1, 9, 16 e Y, como en los centrómeros y telómeros; se les conoce también como ADN satélite, que se localizan en lugares concretos del genoma, y así forman los centrómeros de los cromosomas y ADN espaciador rico en G y C.

3. HÉLICE G-CUÁDRUPLE DEL ADN

En enero del 2013, Shakar Balasubramanian del Departamento de Química y Giulia Biffi del *Cancer Research UK*, ambos de la Universidad de Cambridge, publicaron una investigación en *Nature Chemistry*, relacionada al descubrimiento de una estructura G-cuádruple del ADN en células humanas. Se logró comprobar la existencia de una estructura G-cuádruple en células cancerígenas de la especie humana. La estructura G-cuádruple del ADN está conformada por dos o más G-tetraedros que se forman cuando cuatro guaninas se conectan mediante los enlaces de hidrógeno denominados enlaces Hoogsteen (Figura III.2). Esta estructura se asocia con aspectos importantes de la función del genoma. Los análisis computacionales comprueban la presencia de patrones de estructura cuádruple en regiones reguladoras importantes del genoma humano como son los promotores, genes y regiones no codificantes. A nivel cromosómico, la estructura G-cuádruple puede estar envuelta en mantener la estabilidad cromosómica debido a que se la ha ubicado en las regiones teloméricas. En este estudio se diseñó un anticuerpo específico (BG4) que se enlaza a la estructura G-cuádruple del ADN genómico de las células humanas con alta sensibilidad y baja afinidad nanomolar. Además, se caracterizó la relación entre la fase S del ciclo celular y la formación de estructuras cuádruples (Biffi et al., 2013).

La importancia de este estudio, además de comprobar visualmente la presencia de estas estructuras en el ADN de células humanas, es la de generar ligandos terapéuticos que controlen la formación de las estructuras G-cuádruples y así controlar de raíz la posible replicación de células cancerígenas. Las células cancerígenas con hélice cuádruple en su ADN pueden estar presentes cuando la célula tiene cierto genotipo o estado disfuncional, y el atacarlas con moléculas sintéticas podría ser una vía interesante de tratar de forma selectiva este tipo de células con alto potencial dañino. Es

por ello que las empresas farmacéuticas deben llevar estas moléculas a sus metas de investigación y así desarrollar objetivos terapéuticamente viables (Biffi et al., 2013).

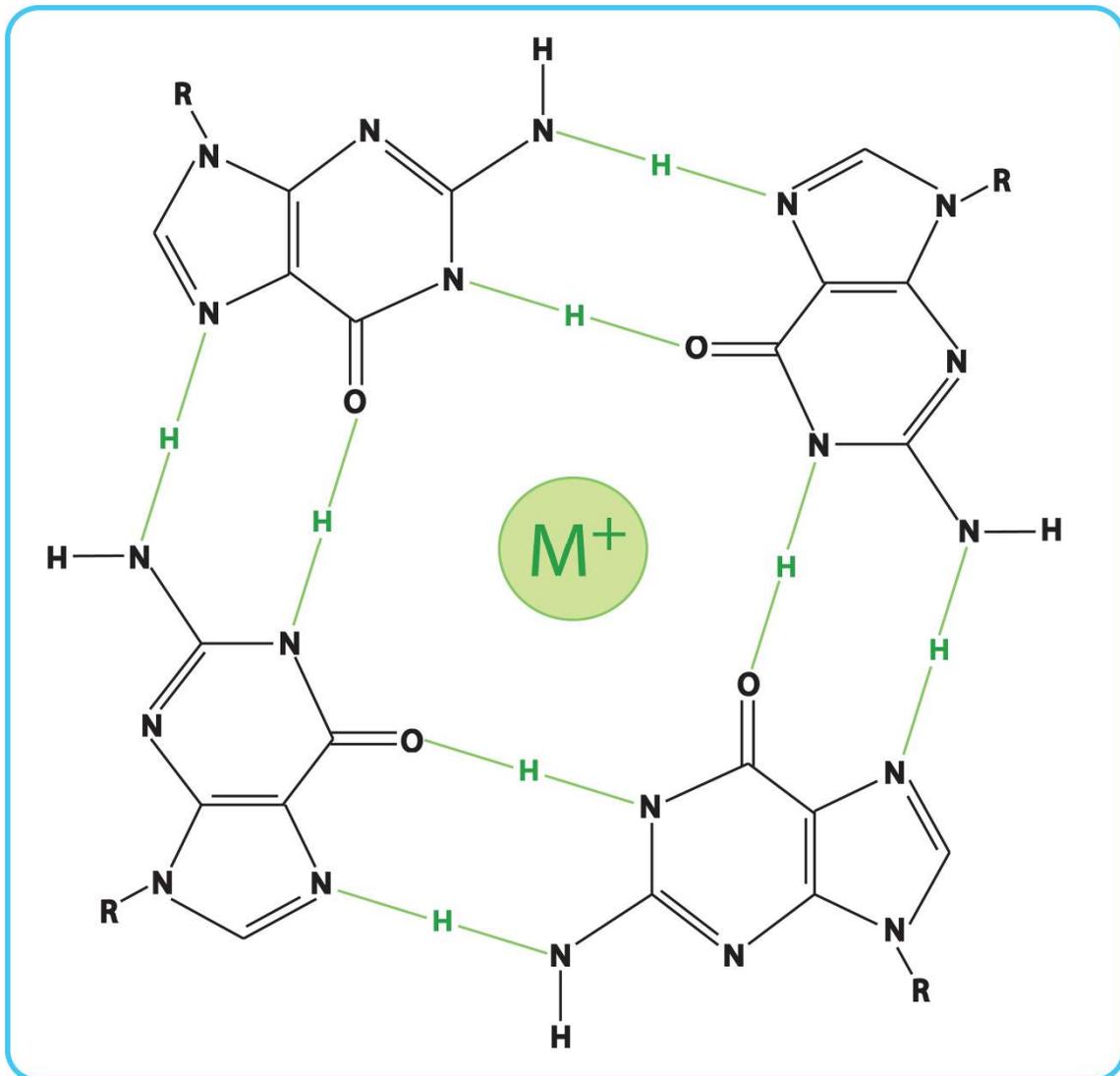
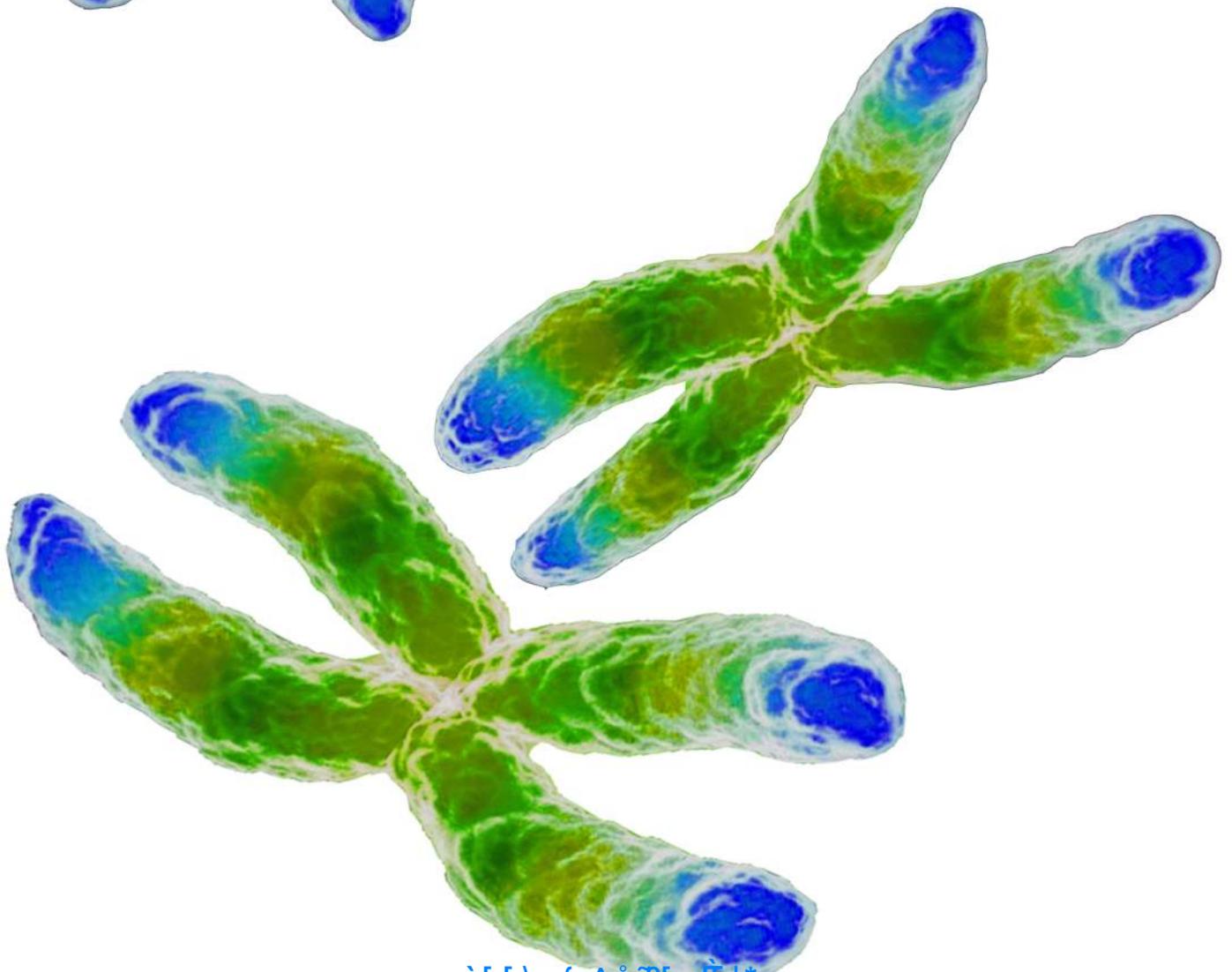
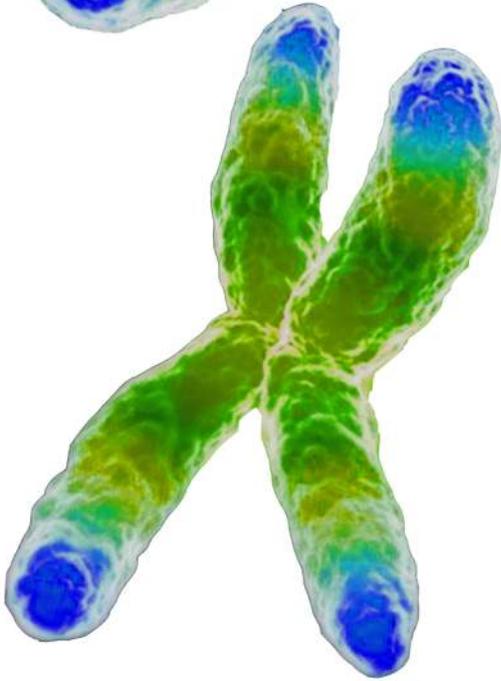
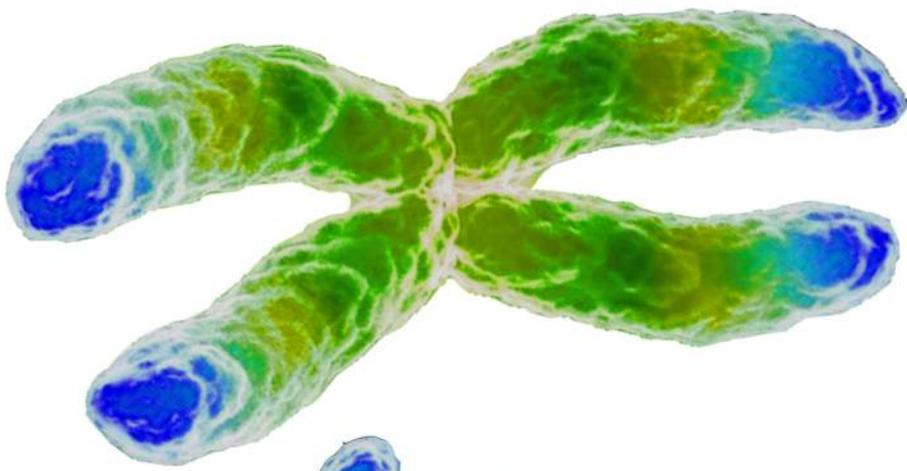
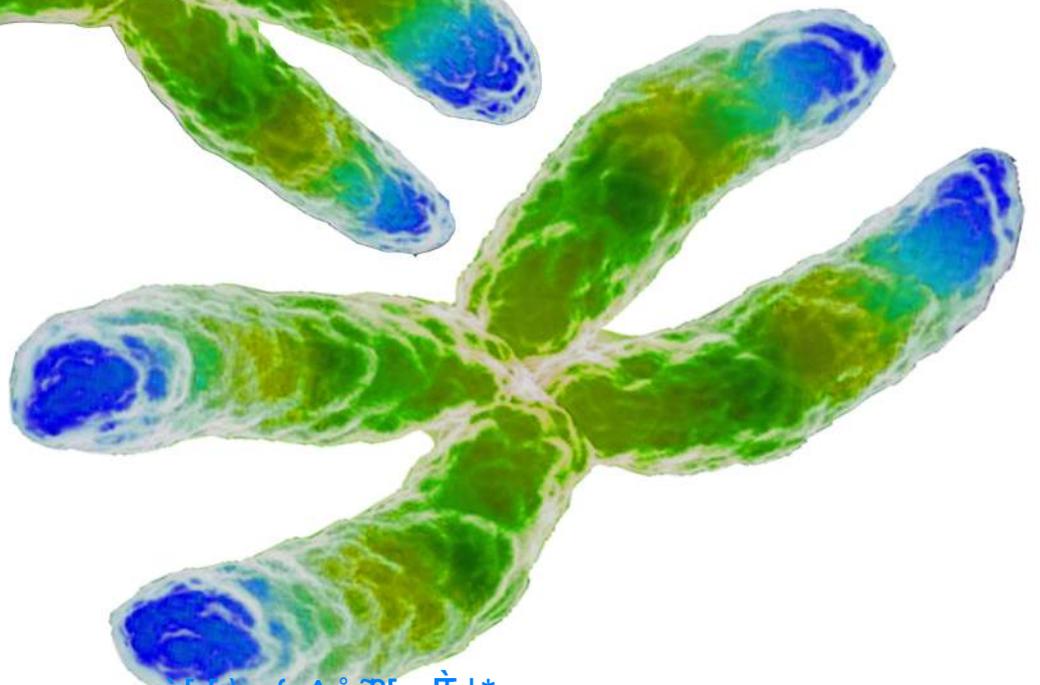
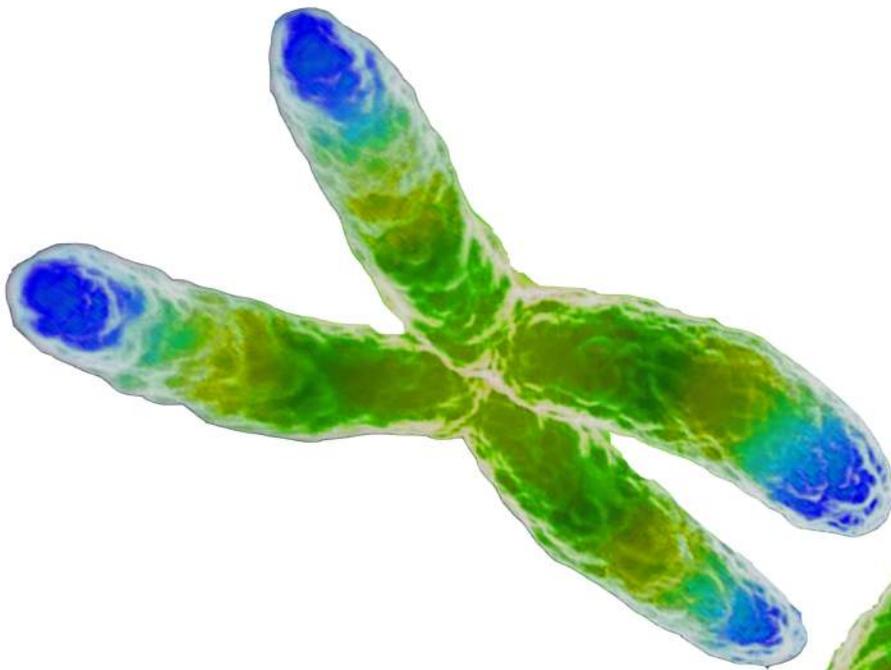
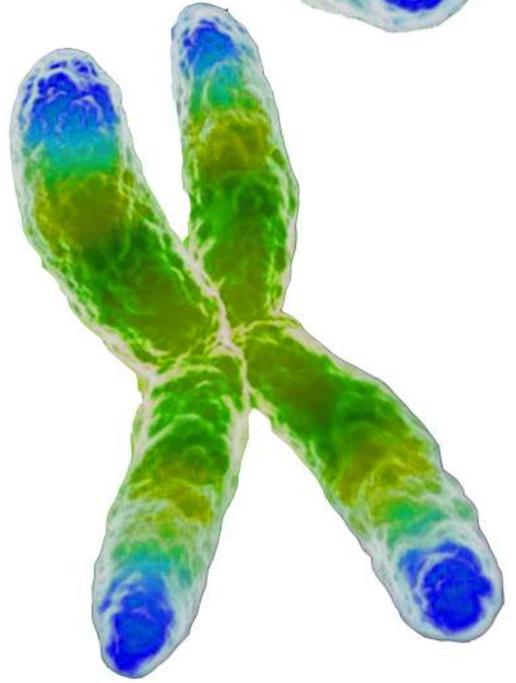
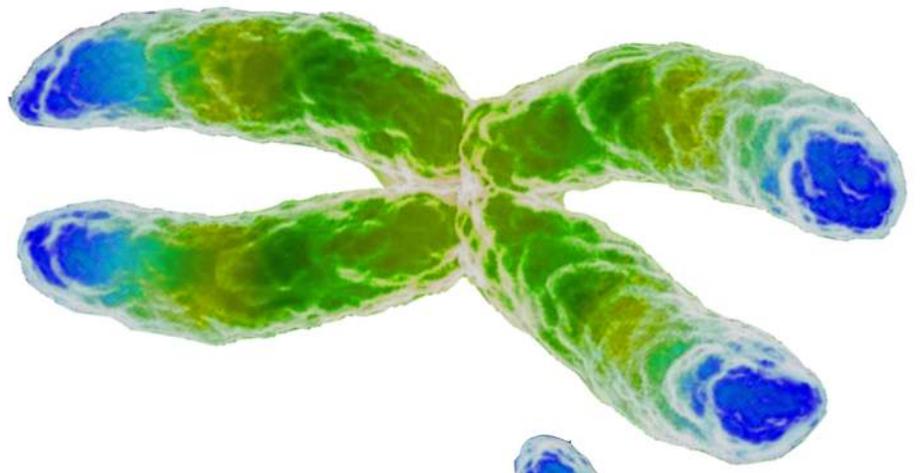


FIGURA III.2. ESTRUCTURA G-CUÁDRUPLE DEL ADN. Complementaridad de guaninas en las células cancerígenas humanas y su catión monovalente M^+ (Ej: Sodio, potasio) (Modificado de Biffi et al., 2013; IIB, 2014).

4

POBLACIÓN DE RIESGO GENÉTICO





CAPÍTULO IV

POBLACIÓN DE RIESGO GENÉTICO

En toda población humana existe una determinada frecuencia de enfermedades genéticas y cromosómicas. Por ejemplo, la hemofilia tiene una frecuencia mundial de 1/2500 nacidos vivos (nv), el síndrome de Down de 1/650 nv, el síndrome de Martin Bell o X frágil de 1,8/1000 varones con retraso mental. Esta frecuencia de afectos en las poblaciones de recién nacidos está más o menos establecida para cada región. En las regiones donde no existen datos, se maneja la llamada frecuencia esperada de la enfermedad, es decir los datos empíricos extraídos del número de enfermos espontáneos o esporádicos afectos de una patología en una población específica (OMIM, 2013). Los casos esporádicos que se presentan, se considera que se deben a mutaciones espontáneas o neomutaciones. Una de las explicaciones biofísicas sobre este tipo de mutaciones podría resumirse en el efecto muón o mesón mu, según el cual se produce una mutación cuando partículas cósmicas de radiación que se desplazan a velocidades vertiginosas y que están sometidas al efecto físico de la relatividad, específicamente a la dilatación del tiempo, chocan con las moléculas del ADN produciéndole una alteración. La radiación cósmica en calidad de protones choca con el aire de la atmósfera formándose los mesones piones o mesones pi, que luego se desintegran en mesones mu, que son los que alcanzan la superficie de la tierra y afectan a las especies, influenciando en su evolución y en el apareamiento de patologías a través de los cambios que provocarían en el ADN (Bernstein, 2011).

1. MUTACIONES

Son cambios del material genético heredable, no debido a segregación o recombinación genética. Estas pueden ser:

1.1. Mutación somática

Afecta a todo el soma individual, no se transmite por herencia, se produce en etapas postcigóticas y da como resultado mosaicismos y quimeras.

1.2. Mutación germinal

Afecta a los gametos y se transmite a la descendencia, causando las enfermedades genéticas o cromosómicas.

2. NIVELES DE PRESENCIA DE MUTACIONES

Las mutaciones pueden afectar a los niveles genómico, cromosómico y genético.

2.1. Mutación genómica

Mutación de todo el genoma o juego cromosómico completo, sea en conjunto provocando una duplicación completa de todo el ADN (poliploidía $2n + n$ ó $2n + 2n$), o

afectando el material genético concentrado en un cromosoma, produciendo ganancias o pérdidas de cromosomas individuales (aneuploidía).

2.2. Mutación cromosómica

Afectación de un segmento cromosómico con implicación de más de un gen; dan como resultado alteraciones estructurales (trisomías o monosomías parciales, duplicaciones, deleciones, translocaciones).

2.3. Mutación genética

Afecta a un gen o una parte del mismo, provocando cambios en su producto final. Las mutaciones genéticas son la base de muchas enfermedades humanas. Mutaciones de un solo gen han sido descritas aproximadamente en ocho mil enfermedades. De estas, en tres mil se conoce la posición del gen en el genoma y sólo de mil se tiene diagnóstico. Las mutaciones de un solo gen se producen por deleciones, duplicaciones, transposiciones, inserciones, etc., pero el resultado final de la mutación se la puede resumir en cuatro manifestaciones:

2.3.1. Mutaciones sin sentido

Es aquella en que se produce un codón de parada y el producto termina abruptamente. Conocida también como mutación *nonsense*.

2.3.2. Mutación por pérdida del sentido

Es en la que se produce el cambio de un aminoácido por otro, en muchos casos el producto existe, aunque es defectuoso, por ejemplo en las hemoglobinopatías. Conocida también como mutación *missense*.

2.3.3. Mutación por corrimiento de la lectura

Desaparece el codón de parada del gen o este es desplazado por repeticiones de secciones, por lo que se producen productos extensos con o sin función alterada. Es conocido también como mutación *frameshift*.

2.3.4. Mutación silenciosa

Un mismo aminoácido puede ser codificado por uno o varios codones, la variación en la tercera letra del codón y que no altera la lectura del aminoácido, se puede considerar una mutación silenciosa. Muchos genes o secuencias genéticas tienen cambios de un solo nucleótido sin alterar la esencia del gen, también estos cambios se los llama variantes o polimorfismos genéticos. Aunque por mucho tiempo no se los ha considerado alteraciones propiamente dichas, en la actualidad existe evidencia de que estos cambios estarían asociados al desarrollo de enfermedades, como el cáncer en particular, o al comportamiento o evolución de una enfermedad ya instaurada. Los polimorfismos de un solo nucleótido o SNPs, también son la base de la evolución humana y de las variantes genotípicas y fenotípicas que manifiestan las poblaciones (Nussbaum et al., 2008).

En general, existen agentes físicos, químicos y biológicos que producen alteraciones del ADN, denominados clastógenos. Los clastógenos más importantes son los agentes químicos producto de sustancias médicas, aditivos o derivados alimenticios, pesticidas, productos fotodinámicos, metales y solventes inorgánicos, que se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente. Según los informes de la Comisión Internacional para la Protección Contra Mutágenos y Cancerígenos Ambientales, existen unos 946 elementos químicos que han sido estudiados en laboratorios de genética y, tras su evaluación, se ha comprobado que son agentes clastógenos (ICPEMC, 2005).

Los agentes clastógenos inducen varios tipos de alteraciones genéticas y cromosómicas: activación de oncogenes, pérdida de antioncogenes, espaciado de las cromátides, roturas cromosómicas, figuras, intercambio de cromátides hermanas y asociaciones cromosómicas, entre las más importantes. Los agentes clastógenos que producen daños inespecíficos del ADN se denominan genotóxicos, otro tipo de agentes que provocan un cambio claro en el material genético, en muchos casos específicos, se los denomina mutagénicos y dentro de estos están los carcinógenos. Los agentes clastógenos pueden tener una actividad aguda con efectos graves (intoxicaciones o muerte); pueden actuar lentamente produciendo su acción por exposición crónica persistente (enfermedades degenerativas); o, finalmente se manifiestan desencadenando problemas malformativos o genéticos; se los llama teratógenos, cuando su exposición es en dosis bajas, sea por cortos o largos períodos.

Además de la gran cantidad de agentes químicos con efecto genotóxico o mutagénico, como son los desechos industriales, materiales de uso cotidiano para la construcción (asbesto, plomo, pegamentos, entre otros), hidrocarburos (gasolina, pegas, cosméticos), alimentos enlatados, fertilizantes, pesticidas, insecticidas, fármacos, entre otros, existen igualmente agentes físicos genotóxicos y mutagénicos como los rayos ultravioleta, la radiación ionizante y los rayos X, o los flujos electromagnéticos y el aumento de la temperatura de la biósfera. Así mismo, se han detectado algunos agentes biológicos implicados en genotoxicidad y mutagénesis (virus, parásitos intracelulares, entre otros) (Paz-y-Miño et al., 2008a; Paz-y-Miño & López-Cortés, 2011; Henkler & Luch, 2011).

3. TERATÓGENOS

En uno u otro sentido, en los acápites anteriores se ha tratado sobre los procesos que aumentan la frecuencia de mutaciones espontáneas. Interesa revisar las mutaciones inducidas, como causa de malformaciones y fenocopias o subnormalidad. Existen cuatro categorías de teratógenos o factores de mutaciones inducidas:

- a) Físicos.
- b) Biológicos.
- c) Químicos, fármacos y drogas.
- d) Ecológico, intrauterino y materno.

Los factores teratogénos que producen fenocopias o síndromes similares a los genéticos o cromosómicos, pueden producir su efecto morfogenético por cuatro fenómenos:

- a) Muerte celular.
- b) Falla del crecimiento celular.
- c) Falla en la migración celular.
- d) Errores en la diferenciación celular.

Un factor es teratogénico o inductor de mutaciones si produce:

- a) Infertilidad o pérdida fetal.
- b) Desarrollo prenatal deficiente.
- c) Alteración de la morfogénesis.
- d) Alteración del desarrollo y conformación del sistema nervioso.
- e) Carcinogénesis.

Para que un factor produzca teratogenicidad o induzca una mutación, debe actuar con ciertas características: considerable dosis y tiempo de exposición, susceptibilidad individual e interacción con otros agentes. A continuación se revisarán los principales teratogénos:

3.1. Teratogénos físicos

Existen varios teratogénos físicos como la radiación, el calor térmico y los efectos mecánicos por compresión o presión.

3.1.1. Radiaciones ionizantes

Producirán efecto dependiendo de la influencia directa o no sobre los genes, cromosomas o procesos fisiológicos. Se ha visto que las radiaciones naturales solo incrementan la razón normal de mutación, mientras que las artificiales pueden tener efecto directo en la célula, según la dosis sea aguda o acumulada. En los individuos que trabajan con rayos X o están expuestos a ellos, no se ha visto un cambio celular importante cuando están bien controlados y protegidos. Dosis altas de radiación producirán efecto solo si "impactan certeramente" en un punto de mutación (gen o cromosoma caliente).

A nivel génico, una unidad de radián (Rad) aumenta la constante de mutación por gameto en 10^{-8} , y se elevan en 0,7% las alteraciones autosómicas dominantes, en 0,25 las autosómicas recesivas y en 0,05 las recesivas ligadas al sexo. A nivel citogenético se pueden producir aglutinaciones cromosómicas en mitosis, roturas, deleciones o fusiones, sea en una cromátide o en todo el cromosoma. La misma dosis (1

Rad) aumenta en 5% las translocaciones desbalanceadas, y en 0,6% las trisomías y la monosomía del X (síndrome de Turner). Por último, a nivel fisiológico, se alteran procesos enzimáticos, migraciones celulares y puede ocurrir muerte celular, dando como resultado malformaciones (Muñoz et al., 2008).

Pese a los datos acumulados sobre los efectos mutantes de las radiaciones, estos han sido obtenidos, en su mayoría, de hechos accidentales o violentos en los que la población humana ha sido expuesta a la radiación o, en su defecto, los efectos han sido estudiados en animales o cultivos celulares y extrapolados al hombre. Los datos más confiables han sido extraídos de sobrevivientes de las bombas atómicas en Japón, durante la Segunda Guerra Mundial; se vio entonces que toda mujer con embarazo menor a las 15 semanas y que recibió una dosis de radiación de 0,8 Gy (Gray), tuvo hijos con microcefalia y retardo mental; un pequeño porcentaje de los embarazos presentaron leves malformaciones cuando la dosis varió entre 0,01 y 0,1 Gy; con una dosis inferior a 0,01 Gy, ningún embarazo presentó anomalías. Desde el punto de vista médico, el efecto patogénico de las radiaciones sobre la descendencia ha sido cuestionado. Un estudio de 2000 mujeres embarazadas que han recibido radiaciones demuestran que con una dosis inferior a 0,01 Gy (Gray), promedio de 12 radiografías de diferentes regiones del cuerpo, el índice de malformaciones no subió significativamente en comparación con el de la población general (de 0,1 a 0,6 veces más). Por esto, el manejo del asesoramiento genético frente a una exposición a radiación durante el embarazo, tiende en la actualidad a restar importancia a este factor como teratógeno. De todas maneras, muchos autores sostienen, con buenos criterios, que es preferible evitar las radiaciones al máximo posible durante el embarazo y aún más entre 8 a 12 semanas previas a la concepción, ya que las radiaciones afectarían a las células en las últimas fases de la meiosis o mitosis, especialmente a las células "madres". El efecto acumulativo de las radiaciones produce: teratogenicidad, mutagénesis y carcinogénesis (Díaz-Valecillos et al., 2004; Muñoz et al., 2008).

3.1.2. Radiaciones no ionizantes

Los rayos ultravioleta producen alteraciones en plantas, granos y cultivos celulares *in vitro*. Por su bajo poder de penetración *in vivo*, en el hombre no se han comprobado efectos mutantes teratógenos; sí, en cambio, a nivel somático, en el que se los relaciona con la etiología del cáncer de piel (Everall & Dowd, 1978).

3.1.3. Otros teratógenos físicos

El calor térmico de saunas, así como el aumento de temperatura gonadal masculina por el uso de prendas interiores apretadas, han sido factores implicados en la etiología de fiebre neonatal idiopática, defectos de cierre del tubo neural y mayor riesgo mutagénico en los gametos.

Otros factores físicos son los efectos mecánicos que producen, por compresión o presión, deformaciones o malformaciones más o menos graves, de acuerdo a la zona corporal comprometida. Ejemplos importantes son: los miomas uterinos maternos, el síndrome de bridas amnióticas o constricciones anulares, con una incidencia de 1/18000 nacidos vivos, que pueden producir graves alteraciones fetales como son las amputaciones de miembros, deformaciones faciales, etc. Torpin ha postulado como etiología, la rotura traumática del saco amniótico, con la consiguiente salida de parte del

feto por la "ventana" amniótica y la posterior constricción fetal a medida que crece el útero gravídico y se tensa el amnios.

3.2. Teratógenos infecciosos, fármacos y drogas

La posibilidad de que estos factores induzcan malformaciones depende de la época de exposición en el período prenatal; los primeros tres meses de embarazo son las fases más críticas. Las posibles afecciones que se presentan, según el estadio de influencia de estos agentes, son: gametos (esterilidad); nidación, gastrulación hasta embrión (muerte del producto); embrión (malformaciones mayores de cerebro, corazón, ojos, extremidades, genitales y gónadas); tercer mes o más (malformaciones menores); feto maduro (alteraciones funcionales).

En relación a los agentes infecciosos, la Tabla IV.1 hace meditar sobre ciertas cuestiones, como son: la mayoría de agentes producen prematuridad o aborto y enfermedad congénita; el riesgo de que un agente infeccioso produzca afección congénita grave es de alrededor del 10 al 25%, lo que significa, que no toda infección durante el embarazo será la causa de malformaciones; esto es importante tomar en consideración al momento del asesoramiento genético. La decisión de informar a una pareja sobre la probabilidad de tener un hijo con malformaciones por un problema infeccioso será muy meditada, analizando la situación epidemiológica del contagio.

A los químicos responsables de mutagénesis o genotoxicidad, en general (incluidos fármacos y drogas) se los clasifica en: químicos del ambiente, drogas o fármacos prescritos o no. Dentro de los últimos existen tres categorías de productos que son: teratógenos seguros, teratógenos potenciales y teratógenos dudosos.

Tabla IV.1. Efecto de algunos agentes biológicos sobre el feto en el embarazo

Agente	P o A	RC	M	EC	PPN	Probabilidad de afección en el 1er trimestre (%)
Bacterias						
Treponema	+	-	-	+	+	10
Tuberculosis	+	-	-	+	+	
Micoplasma	+	?	-	-	+	
Listeria	+	-	-	+	-	
Parásitos						
Toxoplasma	+	?	+	+	+	15-20 grave 25-65 2do trimestre leve
Trypanosoma	?	-	-	+	-	
Virus						
Rubeola	-	+	+	+	+	15-20
Citomegalovirus	+	+	+	+	+	3-5
Varicela Zoster	-	?	?	+	+	10
Herpes	+	-	-	+	+	
Hepatitis	+	-	-	?	?	
Viruela	+	-	-	+	+	
VIH	+	+	+	+	+	20-60

(P) Prematuridad; (A) Aborto; (RC) Retardo en el crecimiento; (M) Malformaciones; (EC) Enfermedad congénita; (PPN) Persistencia post-natal.

En la práctica médica es importante ubicar a qué tipo de agente nos enfrentamos, para poder realizar un buen asesoramiento genético. Los químicos con acción

teratogénica pueden producir alteraciones por su efecto de acción retardada, produciendo trastornos en el crecimiento celular, muerte celular y otras dismorfogénesis; muchos pueden producir desarreglos cromosómicos inespecíficos, con el consiguiente riesgo de segregación mitótica o meiótica anormal, determinando diversos síndromes cromosómicos. Entre estos están: alquilantes, nitrogenados, fosforados, pesticidas, aditivos alimenticios, cafeína, nicotina, etc. Nuestra sociedad manifiesta una alta tendencia al consumo de alcohol (alcoholismo social), lo que representa un riesgo mayor de malformaciones en la descendencia (Tabla IV.2).

Tabla IV.2. Relación entre la cantidad de alcohol consumida diariamente y la posibilidad de manifestación de embriopatía alcohólica

Cantidad de alcohol mL/día	0	30	60	90	120
Riesgo de embriopatía (%)	-	10	20	30	30 a 50

En la siguiente tabla se presentan algunas sustancias y fármacos con sus efectos malformativos.

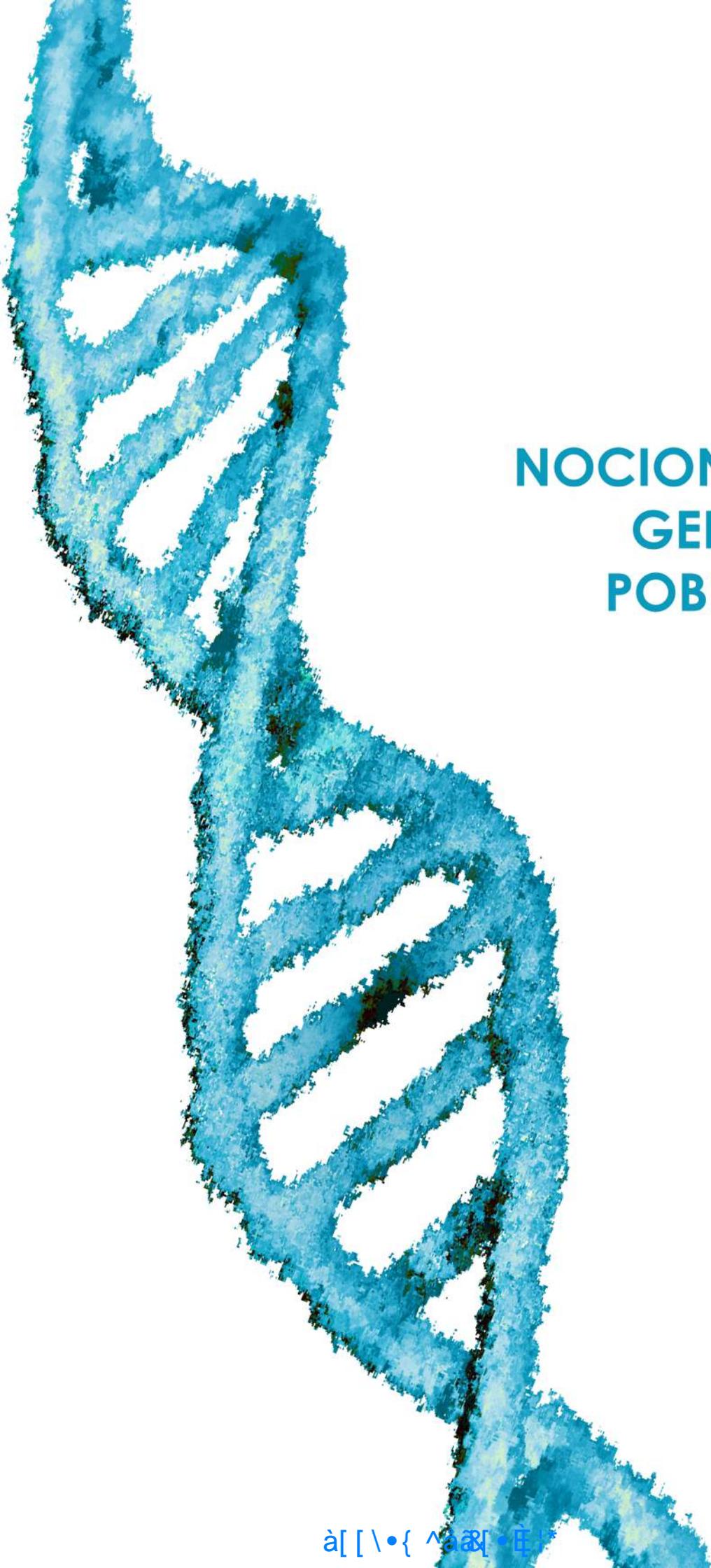
Tabla IV.3. Efectos de fármacos y químicos administrados durante el embarazo

Fármacos	Efecto
Alquilantes	Malformaciones aparato urinario y esquelético
Anticonvulsivantes	Anomalías del desarrollo, malformaciones
Ametopterina	Malformaciones o aborto
Antagonistas ácido fólico	Anencefalia, palatosquisis
Andrógenos	Masculinización
Cefalotina	Test de Coombs directo positivo
Clomifeno	Anomalías cromosómicas, malformaciones
Clorambucil	Malformaciones, abortos
Cloranfenicol	Síndrome del recién nacido gris
Coumadin	Muerte fetal, hemorragias
Diuréticos	Desequilibrio electrolítico
Estreptomicina	Lesión del nervio acústico
Fenobarbital	Hemorragia neonatal
Heroína	Muerte neonatal, convulsiones
Hexametonio	Ileo neonatal
Hipoglucemiantes	Malformaciones varias
Methimazole	Bocio, retraso mental
Metotrexate	Malformaciones congénitas
Morfina	Muerte neonatal, convulsiones
Novobiocina	Hiperbilirrubinemia
Progestágenos	Masculinización
Protitiouracilo	Bocio, retraso mental
Reserpina	Congestión nasal, depresión neonatal
Salicilatos (exceso)	Malformaciones del sistema nervioso
Sulfamidas	Querníctero
Talidomida	Focomelia, atresia esofágica
Tetraciclinas	Problemas dentales, inhibición crecimiento óseo
Tiacidas	Trombocitopenia
Tabaco (nicotina)	Bajo peso, muerte fetal o neonatal, prematuridad
Vacuna de la viruela	Vacuna fetal
Vitamina K (exceso)	Hiperbilirrubinemia
Warfarina	Malformaciones esqueléticas, atrofia ótica
Yoduro potásico	Bocio, retraso mental

(Dexeus et al., 1989)

5

NOCIONES SOBRE GENÉTICA DE POBLACIONES





ā [] • { /āæ [• ē ! * }

CAPÍTULO V

NOCIONES SOBRE GENÉTICA DE POBLACIONES

Si el fenotipo de los individuos está determinado por el genotipo, es correcto afirmar que las variaciones genéticas (polimorfismos genéticos) de los individuos y de las poblaciones humanas están dadas por variaciones o cambios en su ADN. El humano posee variabilidad genética; teóricamente, un individuo, al provenir de dos padres, recibe el 50% de información genética de cada uno de ellos a través de los gametos, lo que supone $2^{23} \times 2^{23}$ posibilidades combinatorias solamente en su información cromosómica, más aún si se considera la posibilidad combinatoria de 23000 genes. Esto en realidad no ocurre y los individuos en las poblaciones tienden a mantener la información genética estable, determinándose que la probabilidad real de que ocurra un cambio (mutación) en el material genético sea muy baja, dando como resultado una variación entre el ADN parental y del hijo, en el orden de 10 a 100 nucleótidos, es decir una probabilidad muy baja.

De lo expuesto se puede deducir que la Genética de Poblaciones estudia la distribución y variación de los genes (alelos) en las poblaciones, su frecuencia de presentación, su evolución y sus mecanismos de cambio, concretándose a tres puntos (Motulsky, 1991; Nussbaum et al., 2008):

- a) Origen de la diversidad genética.
- b) Estructuramiento de la diversidad: Selección natural, migración y deriva génica.
- c) Segregación de la diversidad: Especiación y evolución.

1. LEY DE HARDY-WEINBERG

La Genética de Poblaciones puede ser estudiada por modelos matemáticos o análisis de grupos humanos dispersos, endogámicos o familiares. Por cualquiera de estos métodos interesa estudiar la frecuencia de los genes (alelos) en las poblaciones. En 1908, Hardy y Weinberg enunciaron una ley de genética de poblaciones que expresa lo siguiente: *En una población grande con matrimonios al azar (panmixia) las frecuencias genéticas permanecen constantes de generación en generación, en ausencia de factores que la alteren, tales como migración, mutación, selección, deriva genética y flujo de genes, entre otros. Las frecuencias fenotípicas, están determinadas por las frecuencias genotípicas.*

Para las poblaciones humanas, esta ley no sería aplicable, ya que sabemos que existen muchos factores que hacen desaparecer o mantienen los alelos a los que hace referencia la ley. Se esperaría que la distribución de los genes sea matemática, pero en la práctica los genes pueden estar aislados o asociados; algunos se asocian con mayor frecuencia que la esperada, presumiéndose que esta asociación no es al azar, por lo que debe haber uno o varios factores de presión que desequilibran la distribución de genes. Como los factores de desequilibrio podrían alterar la comprensión lógica-matemática de la dinámica poblacional, se presume con fines prácticos que la población humana es

panmíctica, lo que significa que cualquier genotipo existente tiene la misma probabilidad de mezclarse al azar con otro cualquiera (Negrete et al., 1974; Fontdervila, 1978).

Si tomamos en cuenta un par de alelos A y a, los cuales aparecen en una población con una frecuencia $A = p$ y $a = q$, y esta población se encuentra en equilibrio, la suma de las frecuencias de estos alelos será la unidad, es decir $p + q = 1$, al igual que la frecuencia de los genotipos, que se presentan por la combinación de los alelos será también igual a 1; en otras palabras, la frecuencia de fenotipos posibles hallados en una población es la totalidad de sus genotipos posibles. Entonces, si tenemos dos alelos “A” y “a” en un individuo y se mezcla con otro individuo A y a, la frecuencia fenotípica será (Nussbaum et al., 2008):

$AA + 2Aa + aa = 1$	AA = Homocigoto dominante
	2Aa = Heterocigoto
	aa = Homocigoto recesivo

Si reemplazamos con los valores de la fórmula anterior $p + q = 1$, tendremos:

$pp + 2pq + qq = 1$	p^2 = Homocigoto dominante
$p^2 + 2pq + q^2 = 1$	2pq = Heterocigoto
$(p + q)^2 = 1$	q^2 = Homocigoto recesivo

Si por ejemplo las frecuencias de un par de genes son $p = 0,1$ y $q = 0,9$, al reemplazar en la fórmula tendremos:

Tabla V.1. Frecuencias alélicas y genotípicas

Frecuencias alélicas		Frecuencias genotípicas		
p	q	p^2	2pq	q^2
0,1	0,9	0,01	0,18	0,81
0,3	0,7	0,09	0,42	0,49
0,5	0,5	0,25	0,50	0,25
0,7	0,3	0,49	0,42	0,09
0,9	0,1	0,81	0,18	0,01

Si consideramos que en los datos anteriores el alelo p es normal y el q raro, vemos que a medida que la frecuencia de p aumenta, la de q disminuye, llegando siempre a existir más genotipos normales que anormales, más aún, si sumamos la frecuencia de los genotipos normales p y 2pq. En términos generales los individuos sanos son 2/3 de la población (pp y 2pq) y los enfermos solo 1/3 (qq), anotando además que los heterocigotos tienden a ser el doble (2pq). La población total de individuos (n), será el resultado de todos los tipos de genotipos, así:

$$n[p^2] + n[2pq] + n[q^2] = \text{Población total}$$

De la fórmula se puede desprender que, manteniéndose el equilibrio de Hardy-Weinberg, los individuos heterocigotos siempre serán el doble, esto ocurre en la población humana normal, por lo que las uniones de individuos heterocigotos son frecuentes. Se ha calculado que cada individuo tiene de 3 a 5 genes letales recesivos, por esto, en los cruces de heterocigotos, las posibilidades de tener descendencia anormal son bajas. En las poblaciones humanas las anomalías se presentan en las cifras de frecuencias e incidencias de las enfermedades, sea p^2 para las enfermedades dominantes o sea q^2 para las recesivas.

1.1. Procesos que alteran el equilibrio de Hardy-Weinberg

Procesos sistemáticos	Selección Mutación Migración
Procesos selectivos	Deriva génica Consanguinidad

1.1.1. Selección

El equilibrio de Hardy-Weinberg está sujeto a fuerzas que lo hacen variar alterando la información genética; estas fuerzas son:

a) Estabilizadoras

Incrementan los individuos promedio, tendiendo a disminuir los extremos.

b) Orientadoras o direccionales

Incrementan los individuos de un grupo extremo al promedio.

c) Disruptivas

Incrementan los individuos extremos por igual, tendiendo a disminuir los medios. Esta fuerza de presión para incrementar unos alelos u otros se llama selección. En la selección actúan dos mecanismos. Se dice que la adaptabilidad es una fuerza positiva que incrementa genes aptos, mientras que la selección es su contraria porque disminuye genes anormales.

1.1.2. Mutaciones

Otros fenómenos que intervienen en la variabilidad genética son las mutaciones. Estas pueden ser:

a) Mutaciones beneficiosas

Se producen en baja frecuencia y, de ocurrir la selección, se mantendrán, por lo que la capacidad reproductiva no se ve afectada, logrando que los individuos adquieran una ventaja adaptativa para un determinado medio. El ejemplo de la variabilidad de las

hemoglobinas (Hb) aclara este punto, así: los alelos normales de la Hb en los individuos adultos son AA, por una mutación, uno de los alelos cambia al estado falciforme AS. Los individuos AS son más aptos para defenderse de la malaria producida por el *Plasmodium falciparum* (este fenómeno se da porque los eritrocitos con Hb AS tienen mayor resistencia de su membrana a la entrada del parásito). La malaria actúa como una presión selectiva que hace que los individuos AA desaparezcan y los AS sean más aptos. Por probabilidad de cruces (AS x AS), los individuos heterocigotos llegarán a ser la mayoría (deriva génica), pero así mismo, como el alelo S no es normal, la selección actuará en contra de los individuos SS que serán inviables; el gen normal entonces siempre estará presente en la población y teóricamente volverá a ser frecuente cuando la presión de selección (malaria) desaparezca. La población tenderá a mantenerse en equilibrio (AA + 2AS + SS), 2/3 de individuos normales frente a 1/3 de anormales. Otros marcadores genéticos presentes en población expuesta a la malaria y que proporcionan alguna resistencia a la enfermedad son la deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) y la ausencia del grupo sanguíneo Duffy (Fy^{a-b}) (Koch et al., 2002). En la Tabla V.2 se presentan algunos datos hallados en una población negra ecuatoriana, expuesta endémicamente a malaria.

Se discute actualmente si las mutaciones beneficiosas existen realmente en el genoma humano. Los datos al respecto hablan a favor de que existen mutaciones recientes (5 mil años atrás) que habrían ocurrido por presiones selectivas y adaptaciones al ambiente. El caso del gen de tolerancia a la lactosa es un buen ejemplo. Normalmente los mamíferos, incluidos los humanos, dejan de producir lactasa, la enzima que degrada la leche, al terminar la infancia. Se ha demostrado que el caso de los humanos es especial. Durante el desarrollo de la humanidad y el apareamiento de la agricultura, la época de abundancia era ventajosa evolutivamente, pero la escasez venía con un problema biológico concomitante. El punto es que para los primeros humanos dedicados a la agricultura y ganadería, el almacenar leche o sus derivados les aseguraba una mejor supervivencia, pero al mismo tiempo tenían el problema de que genéticamente los adultos eran intolerantes a la lactosa; una mutación del gen produjo individuos tolerantes a la lactosa, esto los hizo mejor adaptados, incluso se ha llegado a comprobar que les proporcionó una gran ventaja reproductiva, por lo tanto, el gen “mutante beneficioso” se seleccionó en las poblaciones de agricultores primitivos, esto podría haber ocurrido en los últimos 5 mil años. Similares hallazgos se han hecho en otros genes, que sobre todo proporcionarían resistencia a las enfermedades, tal es el caso del gen CCR5 y la resistencia a la infección por VIH (Paz-y-Miño et al., 2005a).

b) Mutaciones negativas

Cuando se producen, los individuos son por lo general inviables y el gen anormal desaparece, ya que el individuo afecto no llega a reproducirse.

c) Mutaciones sin sentido aparente

Los padres portan genes letales que aparentemente no producen disfunción alguna en ellos, pero que en las generaciones siguientes y al azar, estos genes letales pueden manifestarse como enfermedades, 2/3 de estos cambios desaparecen y 1/3 reaparecen. En este grupo de mutaciones se encuentran las enfermedades monogénicas con patrones mendelianos.

Existe un aspecto más a considerar en el origen de las mutaciones. La información genética, en términos generales, se mantiene estable de generación en generación durante la síntesis de ADN y la división celular, pero existen ocasiones en que se producen cambios espontáneos o al azar de la información, pudiendo coadyuvar en este fenómeno agentes físicos, químicos y biológicos.

Tabla V.2. Frecuencias de algunos marcadores genéticos en población ecuatoriana expuesta a malaria

Sistema	Fenotipo	No.	Frecuencia alélica		
			p	q	r
Duffy	Fya+	15	0,100	0,060	0,840
	Fya+b+	14			
	Fyb+	5			
	Fya-b-	131			
Total		165			
HbS	AA	126	0,882	0,118	
	AS	39			
	SS	0			
Total		165			
			p	2pq	q
G6PD	Gd +	127	0,775	0,086	0,139
	Gd +/-	18			
	Gd -	20			

En un ambiente determinado, la selección natural juega un papel importante en la selección de genes mejor adaptados, pero para esto, es indispensable que el organismo tenga, en su carga genética, las diferentes posibilidades combinatorias; esto significa que el ambiente no cambia la información genética, esta ya existe en el ADN, el medio solamente la selecciona; esto se conoce como valor preadaptativo de la mutación. En muchos casos, los conocimientos actuales no pueden explicar en qué momento se seleccionaron los genes o en qué momento se produjo una mutación al azar que determinó un cambio del ADN. Lo que sí se puede asegurar es que la población humana evoluciona y la naturaleza realiza pruebas biológicas acierto-error, con lo que la evolución se podría definir como un fenómeno en el que determinados alelos de los genes tienden a alcanzar frecuencias mayores que otros.

1.1.3. Migración o flujo de genes

La introducción o cambio de individuos de una población a otra modifica las frecuencias génicas originales.

1.1.4. Deriva génica

Teóricamente, una población o un individuo tiene todo el juego de genes aptos para cruzarse, pero durante la vida, ciertas células gonadales con sus genes se pierden por no llegar a fecundar; la pérdida de estas es al azar, es decir que, dependiendo del tamaño de la población y de la frecuencia de entrecruzamientos (*crossing over*), se pierden ciertos genes y se mantienen otros; esta forma de selección genética se llama deriva génica o empobrecimiento genético. La deriva génica homogeniza los genes en la población; está favorecida por los cruces consanguíneos o endogámicos y se ve

modificada por el entrecruzamiento genético y las migraciones que promueven el flujo e intercambio de genes.

1.1.5. Consanguinidad

Es el apareamiento de individuos relacionados entre sí por sus antecesores, lo que promueve el cruce entre alelos homólogos, es decir aumenta el número de homocigotos. Si se considera que en cada nueva generación el entrecruce de individuos reduce a la mitad la proporción de genes tendríamos que:

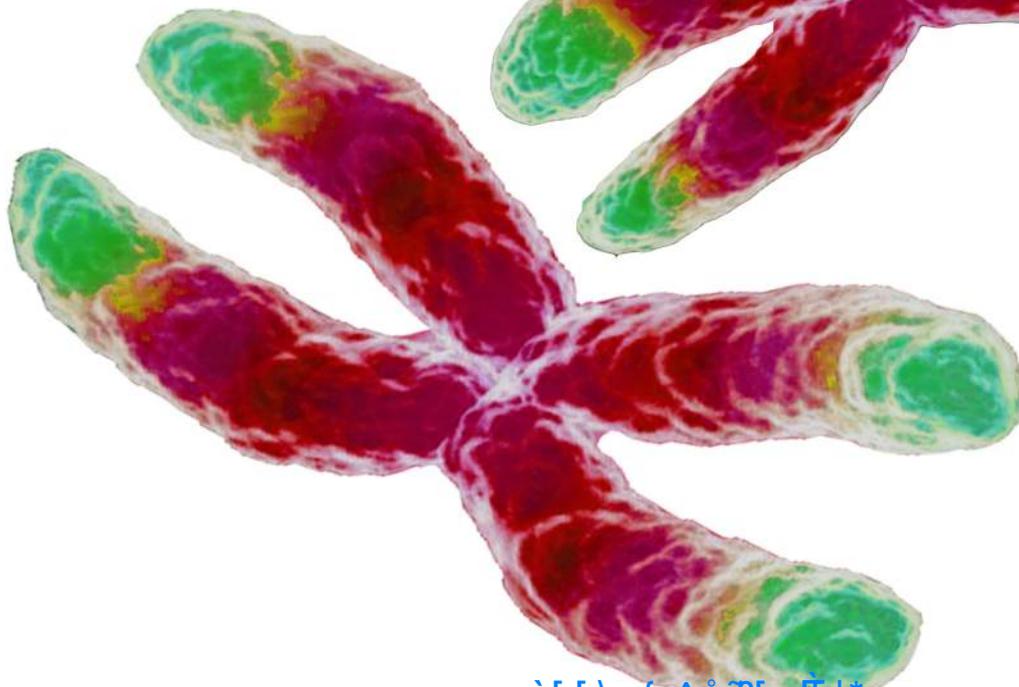
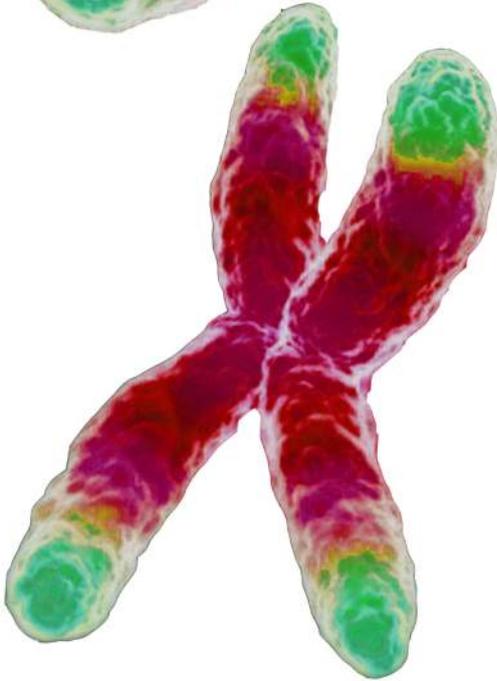
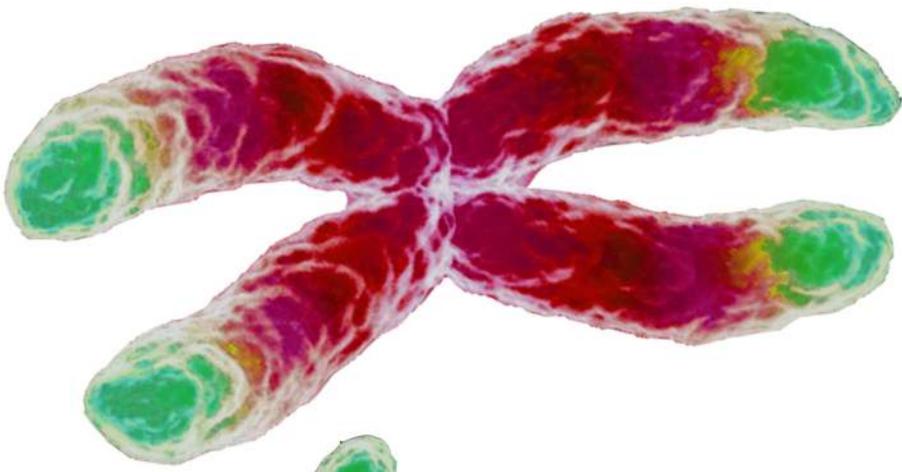
Tabla V.3. Entrecruzamiento y proporción de genes compartidos

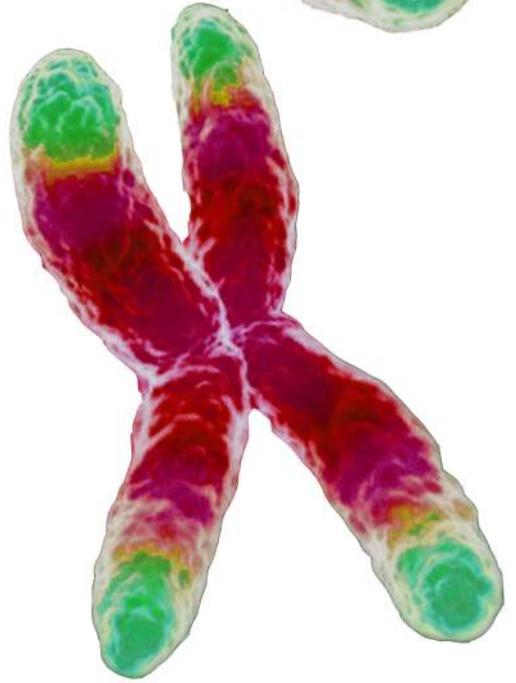
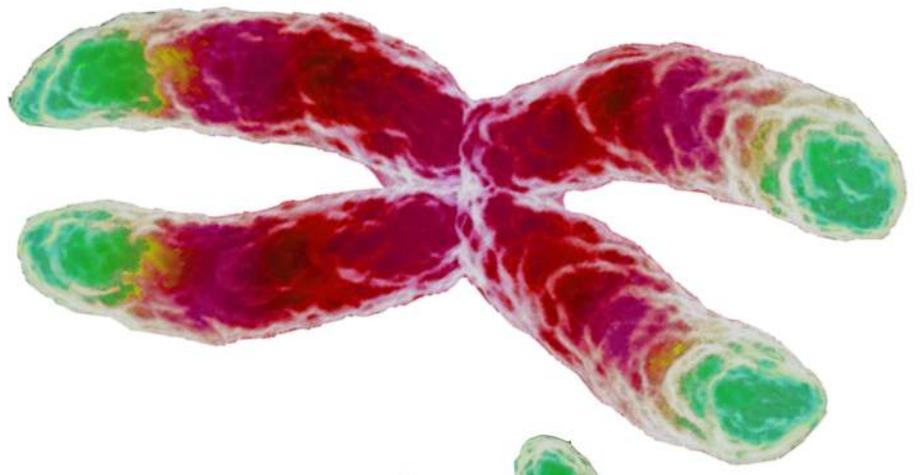
Individuos	Proporción de genes compartidos
Yo	1/1
Hermano	1/2
Padres	1/2
Abuelos	1/4
Tíos	1/8
Primos	1/16

Así, entre primos hermanos, la probabilidad de apareamiento de un individuo anormal por el cruce de alelos idénticos es $1/16 \times 2$ esto es igual a $1/32$ posibilidades de tener un hijo con genes comunes de los padres, que en términos prácticos en genética se traduce en un 3% más de riesgos malformativos, es decir un 1% más que el riesgo de la población general. Durante el asesoramiento genético a parejas consanguíneas, la cifra de 3% es la que se maneja para matrimonios sin antecedentes de problemas genéticos, los cuales podrían cambiar esta proporción.

6

**PATRONES
DE LA
HERENCIA**





CAPÍTULO VI

PATRONES DE LA HERENCIA

Para realizar un diagnóstico adecuado en genética, la acción básica que se necesita es realizar una historia clínica adecuada y rápidamente orientada a los problemas genéticos. En la consulta que se realiza en los casos presentados en este libro, se utiliza a modo de guía la siguiente estrategia para llegar a los diagnósticos. No hay que olvidar que el llegar a un diagnóstico suele ser un proceso complicado en ocasiones y requiere de exámenes complejos en algunos pacientes. Lo interesante es considerar al diagnóstico en sí como un desafío científico, en el cual las evidencias que obtengamos se convierten en una ayuda para resolver el problema que enfrentamos. Esta es justamente la nueva metodología en medicina basada en evidencias.

Muchos síndromes son relativamente raros y la Genética es una gran ayuda durante el diagnóstico y el asesoramiento genético de los individuos afectados y de su familia. Es por esto la importancia de consultar al médico genetista como una ayuda para el manejo de pacientes con síndromes que presentan múltiples anomalías. Para dar un asesoramiento genético correcto es indispensable tener el diagnóstico exacto (siempre y cuando sea posible). La información que se proporcione debe ser clara y concisa, y es aconsejable que se cuestione a la persona que esté consultando sobre sus conocimientos de genética, lo cual facilitará la explicación de la naturaleza de la enfermedad (Ej. ¿Entiende usted lo que es un cromosoma o un gen?), y también ayudará a despejar cualquier tipo de sentimiento de culpa o angustia.

Durante la consulta genética se debe evitar dar juicios de valor e influir en las decisiones de los consultados. El objetivo es informar sobre el diagnóstico y sus implicaciones no solamente para el individuo (prognosis) sino también para la familia, y que las personas sean conscientes del riesgo que implica tener otro hijo (riesgo reproductivo), las diferentes alternativas de prevención (como el diagnóstico prenatal y la detección de portadores) y el tratamiento de la enfermedad.

En la elaboración de la historia genética se debe realizar un árbol genealógico en el que se incluya la mayor cantidad de información posible para demostrar cómo se ha transmitido el trastorno a través de la familia o para poder determinar si no hay antecedentes de la enfermedad o alteración. Un árbol genealógico preciso debe revelar el tipo de herencia de la enfermedad genética, su penetrancia y expresividad y, posiblemente en qué miembro de la familia se originó el trastorno. Esto permitirá realizar cálculos de la probabilidad de riesgo (Delgado et al., 2012). Es importante:

- a) Muertes de lactantes, nacidos muertos y abortos, ya que estas influyen en los riesgos de recurrencia (Ej. La espina bífida tiene un mayor riesgo de defectos del tubo neural en los siguientes hijos).
- b) Consanguinidad.
- c) Trastornos previos de interés médico.
- d) Antecedentes obstétricos.
- e) Antecedentes de consumo de fármacos y drogas.

El interrogatorio debería ser bidireccional y dinámico, recabar información de ambos lados de la familia, lo que puede revelar información útil y evitar sentimientos de culpabilidad.

Es importante poner cierto énfasis en encontrar cualquier anomalía que pueda tener un componente genético o que pueda ser sugestiva de un síndrome o asociación relevante. En la siguiente tabla se detalla un tipo de anamnesis por aparatos para la elaboración de la historia genética:

Tabla VI.1. Anamnesis por aparatos

Sistema / aparato	Detalles a indagar
Cardiovascular	Cardiopatías congénitas, hipertensión, hiperlipidemia, enfermedades vasculares, cardiopatía isquémica, ictus
Respiratorio	Infecciones respiratorias recidivantes, asma, bronquitis
Gastrointestinal	Atresia, fístulas, diarrea recidivante, estreñimiento crónico
Genitourinario	Genitales ambiguos, anomalías de la función renal
Músculo esquelético	Caquexia o debilidad muscular
Neurológico	Alteraciones del desarrollo, audición, visión

Un aspecto importante dentro del asesoramiento genético es el relacionado con la detección, tratamiento y prevención del cáncer. Este proceso frecuentemente se inicia con el relato por parte del paciente de la “historia del cáncer” en el ámbito individual como familiar, es decir los síntomas que le llevaron a sospechar de cáncer, la forma en la cual el diagnóstico finalmente fue realizado, y el éxito o el fracaso del tratamiento. El propósito de obtener esta información es determinar la probabilidad de que el paciente tenga un síndrome hereditario de cáncer. Aunque la información más relevante en términos de riesgo tiene que ver con la presencia de cáncer entre parientes de primer y segundo grado de consanguinidad, la historia genética en cáncer típicamente se extiende a tres o más generaciones y frecuentemente incluyen parientes de tercer grado de consanguinidad. Algunas estrategias generales para elaborar una historia de cáncer son las siguientes:

- a) Obtener la confirmación del diagnóstico del tumor.
- b) Incluir hallazgos catalogados como no malignos.
- c) Extender el árbol genealógico detallando en lo posible cada diagnóstico del cáncer.
- d) No descuidar a los parientes no afectados.
- e) Tomar en consideración la exactitud del individuo al relatar la historia del cáncer.
- f) Ayudar a los individuos a identificar estrategias para ampliar la historia.
- g) Utilizar la historia como una herramienta psicosocial.

Con esta pequeña introducción, nos centraremos en las características genéticas humanas que se transmiten de padres a hijos en varias modalidades hereditarias. Las principales formas de transmisión hereditaria tienen patrones mendelianos conocidos: autosómicos dominantes, autosómicos recesivos y recesivos ligados al cromosoma X; otros tipos de herencia mendeliana no son comunes, como la dominante ligada al X y la

ligada al Y. Otro tipo de herencia es la poligénica, determinada por la interacción de varios genes. Adicionalmente, se presentan casos inusuales como la herencia por impresión génica, mitocondrial y un tipo especial de características que conforman los síndromes de genes contiguos (Nussbaum et al., 2008).

En el caso de la Genética Médica, los pacientes no acuden a consulta con el patrón de herencia definido; es labor del experto dilucidarlo. Para esto existen algunos criterios que deberían tomarse en cuenta en cada tipo de herencia. El paso inicial será realizar una genealogía, para lo cual existen estándares. La genealogía conocida también como patrón de pedigrí, linaje genealógico o árbol genético, es una lista de antepasados o un registro familiar. Gracias a los trabajos realizados en conejos, ganado vacuno y otros, se ha podido generalizar las leyes de la herencia para la especie humana, cuyos estudios se dificultan por el reducido número de hijos, el largo período de gestación, el tiempo requerido para llegar a ser fecundables y, por supuesto, las lógicas limitaciones bioéticas. Por lo tanto, los genetistas humanos utilizan las historias familiares y el linaje, para lograr establecer que muchos caracteres se heredan de padres a hijos siguiendo las leyes de Mendel (Delgado et al., 2012).

Las características fenotípicas de un individuo proceden de la herencia de sus genotipos aun cuando algunas veces la influencia del ambiente hace variar el fenotipo esperado. Algunos rasgos humanos son determinados por genes dominantes, recesivos, ligados al sexo, y otros. Los rasgos debido a genes dominantes, generalmente se encuentran con mayor frecuencia que los que se deben a genes recesivos. Los datos familiares se pueden resumir en un árbol genético, que es un método abreviado para clasificarlos y facilitar su referencia.

Existen diagramas de pedigrí que se usan frecuentemente en Genética Humana para el análisis de la herencia mendeliana. Los símbolos que aparecen en la Figura VI.1 son los más utilizados por los genetistas.

La observación de las genealogías es uno de los métodos principales del estudio genético en el hombre, puesto que en los seres humanos no es posible realizar apareamientos diseñados. También es utilizada para deducir el modo de transmisión de una enfermedad hereditaria o para realizar diagnósticos diferenciales ante afecciones humanas parecidas.

Cuando se realizan genealogías humanas con el fin de determinar el origen hereditario de una afección o carácter, se debe considerar cinco cuestiones que son de difícil evaluación y requieren un conocimiento profundo de la Genética Humana, sus conceptos, leyes, comportamientos y excepciones.

- a) El fenotipo a analizar es uno solo, se reconoce una causa o varias.
- b) El fenotipo puede ser resultado de causas no hereditarias.
- c) En los parientes que no presentan el fenotipo problema, se demuestra que no lo poseen.
- d) Se conoce la ubicación del gen en el cariotipo humano, ya sea en autosomas o gonosomas.
- e) De tratarse efectivamente de un problema genético, su comportamiento es dominante, recesivo, ligado al sexo, codominante, tiene expresividad o penetrancia variable.

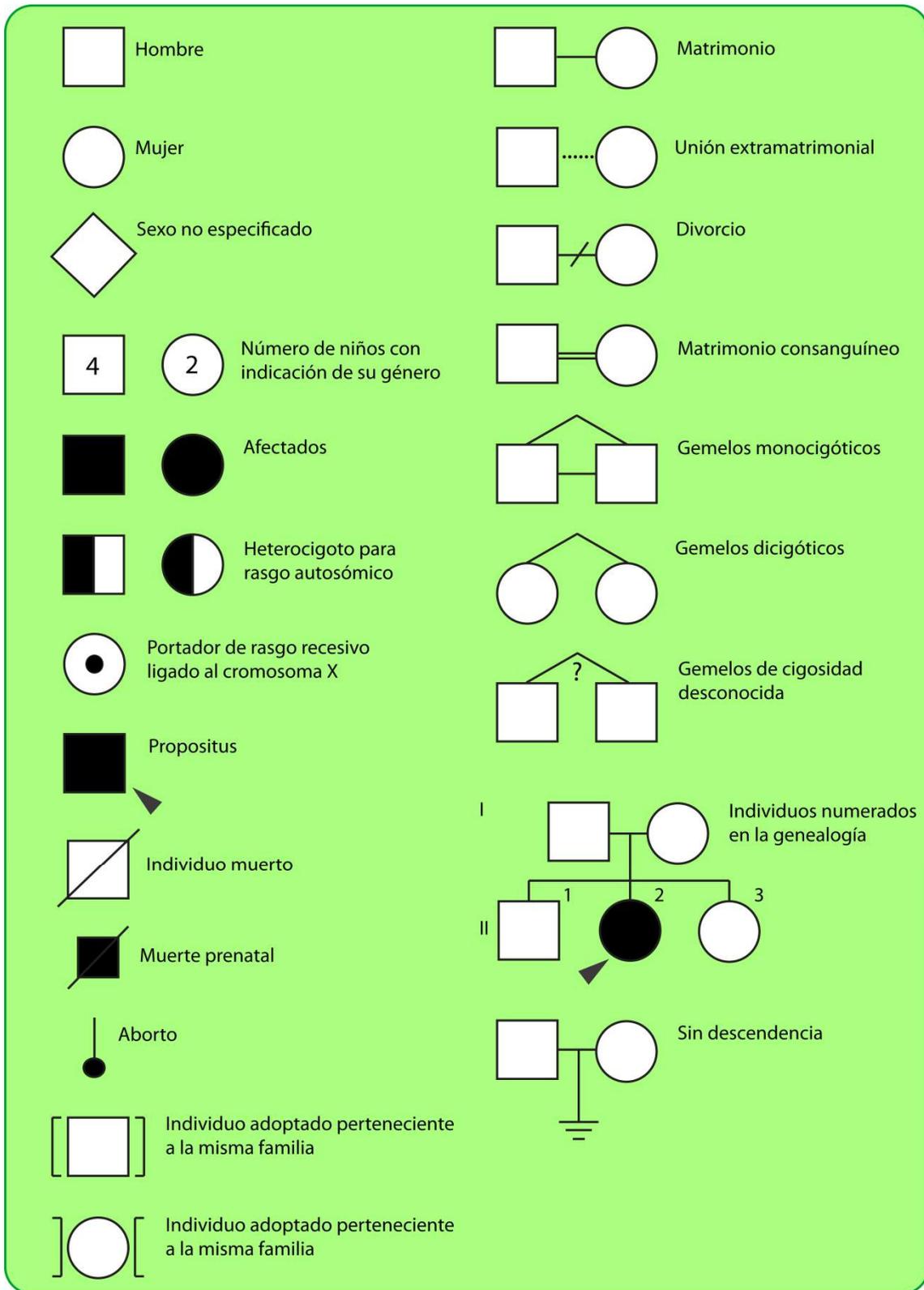


FIGURA VI.1. SÍMBOLOS DE GENEALOGÍAS. Existen varios símbolos comúnmente utilizados y otros pueden ser creados en casos especiales (IIB, 2014).

La genealogía constituye un patrón de distribución de caracteres controlados genéticamente en grupos emparentados, esto es, grupos de personas relacionadas por

unión y descendencia (cónyuges, hijos, hermanos), que proporciona información sobre los principios mendelianos de la herencia.

Una aplicación sencilla de las genealogías y de los tipos de herencia está en el estudio de caracteres fenotípicos comunes: forma de implantación del pelo, forma de los labios, y otros; algunos expuestos en este trabajo, fueron utilizados por la antropología física en la detección de trastornos genéticos y en la distribución étnica. Durante algún tiempo incluso hubo una invasión de nociones no científicas sobre la directa relación entre fenotipo y comportamiento, fenotipo e inteligencia. Hoy se sabe que distintas poblaciones pueden tener diversas características fenotípicas, bioquímicas y moleculares, que no significan diferencias esenciales entre los grupos poblacionales; por eso los conceptos de raza y aún de etnia cada vez son menos utilizados y se los está reemplazando por el de poblaciones con similar base genética.

Se analizaron 21 características fenotípicas de transmisión mendeliana simple en 447 individuos pertenecientes a dos Facultades de Medicina de la ciudad de Quito, durante el lapso de tres años. Estos datos se procesaron utilizando la siguiente fórmula $p^2 + 2pq + q^2 = 1$, donde $p + q = 1$ (Tabla VI.2).

Tabla VI.2. Caracteres físicos y frecuencias alélicas

Carácter	Dominante	Recesivo	p^2	$2pq$	q^2
Línea del pelo	Pico de viuda (V)	Recta (v)	0,0195	0,2401	0,7405
Forma de nariz	Convexa (N)	Recta (n)	0,0105	0,1841	0,8054
Hoyuelos-mejilla	Presencia (H)	Ausencia (h)	0,0160	0,2211	0,7629
Pecas	Presencia (P)	Ausencia (p)	0,0187	0,2363	0,7450
Lóbulos-oreja	Libres (L)	Adheridos (l)	0,1074	0,4407	0,4519
Pestañas 1cm	Largas (G)	Cortas (g)	0,0536	0,3558	0,5906
Lengua enrollada	Forma U (E)	Ausencia (e)	0,1870	0,4909	0,3221
Lengua doblada	Presencia (U)	Ausencia (u)	0,4613	0,4358	0,1029
Uso manual	Diestro (Z)	Zurdo (z)	0,6389	0,3208	0,0403
Forma de falanges	Curva (F)	Recta (f)	0,0298	0,2856	0,6846
Separación pulgar	Ángulo 45° (I)	Escuadra (i)	0,0756	0,3987	0,5257
Vello en falanges	Presencia (B)	Ausencia (b)	0,1141	0,4474	0,4385
Pulgar sobrepuesto	Izquierdo(K)	Derecho (k)	0,0674	0,3845	0,5481
Estatura	Baja (S)	Alta (s)	0,1042	0,4372	0,4586
Producción insulina	Normal (Y)	Diabetes (y)	1,0000	0,0000	0,0000
Orificios nasales	Anchos (O)	Estrecho(o)	0,1904	0,4919	0,3177
Labio superior	Recto (M)	Hendido (m)	0,0275	0,2767	0,6957
Orejas	Grandes (Q)	Pequeñas (q)	0,0674	0,3845	0,5481
Canas	Prematuras (T)	No canoso(t)	0,0065	0,1479	0,8456
Dedos	Cortos (X)	Largos (x)	0,1722	0,4855	0,3423
Factor Rh	Rh+ (W)	Rh- (w)	0,5019	0,4131	0,0850

Además, se utilizó la ecuación de tendencia lineal $Y = mx + b$, donde m es la pendiente y b la intersección. Los resultados mostraron que de los 447 individuos el 15% fueron homocigotos dominantes para los caracteres, el 27% heterocigotos y el 58%

homocigotos recesivos. Las características dominantes más comunes para el grupo estudiado son la producción normal de insulina, el uso manual diestro, la capacidad de doblar la lengua y el factor Rh positivo. Entre los fenotipos recesivos más frecuentes tenemos la ausencia de canas, la nariz recta y la ausencia de hoyuelos en las mejillas. Los individuos heterocigotos tienen como características más comunes los orificios nasales anchos, los dedos cortos, la capacidad de enrollar la lengua y la presencia de vello en falanges intermedias. En las frecuencias alélicas se encuentra una relación inversamente proporcional entre los homocigotos dominantes y recesivos.

1. HERENCIA MENDELIANA

La herencia mendeliana explica objetivamente el patrón hereditario de los caracteres entre padres a hijos. Los diferentes tipos de herencias se diferencian en la forma en que estos son expresados o silenciados en las poblaciones. A continuación se explican las características de cada tipo de herencia, relacionándolos con diferentes enfermedades genéticas estudiadas en el Ecuador.

1.1. Herencia autosómica dominante

Los afectados deben llevar un alelo (variante de un gen) alterado o los dos alterados. Las características de la herencia dominante incluyen: el carácter aparece en cada generación (herencia vertical), sin pasar por alto ninguno de ellas. Se transmite por un individuo que lo presente con una probabilidad del 50% para cada nuevo embarazo, en el cruce más frecuente (heterocigoto afecto con homocigoto normal). Las personas sanas no transmiten la enfermedad ni el carácter a sus hijos. El sexo no influye en la aparición y transmisión del carácter o la enfermedad; los hombres y las mujeres tienen las mismas probabilidades de presentar o transmitir el carácter. En condiciones dominantes un padre aparentemente normal podría ocasionalmente portar una mutación en su línea germinal, lo cual se asocia con un riesgo considerable de recurrencia.

Algunos desórdenes dominantes tienen penetrancia y expresividad variable. La penetrancia se refiere a la frecuencia con que se manifiesta un gen o combinación de genes en el fenotipo de un individuo y es completa cuando los individuos homocigotos u heterocigotos para el carácter, muestran el fenotipo alterado. La penetrancia es incompleta cuando los portadores de un genotipo presentan el carácter en menos del 100%. Por lo general, la penetrancia se observa en familias o poblaciones completas, donde existen diferentes manifestaciones y aun diferencias entre mujeres y varones; se la mide en porcentaje uno a cien. La expresividad variable hace relación a la gravedad de una característica o enfermedad y se la mide entre cero y uno; puede mostrar variaciones intersexuales. Es importante considerar que la expresividad diferente exige un detallado análisis y examen de parientes de los afectos, en busca de fenotipos truncados.

Tanto la penetrancia como la expresividad podrían ser moduladas por el ambiente. Muchos trastornos incluso tienen una franca influencia de uno de los sexos o están limitados a uno. La alopecia prematura, autosómica dominante, aunque el gen puede presentarse en mujeres, es muy raro que lo haga antes de la menopausia, posiblemente por influencia hormonal femenina. Tanto la expresividad como la

penetrancia probablemente se deban a la acción del alelo normal que portan los afectos heterocigotos.

Un término adicional es el de pleiotropía, esto es, que el efecto de un gen puede difundirse hacia muchas características y alteraciones orgánicas o titulares (un gen - varios efectos). Así, en la osteogénesis imperfecta, aparte de existir anomalías en los genes del colágeno, los pacientes presentan sordera, escleróticas azuladas, problemas en válvulas cardíacas e hiperlaxitud de articulaciones. El término contrario es heterogeneidad, que se refiere a que una misma enfermedad puede ser determinada por varios genes y tipos de herencia, por ejemplo la sordera o retinosis pigmentosa puede ser por herencia dominante, recesiva o ligada al sexo (Nussbaum et al., 2008; Delgado et al., 2012).

Un ejemplo de herencia autosómica dominante es la enfermedad de Huntington, también denominada corea de Huntingto, la cual se explica con más detalle en el *Capítulo IX. Investigaciones moleculares en el Ecuador: Enfermedades neurodegenerativas*.

1.2. Herencia autosómica recesiva

Para que se presente la enfermedad los individuos deben portar sus dos alelos mutados. Los rasgos típicos del carácter sólo se manifiestan en los hermanos, pero no en sus padres, progenie u otros familiares (herencia horizontal). La recurrencia es del 25% para los hermanos del individuo afecto, en el cruce más frecuente (heterocigotos recesivos). Los padres del afecto por lo general son consanguíneos o endogámicos. Los hombres y las mujeres tienen las mismas probabilidades de ser afectos. Los fenotipos de los afectos suelen ser similares, ya que sus dos alelos están alterados, pero se puede encontrar heterogeneidad clínica, dependiendo de las zonas del gen alteradas. En los casos en que el defecto genético afecte a una proteína específica (enzimas), los heterocigotos pueden mostrar cantidades reducidas de la enzima (Scriver et al., 2000; Rimoin et al., 2007; Nussbaum et al., 2008; Delgado et al., 2012).

Ejemplos de la herencia autosómica recesiva son la fibrosis quística del páncreas y la hipoacusia no sindrómica recesiva, las cuales se explican con más detalle en el capítulo *Investigaciones moleculares en el Ecuador: Enfermedades congénitas*.

1.3. Herencia recesiva ligada al sexo

En este tipo de herencia hay que considerar que los genes presentes en los cromosomas X, tendrán dos posibilidades de manifestación. En el caso de las mujeres, que tienen dos cromosomas X, si uno de ellos está alterado, serán tan sólo portadoras del carácter y el otro será el que comande el fenotipo, que suele ser normal o con presentaciones truncadas de las afecciones; la mayoría de ocasiones, el cromosoma X alterado será el que se inactive (heterocromatina - corpúsculo de Barr). Los varones, al tener un solo cromosoma X, presentarán siempre la enfermedad en caso de que el gen esté alterado.

Los criterios de reconocimiento de este tipo de herencia tomarán en cuenta un predominio de varones afectos en las genealogías, donde el desorden suele ser transmitido a través de mujeres sanas que son portadoras. En el cruce más frecuente, el

carácter es transmitido por un hombre afectado, a todas sus hijas mujeres (que serán portadoras) y nunca a sus hijos varones. Las portadoras transmiten el carácter al 50% de sus hijas, quienes serán igualmente portadoras, y al 50% de sus hijos, quienes serán enfermos. Una mujer puede ser afectada si se origina de un cruce entre un varón afecto y una mujer portadora. Por ejemplo, la hemofilia, afecta a 1/250000 nv varones y 1/250000 nv mujeres (Scriver et al., 2000; Rimoin et al., 2007).

Otros ejemplos de enfermedades recesivas ligadas al cromosoma X son las distrofias musculares de Duchenne (DMD) y Becker (DMB). Estas enfermedades se las explica con mayor profundidad en el capítulo *Investigaciones moleculares en el Ecuador: Enfermedades congénitas*.

1.4. Herencia dominante ligada al sexo

Algunas enfermedades se originan por este tipo de herencia, aunque no es común. Basta con que uno de los cromosomas X esté mutado, para que se presenten las características de la enfermedad. En las genealogías es frecuente encontrar muchos afectos de ambos sexos, pero predominan mujeres y en ellas la enfermedad suele ser menos grave. Así, la incontinenia pigmenti es letal en los varones, mientras que en las mujeres aparecen síntomas abigarrados de pigmentación melánica en piel, alteraciones de dientes, ojos, retina y sistema nervioso central. Los síntomas inician muy temprano en las mujeres (6 semanas de nacidas).

En la consulta genética evaluamos tres pacientes varones con incontinenia pigmenti, que presentaban una alteración cromosómica que explicaría su trastorno y en ellos se encontró un síndrome de Klinefelter (47, XXY). Otra de las características de este tipo de herencia es que los varones afectados transmiten el carácter patológico a todas sus hijas y a ninguno de sus hijos. No existe transmisión de varón a varón. Si una mujer está afectada en forma heterogamética, transmitirá la enfermedad con un riesgo de 50% a su descendencia, sea a mujeres o a varones; en cambio si es homogamética transmitirá la enfermedad a toda su descendencia. Un gen dominante ligado al X dará lugar a un desorden tanto en varones hemicigotos como en mujeres heterocigotas. El gen es transmitido en las familias de la misma manera que los genes recesivos ligados al X, dando lugar a un exceso de mujeres afectadas. En algunos desórdenes la enfermedad es letal en hombres hemicigotos. En este caso habrá menos varones que lo esperado en la familia, los cuales serán sanos, y un exceso de mujeres, la mitad de las cuales serán enfermas. La inactivación del X produce fenotipos variables. El detectar este tipo de herencia es complicado y se la confunde con herencia autosómica dominante, lo cual demanda realizar pruebas genéticas y de laboratorio exhaustivas (Scriver et al., 2000; Rimoin et al., 2007; Nussbaum et al., 2008; Delgado et al., 2012).

1.5. Herencia ligada al cromosoma Y

En el cromosoma Y se han ubicado unos 280 loci, pero sólo unos 20 han sido asignados o asociados a funciones, es decir, genes. En caso de una enfermedad de este tipo, solamente los varones son afectados, siendo la transmisión directa de padre a hijo varón a través del cromosoma Y. El modo de transmisión probablemente sea el de una herencia similar a la autosómica dominante. Ha sido cuestionada esta herencia, ya que existen muy pocos genes en el cromosoma Y, y su acción podría estar limitada a problemas de fertilidad e indiferenciación sexual.

Un término que se debe considerar concomitantemente con la herencia ligada al Y, es el de herencia limitada a un sexo. Esto es, la presencia de ciertas enfermedades que por la propia naturaleza masculina o femenina se presentan de forma exclusiva en uno de los dos sexos; así, la testotoxicosis, afecta sólo a varones aunque la herencia sea dominante, y los problemas de útero u ovarios, sólo a mujeres.

1.6. Herencia intermedia y codominancia

Si ambos alelos de un par se expresan totalmente en el estado heterocigótico, entonces los alelos (o los rasgos determinados por ellos o ambos) son codominantes. Algunos ejemplos de codominancia se observan en varios grupos sanguíneos y en los sistemas enzimáticos. Si el heterocigoto es diferente de ambos homocigotos, los genes involucrados muestran herencia intermedia. Por ejemplo, los portadores de los alelos para la anemia drepanocítica o de células falciformes (Scriver et al., 2000; Rimoin et al., 2007; Nussbaum et al., 2008; Delgado et al., 2012).

2. HERENCIA NO MENDELIANA

La herencia no mendeliana descrita a continuación se relaciona con la herencia mitocondrial, el origen y las enfermedades corelacionadas.

2.1. Herencia mitocondrial

Las mitocondrias son organelas celulares donde ocurre la respiración celular (degradación de combustible con liberación de energía). Su número en cada célula está determinado por la cantidad de energía requerida por esta. Si la requiere en gran cantidad (como las células musculares) entonces contienen bastantes mitocondrias. El estudio de las mitocondrias es de interés dentro del campo de la genética porque estas contienen su propio material genético. Muchas enfermedades humanas se deben a defectos o alteraciones en el ADN mitocondrial (ADNmt) (Figura VI.2) (Wallace, 1989; Thomas et al., 1994).

2.1.1. Origen del ADN mitocondrial

Hace 150 ó 200 años cuando el oxígeno escaseaba en la Tierra, una bacteria primitiva que sacaba la energía de la fermentación anaerobia absorbió una célula menor, la mitocondria, que se especializó en la respiración. Desde entonces las dos células adquirieron una relación simbiótica, en la que una le proporcionaba energía a cambio de refugio y sustento por parte de la otra.

Cada célula humana contiene miles de moléculas de ADNmt circular, el mismo que está conformado por 16567 pb que constituyen 37 genes. Cada ADNmt codifica para un ARN ribosomal (ARNr) grande y otro ARNr pequeño, 22 ARN de transferencia (ARNt) y 13 cadenas polipeptídicas de enzimas que participan en la fosforilación oxidativa la cual genera ATP. El ADNmt está casi exclusivamente constituido por genes que contienen exones. Dentro de una célula diploide podría haber más de 1000 copias del genoma mitocondrial, ya que cada mitocondria contiene hasta 10 copias de su ADN circular y cada célula contiene cientos de mitocondrias. Las mutaciones dentro del ADNmt parecen ser 5 a 10 veces más comunes que las mutaciones en el ADN nuclear,

y la acumulación de mutaciones mitocondriales se ha sugerido que tienen un rol importante en el envejecimiento (Merriwether et al., 1991).

Entre las diferencias del ADN nuclear y el mitocondrial están algunas ya anotadas, el nuclear es lineal, el mitocondrial circular; el código genético en la mitocondria es diferente que en el núcleo, así: los codones de los 22 ARNs de la mitocondria pueden ser reconocidos por 60 codones; cuatro codones extras UAG, UAA, AGA y AGG, son reconocidos como parada; el codón UGA se lee como triptófano en vez de codón de parada; el codón AUA se lee como metionina y no isoleucina como en el núcleo (Shay & Werbin, 1992).

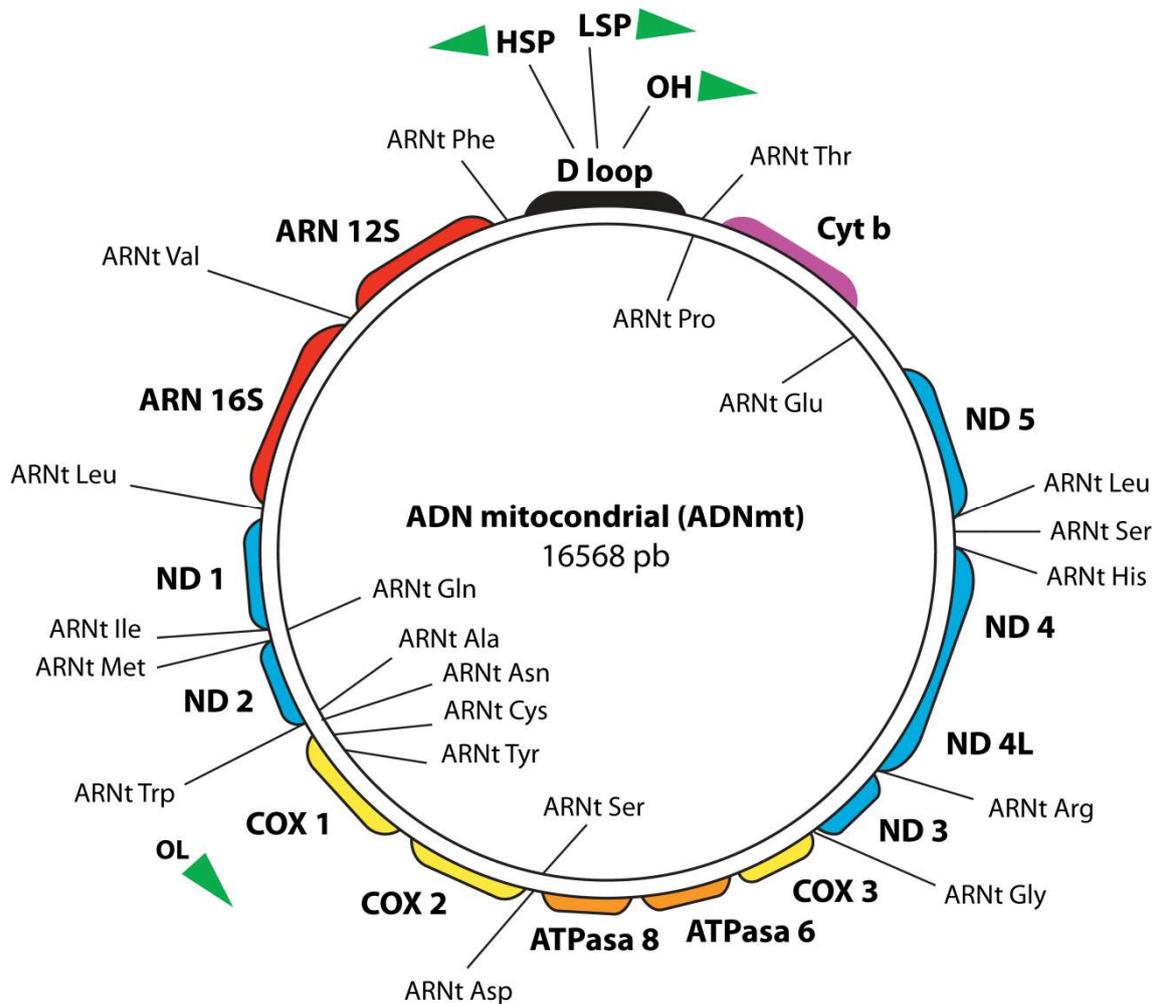


FIGURA VI.2. ADN MITOCONDRIAL. Doble cadena de ADN conformado por 37 genes y 16568 pb [IIB, 2014].

2.1.2. ADN mitocondrial y enfermedades genéticas

Desde que el genoma mitocondrial humano fue secuenciado en 1981, se ha observado enfermedades genéticas que muestran un patrón de herencia materna, tales como las miopatías mitocondriales. A diferencia del ADN nuclear, hay miles de copias de ADN mitocondrial en cada célula nucleada. Cada mitocondria contiene de 2 a 10 copias. En los individuos normales son idénticas.

La primera evidencia de que rearrreglos en el ADN mitocondrial podían ser causa de enfermedades genéticas fue obtenida por estudios con southern blot, que demostraron largas deleciones en ADNmt proveniente de células de músculo de individuos con enfermedades musculares. Al comparar el ADN muscular con el de células sanguíneas no se hallaron dichas deleciones. En estos pacientes se encontraron tanto mitocondrias defectuosas como normales. La existencia de más de un tipo mitocondrial en la misma célula, en el mismo tejido o en el mismo individuo, se conoce como heteroplasmia.

La deleción que más frecuentemente es encontrada se denomina deleción común y consiste en una pérdida de aproximadamente 4,9 Kb de longitud (Thomas et al., 1994). La primera pregunta que surge en relación a esta pérdida, es: ¿Cómo se da el rearrreglo? Parece ser que la recombinación no es común en ADNmt de organismos superiores. En estudios poblacionales no se han detectado individuos sanos que presenten niveles altos de rearrreglos. El análisis de secuencias revela que hay una homología exacta en cualquiera de las partes terminales de los segmentos delecionados, que consta de 13 pb en longitud. El desprendimiento de la zona de deleción puede ser una característica de la replicación del ADNmt, durante la cual la cadena pesada es especialmente vulnerable, ya que se encuentra en forma de cadena simple. De ahí que esta cadena simple pesada pueda aparearse de forma desigual con partes de la cadena ligera por medio de lazos en regiones ricas en A y T, dando como resultado final la pérdida de material genético y la consecuente enfermedad.

La segunda pregunta es: ¿La distribución del ADNmt mutante y silvestre es uniforme dentro de un individuo? Deleciones de ADNmt pueden ser encontradas no solo en músculos, sino también en tejidos tales como cerebro, hígado, riñones y sangre. La proporción de ADN mutado con respecto al normal parece depender del tipo de tejido en estudio y de la edad del individuo. Líneas celulares que han sido clonadas de tales individuos, indican que células individuales pertenecientes al mismo tejido pueden tener proporciones diferentes entre el tipo silvestre y el mutante, lo cual explicaría la diferencia de síntomas y la gravedad de las afecciones.

La tercera pregunta es: ¿Cada mitocondria puede tener varios tipos de ADN? Y si es que la respuesta es negativa, ¿existe entonces una comunicación entre mitocondrias para que los genomas salvajes puedan complementar a los mutantes? Parece que esto es verdad. En primer lugar, se ha encontrado evidencias de que cada mitocondria, como se anotó anteriormente, posee de 2 a 10 copias del genoma; en segundo lugar, al estudiar células híbridas expuestas a cloranfenicol, se ha observado que las células contenían dos tipos de mitocondrias: un tipo cuya cubierta era resistente al cloranfenicol y otro cuya cubierta era sensible. Los resultados revelaron que las mitocondrias sensibles fueron capaces de sintetizar polipéptidos en presencia de las mitocondrias con cubierta resistente, lo que sugiere que debe existir un tipo de interacción entre los dos tipos de mitocondrias. Igualmente esto explicaría la heterogeneidad de las manifestaciones clínicas.

La cuarta pregunta es: ¿Cómo las deleciones y los rearrreglos se relacionan con las características clínicas? Se ha detectado que no existe una relación clara del fenotipo con la región delecionada del genoma, la longitud del ADNmt delecionado y el porcentaje de ADNmt que ha sido delecionado. Deleciones idénticas pueden dar lugar a varios fenotipos. Cuando se tomó varias biopsias de un mismo paciente, se pudo observar que la proporción de genoma delecionado aumentaba con el tiempo. Cuando se

tomaron biopsias de diferentes sitios dentro del mismo individuo, no se observaron diferencias. Puede ser que exista un efecto de dosificación en el que la severidad clínica aumenta con el aumento de la proporción de genoma deleciónado, dentro de un individuo, o dentro de un tejido. Sin embargo, es posible que la distribución de ADNmt mutante relativa al tipo silvestre sea de crucial importancia en la determinación del fenotipo.

Un amplio espectro de enfermedades neuromusculares han sido asociadas con mutaciones en el ADNmt. Siempre el genotipo de la madre es el que se hereda, por eso se denomina herencia materna. Esta puede predecirse suponiendo que el óvulo ha aportado todas las mitocondrias, debido a que si bien las mitocondrias del espermatozoide ingresan en el óvulo, estas son degradadas; por tanto, los genes mitocondriales derivan exclusivamente de la madre y los de los progenitores masculinos son descartados en cada generación. Lo importante es que predomina el genotipo aportado por el progenitor de un determinado sexo, en contraste con el comportamiento de la herencia mendeliana en la que los cruzamientos recíprocos muestran que la contribución de ambos progenitores se hereda por igual.

Algunas investigaciones han demostrado que fragmentos del ADNmt podrían integrarse en el ADN nuclear, y podrían ser neutras o producir mutaciones y enfermedades. Las mutaciones de las mitocondrias estarían también relacionadas con el envejecimiento y el origen del cáncer. Existen algunos principios que explicarían el origen de las enfermedades mitocondriales, el cáncer y el envejecimiento: Una mutación en el ADNmt puede proveer a la célula que la contiene una ventaja selectiva de crecimiento en un medio ambiente en particular. La eliminación de mitocondrias mutadas puede resultar en la inserción de un fragmento de ADNmt en el núcleo. La reducción del número total de moléculas de ADNmt en la célula puede afectar el balance homeostático entre el núcleo y el citoplasma.

Debido a que múltiples copias de ADNmt están presentes en la célula, las mutaciones mitocondriales son frecuentemente heteroplásmicas, es decir, que una sola célula contendrá una mezcla de ADNmt mutante y normal. La severidad de la enfermedad causada por mutaciones mitocondriales probablemente depende de la presencia de proporciones relativas de ADN mutante y normal, pero es muy difícil predecir en un determinado sujeto.

Para determinar cuáles proteínas son codificadas por el ADN nuclear y cuáles por el mitocondrial, se puede inhibir uno de los dos sistemas. Se puede bloquear la síntesis mitocondrial utilizando algunos antibióticos como la tetraciclina y el cloranfenicol. De esta manera las proteínas que se produzcan durante el bloqueo necesariamente van a ser codificadas por el ADN nuclear. A su vez, se puede bloquear la actividad de los ribosomas del núcleo. Las proteínas producidas mientras uno de los sistemas está bloqueado, pueden ser marcadas con isótopos radioactivos para así distinguir a qué sistema corresponden.

2.1.3. Variación del ADN mitocondrial

Los estudios con ADNmt provenientes de varias poblaciones han mostrado 149 haplotipos y 81 sitios polimórficos, lo cual sirve para estudiar los aspectos evolutivos de

la especie humana. Así, se ha demostrado que en la población africana existe la mayor diversidad de genomas mitocondriales, y se concluye que la especie humana es de origen africano. Los datos de las investigaciones con ADN mitocondrial indican también que los individuos difieren en un 0,4% en su ADN mitocondrial, valor más alto del que se esperaba. Además, el ADNmt es más heterogéneo interpoblacionalmente a diferencia del ADN nuclear.

Los estudios sugieren que existe un haplotipo ancestral que existió en África hace aproximadamente 200000 años, del cual provienen todos los genomas mitocondriales humanos. A partir de aquí los genomas se han ido ramificando. Esto se determinó al estudiar el nivel de variación de los sitios de restricción del ADNmt y la tasa de divergencia de las secuencias (de 2 a 4% por cada millón de años). La suposición de que la divergencia empezó hace 200000 años, proviene de estudios paleoantropológicos. Los humanos más antiguos, encontrados en África, tienen aproximadamente 3 millones de años. Esto indica que el origen humano es mucho más antiguo que la divergencia del ADNmt y los procesos evolutivos han permitido que las proteínas codificadas por este ADN sean importantes en la fisiología humana.

Se han presentado evidencias de que el ADNmt tiene origen africano, sobre la base de que la raíz africana es la más profunda en los dendrogramas de ADNmt. También se observó en el dendrograma que los ADNmt asiáticos y los caucásicos se derivan seguidamente de los ADNmt africanos.

Estudios realizados en el Ecuador por nuestro grupo, sólo para uno de los genes analizados, citocromo b, han demostrado que existen al menos 6 tipos de variantes de este gen mitocondrial, de las 64 descritas en poblaciones humanas (Paz-y-Miño et al., 2008b).

El citocromo b, es un gen mitocondrial que codifica para la proteína citocromo b, que es parte de la cadena de transporte electrónico de la fosforilación oxidativa. Tiene aproximadamente 1100 pb y entre 8 dominios transmembranales. Como todo gen mitocondrial no presenta intrones, se hereda principalmente por línea materna y no hay recombinación. Al ser parte del genoma mitocondrial presenta además una evolución muy rápida y su tasa de mutación es alta (Ej. variantes heteroplásmicas) (Berg et al., 2002).

El segmento estudiado que amplificó por PCR corresponde a 3 dominios transmembranales que son de rápida evolución porque contienen principalmente aminoácidos hidrofóbicos y ningún centro activo importante en el transporte de electrones. El tamaño es de aproximadamente 356 pb y se amplificó utilizando 2 cebadores universales comúnmente utilizados en diversos grupos de vertebrados. La utilidad del gen se enmarca principalmente en la detección de variantes poblacionales y divergencias infraespecíficas recientes (variaciones poblacionales y entre especies hermanas). Los cebadores utilizados constan en la Tabla VI.3.

Tabla VI.3. Cebadores para la amplificación del gen citocromo b

Nombre	Secuencia (5' - 3')
CB1-L	CCA TCC AAC ATC TCA GCA TGA TGA AA
CB2-H	CCC TCA GAA TGA TAT TTG TCC TCA

El estudio analizó un total de 108 ADNs diferentes para citocromo b. Las variantes se las encontró realizado la técnica denominada polimorfismo en la conformación de la cadena simple (SSCP). La Figura VI.3 muestra los diferentes tipos de variantes del gen citocromo b, detectadas por SSCP, estando cada variante identificada por un número.

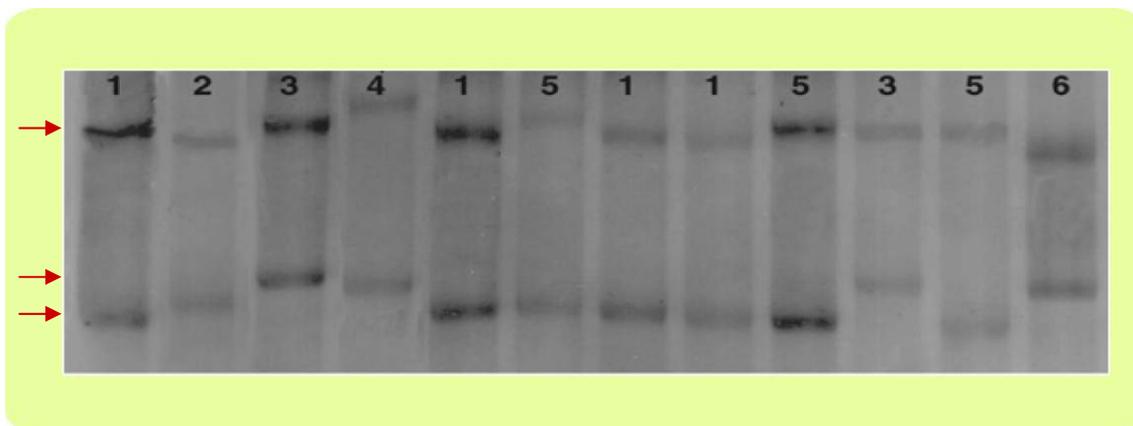


FIGURA VI.3. VARIANTES DE CITOCROMO B IDENTIFICADOS POR SSCP. La técnica SSCP [*Single-strand conformation polymorphism*] permite analizar los polimorfismos de conformaciones monocatenarias [Modificado de Paz-y-Miño et al., 2008b; IIB, 2014].

Se estudiaron diversos grupos étnicos del Ecuador: población mestiza, negra e indígena. Las frecuencias encontradas para cada variante se las detalla en la siguiente tabla:

Tabla VI.4. Frecuencias y variantes de citocromo b en grupos étnicos del Ecuador

Variante	Muestras	Porcentaje (%)	Frecuencia
1	63	58,55	0,55
2	5	4,67	0,04
3	34	31,78	0,30
4	1	0,93	0,01
5	4	3,74	0,03
6	1	0,93	0,01

La distribución de los diferentes tipos de citocromo b por población estudiada se observa en la Figura VI.4. Las variantes 1 y 3 son las más frecuentes, sumando un 91% del total de individuos. Las variantes 2 y 5 tienen frecuencias bajas, sumando para el 8,4% del total. La variante 1 se asume como el tipo salvaje por su alta frecuencia. El producto más corto incluye el final del extremo N-terminal hasta el dominio C. Las seis variantes pueden ser incluidas en las 19 reportadas en la literatura (Scharfe et al., 2000). Estas variantes del segmento incluyen 7 cambios no sinónimos y 12 sinónimos. La mayoría de los cambios se acumulan en el dominio C, B y en el interdominio AB. Los cambios no sinónimos reportados incluyen 5 transiciones y 2 transversiones. Todos los cambios sinónimos reportados son transiciones; 4 de ellos envuelven purinas y 8 en pirimidinas. El análisis del SSCP para este segmento fue muy confiable pero la identidad de cada variante no fue revelada hasta la secuenciación.

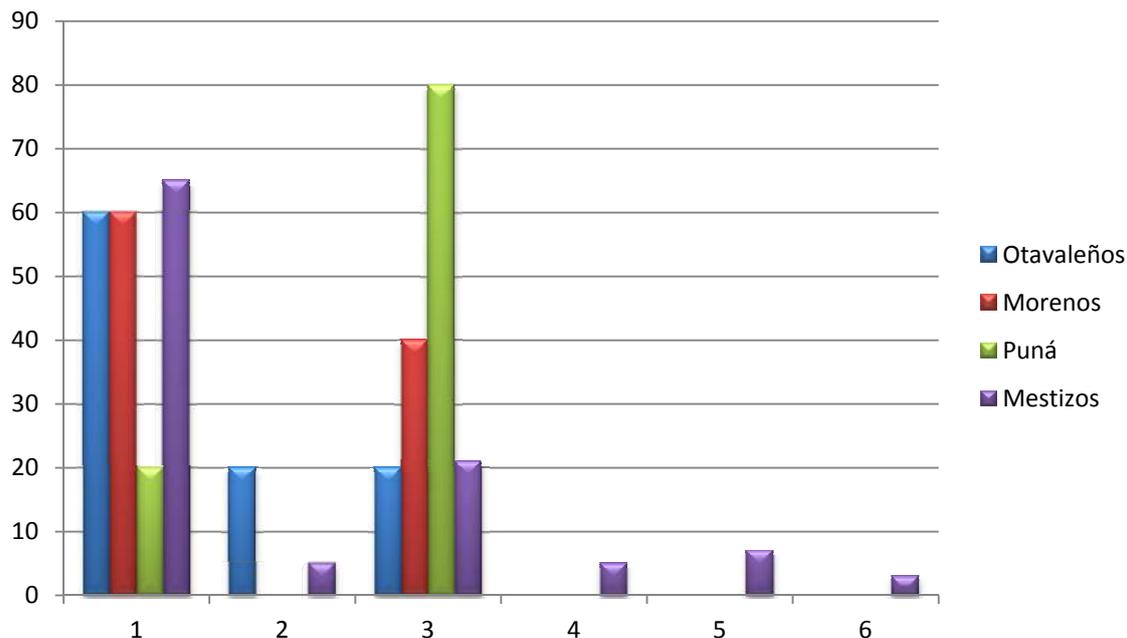


FIGURA VI.4. DISTRIBUCIÓN DE LAS VARIANTES DE CITOCROMO B EN ECUADOR. El análisis de las variantes del citocromo b se realizó mediante la técnica SSCP y la secuenciación genómica [Paz-y-Miño et al., 2008b; IIB, 2014].

Este segmento tiene 25 variantes reportadas en la literatura (Scharfe et al., 2000), y es mucho más polimórfico que el producto corto. Las variantes incluyen 14 cambios no sinónimos y 11 sinónimos. La mayoría de cambios se acumulan en el dominio D, E y en el interdominio CD. Los cambios no sinónimos reportados incluyen 9 transiciones y 2 transversiones; los sinónimos reportados incluyen 12 transiciones y 2 transversiones. Para las transiciones sinónimas, 5 envuelven purinas y 6 para pirimidinas.

Por ahora no se sabe con exactitud qué papel juegan los polimorfismos encontrados en el ADNmt, pero el estudio de las variantes mitocondriales permite establecer una relación entre los diferentes grupos poblacionales del Ecuador, así como entender la diversidad étnica de nuestro país, que se debe a la variabilidad genética dada por polimorfismos genéticos en general y mitocondriales en particular. Utilizando la información del ADNmt, se puede sugerir una clasificación poblacional basada en las variantes de este ADN y, aparte de la utilidad filogenética, se puede establecer asociación con enfermedades.

3. HERENCIA POR IMPRONTA GENÓMICA

La herencia por impronta genómica (*genomic imprinting*) empezó a tomar importancia hacia la mitad de este siglo, cuando se observó que en ciertas ocasiones el sexo de los padres tenía influencia en la expresión genética de los hijos. Efectivamente, existe una expresión genética diferente tanto a nivel cromosómico como alélico, dependiendo de si el material genético proviene de la madre o del padre; en otras palabras, el mismo gen puede comportarse de forma diferente en la descendencia, según se transmita por vía espermática u ovular. El siguiente ejemplo sirve para aclarar el fenómeno: El síndrome de Prader-Willi, heredado por impronta genómica, está asociado

a una deleción del cromosoma 15 en su brazo largo (15q11-13); el cromosoma alterado proviene en la mitad de casos del padre. El síndrome de Angelman también está asociado, en la mitad de casos, a una deleción 15q11-13, o sea similar al de Prader-Willi, pero a través del análisis genético por ligamiento se ha detectado que el cromosoma alterado se origina en la madre. Entonces ocurre que uno u otro síndrome genético, sea el Prader-Willi o el Angelman, puede presentarse cuando está implicada la información genética que transmite el padre o la madre respectivamente. Aunque no se sabe si la región del ADN que se encuentra implicada en los dos síndromes es la misma, parece cierto que podría existir solapamiento de unos genes sobre otros. Este solapamiento podría depender del grado de metilación del gen (Da Rocha & Ferguson-Smith, 1984; Sha, 2008; Wolf et al., 2008).

Inquietan otros casos de enfermedades relacionadas con esta nueva forma de herencia por impronta genómica, como la distrofia miotónica cuyo gen es transmitido por vía materna y que de presentarse, ocasiona que entre el 10 al 20% de hijos afectados, tengan la forma congénita severa; o como la enfermedad de Huntington, cuyo gen, cuando es transmitido por el padre, desencadena la forma severa juvenil de la enfermedad (Hall, 1990; Sha, 2008).

Actualmente, se ha puesto atención a variantes fenotípicas en ciertos síndromes que, con seguridad, tendrían origen en la herencia por impronta genómica y se ha planteado que muchas de estas diferencias se deben a una disomía uniparental, esto significa que el par cromosómico de un descendiente es producto del mismo padre; hecho que resultaría de la presencia de un alto número de células germinales aneuploides. Este fenómeno de disomía uniparental, podría conducir a la homocigocidad de una serie de alelos contiguos en un par de cromosomas, fenómeno denominado isodisomía y podría ser explicado por un alto índice de recombinación de los cromosomas meióticos. La existencia de la disomía uniparental, con o sin isodisomía, podría explicar variedades fenotípicas en el mismo síndrome (Horsthemke & Buiting, 2008).

4. SÍNDROMES DE GENES CONTIGUOS

Existen algunos síndromes con patrones físicos reconocibles que son causados por fallas en la organización de los genes en el cromosoma, como los síndromes de genes contiguos, estos se producen por inclusión o exclusión de genes próximos a los que producen fenotipos clásicos, determinando variaciones en los fenotipos del mismo síndrome. Los síndromes proveen gran información sobre el ordenamiento genético y ayudan a entender el control genético; además, están incluidos en el grupo de defectos del desarrollo.

5. MOSAICISMO

Se refiere a la presencia de dos o más líneas celulares, las cuales difieren en la constitución cromosómica o en el genotipo pero que han sido derivadas de un solo cigoto. El mosaicismo es un evento postcigótico que podría originarse durante el desarrollo embrionario temprano, durante la etapa fetal tardía o en la vida postnatal. El momento durante el cual se desarrolla el mosaicismo determinará las proporciones relativas de las dos líneas celulares, y por lo tanto la severidad de la anomalía del

fenotipo causado por la línea celular anormal. El mosaicismo funcional ocurre en mujeres cuando uno de los cromosomas X permanece activo en cada célula. El proceso de inactivación del X ocurre en la embriogénesis temprana y es al azar. Por tanto, los alelos que difieren entre los dos cromosomas serán expresados en forma de mosaico (Zlotogora, 1998).

El mosaicismo cromosómico no es infrecuente y se produce por errores postcigóticos durante la mitosis. Ha sido documentado en algunas anomalías cromosómicas numéricas y estructurales que habrían sido letales si no hubieran estado en forma de mosaico.

6. HERENCIA POLIGÉNICA O MULTIFACTORIAL

El término poligén hace referencia a un grupo de genes que determinan un carácter o enfermedad, mientras que el término multifactorial, se refiere a que un carácter está determinado por varios factores incluidos los genéticos (uni o poligénicos) bajo la influencia de un ambiente determinado. Es por esta razón que los términos podrían estar superpuestos y hemos preferido describirlos en conjunto (Marazita & Mooney, 2004).

Si se considera la relación genes-ambiente con respecto al fenotipo que se evalúa, se tiene una curva de Gauss normal. Analizando los extremos de esa distribución tendríamos tres tipos básicos de relación:

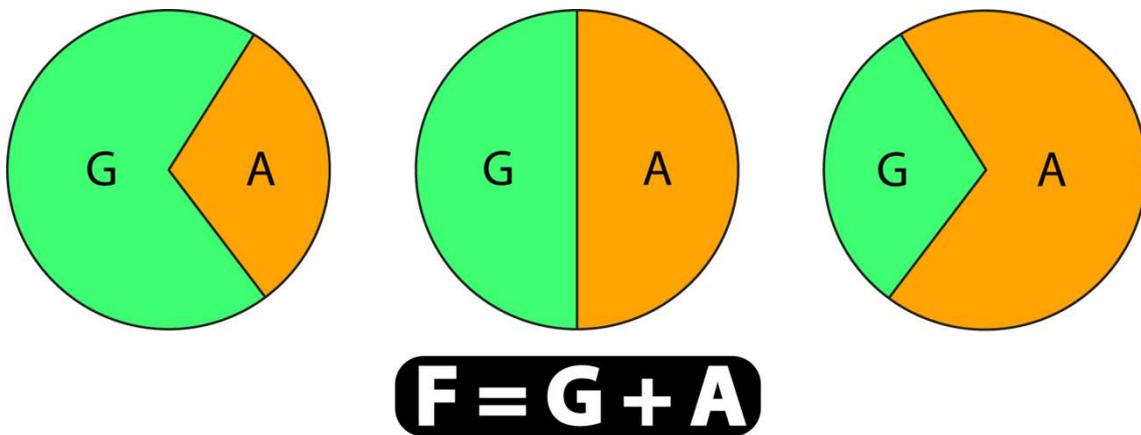


FIGURA VI.5. RELACIÓN ENTRE GENES Y AMBIENTE. La epigenética consiste en la asociación entre los factores genéticos con los ambientales para explicar un patrón presente en un individuo. El fenotipo es igual al genotipo más el ambiente [IIB, 2014].

El primer gráfico muestra la manera como la carga genética (G) comanda al fenotipo (F), mientras que la carga ambiental (A) es más bien pequeña. El tercer gráfico muestra lo contrario, es decir, la carga ambiental (A) es la que prima y los genes (G) tienen poco efecto. El segundo gráfico, representa la relación igual de genes (G) y ambiente (A). Este fenómeno ocurre en los individuos y un ejemplo lo aclara: La carga genética que impone el gen mutado que produce la fibrosis quística del páncreas es completa, pero el ambiente en que los afectados desarrollan su vida es determinante para la supervivencia; en pocas palabras, si los individuos mantienen un tratamiento adecuado y

oportuno, viven por años. Al otro lado estaría el ejemplo de la infección por VIH: Si un individuo tiene la forma normal del gen CCR5 en homocigosis y está en contacto con el virus, el contagio es casi seguro, pero si existe una forma mutante del gen en homocigosis, el virus no puede entrar a los linfocitos del individuo, y se podría decir que este sujeto es inmune al VIH. Los individuos heterocigotos gen normal/mutado, si bien se contagian del virus, parece que el desarrollo de la enfermedad es más lento. Este mismo fenómeno de “resistencia o susceptibilidad” se ha descrito para muchas enfermedades: tuberculosis, lepra, malaria, e incluso infecciones bacterianas como la del estreptococo beta hemolítico del grupo A, hongos como la *Candida albicans* y algunos parásitos como la ameba, o la leishmania. El punto entonces, es que los individuos pueden tener genes que les proporcionan unas características favorables en un ambiente contrario, o viceversa, genes de susceptibilidad (Paz-y-Miño et al., 2005a; Nussbaum et al., 2008).

De la misma forma, se conoce que existen individuos con resistencia “natural” (genética) a fenómenos como la radiación, la gravedad o las aptitudes para deportes, música, etc. Entonces, los genes comandarían la estructura del individuo con sus ventajas y desventajas, y el desempeño o la relación con el medio serían una forma de adaptación o selección natural.

Muchas enfermedades no tienen un patrón hereditario definido, como las heredadas en forma dominante, recesiva o ligada al sexo. Aquí la carga genética del individuo interacciona con los factores ambientales (fenotipo = genotipo + ambiente) que tienen un efecto de umbral de susceptibilidad para producir una anomalía. Este tipo de herencia es responsable de un gran número de características fenotípicas del ser humano (color de la piel) y de desórdenes del desarrollo que dan como resultado ciertas malformaciones congénitas (fisura labial con o sin fisura del paladar, defectos de cierre del tubo neural, dislocación congénita de cadera, microtia) y muchos desórdenes de la vida adulta (algunas formas de cáncer y enfermedades de las arterias coronarias). Al parecer las características y defectos poligénicos no son resultado de un simple error en la información genética sino una combinación de pequeñas variaciones genéticas. Los factores ambientales podrían estar involucrados en este tipo de herencia. Desórdenes multifactoriales tienden a ocurrir en familias pero no muestran los patrones genealógicos de la herencia monogénica (Baird et al., 1988; Busby et al., 2005).

El poligén abarcaría un conjunto de genes que ejercen un efecto sumatorio para manifestar un carácter, dentro de un ambiente determinado (región geográfica, nicho ecológico), que también tendría una influencia importante. En este tipo de herencia se ha visto un índice de consanguinidad o endogamia aumentado entre los padres de los individuos afectados, como también las patologías se concentran en grupos poblacionales familiares o étnicos específicos y aún en un sexo en particular. Cuando la afección se presenta en el sexo menos expuesto, el riesgo de recurrencia y de transmisión hereditaria es mucho mayor para los siguientes hijos o hermanos del afecto, que si el afecto es del sexo comúnmente más enfermo. Esto significa por ejemplo que si la dislocación congénita de cadera con incidencia de 1/1000 nacidos vivos, que es más frecuente en las mujeres, se presenta en un varón, el riesgo de que este hecho se repita en el siguiente embarazo, para un feto masculino, es de aproximadamente 2%, es decir unas 20 veces mayor que el de la población general. Existen varios aspectos importantes sobre la herencia poligénica en relación con los riesgos de recurrencia de problemas malformativos:

- a) Cuanto más grave es la afección, mayor será el riesgo de recurrencia familiar.
- b) Si la afección está presente en uno de los progenitores, la recurrencia será mayor.
- c) El riesgo de recurrencia es mayor mientras mayor número de afectos exista en la familia.
- d) El riesgo para los familiares más lejanos, aunque es mayor que el de la población general, se va reduciendo aproximadamente a la mitad, a medida que se aleja el grado de parentesco: $\frac{1}{2}$ para los tíos del individuo y $\frac{1}{4}$ para los primos.
- e) Los defectos poligénicos tienen una recurrencia empírica mayor en las familias que presentan mayor número de enfermos.
- f) La recurrencia es mayor para los parientes o descendientes de los enfermos del sexo con menor posibilidad de afección.

El estudio de las patologías multifactoriales resulta inquietante ya que concentra muchos criterios científicos y aun epistemológicos dignos de revisión. El efecto umbral de la enfermedad, por ejemplo, parece que se debe a la interacción dialéctica de varios genes con efecto acumulativo que, bajo un ambiente determinado, en un momento determinado y con ciertas condiciones (a veces no detectables), confluyen dando un salto de sus efectos cuantitativos, sobrepasando el límite o umbral de la normalidad y produciendo un efecto cualitativo diferente, que desencadena malformaciones. A cada lado del punto de umbral existen sendos tipos de poblaciones: una sana pero de mayor predisposición a tener descendencia con malformaciones, y otra enferma, con mayor probabilidad de presentar malformaciones más graves a medida que se aleja del límite de normalidad. La discusión teórica entre la relación fenotipo-genotipo-ambiente permanece abierta. A continuación se explica a profundidad uno de los ejemplos más relevantes en la herencia poligénica, las fisuras faciales.

6.1. Fisuras faciales

Las fisuras faciales se encuentran entre las anomalías más frecuentes que se presentan en el nacimiento. Dependiendo de la población estudiada, la prevalencia de las fisuras oscila entre 0,79 a 4,04 por cada 1000 nacidos vivos, o como lo citan en otros trabajos, su incidencia varía entre 1 en 500 y 1 en 1000 nacidos vivos.

Se ha sugerido que los niños con fisuras faciales usualmente no presentan otras anomalías. Sin embargo, algunos estudios indican que dichas fisuras podrían representar solamente una de las características que forman parte de un síndrome de malformaciones múltiples. Así, un gran número de síndromes reconocibles involucran a las fisuras en su espectro fenotípico (Murray, 2002).

La evidencia epidemiológica sugiere que la fisura palatina aislada es una entidad etiológica diferente al labio fisurado con o sin fisura palatina, es decir que son desórdenes genéticos separados, cada uno siguiendo un patrón monogénico de herencia dominante con penetrancia reducida y limitado por el sexo. Además según varios autores existen las siguientes subdivisiones: fisuras completas e incompletas, unilaterales y bilaterales. Los tres tipos de fisuras faciales pueden constituir parte del cuadro fenotípico en más de 200 síndromes claramente establecidos. Preferentemente la fisura labial (FL) o la fisura labial

con fisura palatina (FLP) afectan al lado izquierdo, y existen graduaciones en su manifestación (Rimoin et al., 2007).

El labio y paladar fisurado representa cerca del 50% de todos los casos de fisuras faciales, mientras que cualquiera de las dos en forma aislada representa cada una el 25% de todas las fisuras. Sin embargo, reportes recientes han documentado que el 35% de recién nacidos presentan labio fisurado con o sin paladar fisurado, como parte de un patrón más amplio de morfogénesis alterada. Existen también diferencias patológicas según ciertas variantes como el sexo, en donde la mayoría de autores coinciden en que es más frecuente en el masculino; área geográfica; bajo peso de la madre (deficiente alimentación materna), edad materna, clase social, antecedentes patológicos maternos, época de concepción o nacimiento y etnia, habiendo mayor frecuencia entre los orientales y americanos nativos, menor entre los negros y una intermedia en los caucásicos. El índice de recurrencia de las fisuras faciales es variable y se lo infiere empíricamente.

En ocasiones, las fisuras forman parte de síndromes poco comunes atribuibles a genes autosómicos dominantes, recesivos, ligados al sexo y anormalidades cromosómicas. Se ha presentado suficiente evidencia de que tanto la fisura labial como la palatina, cuando no forman parte de otros síndromes, se deben a herencia poligénica modificada por el sexo, con manifestación frecuente en el sexo masculino para la primera y en el femenino para la segunda.

Las fisuras labio-palatinas constituyen una de las malformaciones congénitas más frecuentes en el Ecuador. En 1970 se efectuó un estudio estadístico de los 10 años previos a esa fecha, de los nacimientos de la Maternidad Isidro Ayora, encontrando un caso de fisura por cada 613 nacimientos. En 1975, encontraron en la misma casa asistencial 1 caso por cada 580 nacimientos; en 1978, 1 caso por cada 537 y en 1979, 1 caso por cada 500. Como se puede observar, en poco tiempo y por causas aún no explicadas ampliamente, la incidencia en Quito ha subido de una manera muy notoria.

En 1996 se realizó un estudio en la Maternidad Isidro Ayora observando que de 161 neonatos con malformaciones múltiples, hubo 26 casos (16,1%) con labio y paladar hendido. En el presente estudio se analizaron las fisuras faciales (labial, labio-palatina y palatina) como un modelo para entender la mecánica del análisis genético de un determinado carácter humano, que en última instancia nos llevaría a la comprobación de su posible origen o a plantear nuevas interpretaciones de su modelo de herencia. Se puso atención en la relación entre la severidad de la afección y el sexo del individuo; grado de severidad, antecedentes familiares, recurrencia y heredabilidad versus el grado de parentesco.

Para analizar las fisuras orales en el Ecuador, estudiamos individuos que presentaron diversas alteraciones: fisura labial con fisura palatina (FLP), fisura labial sin fisura palatina (FL) o fisura palatina aislada (FP). A todos se les realizó una evaluación clínica-genética, y por interés investigativo se realizó un estudio citogenético para detectar la presencia de alguna anomalía cromosómica y poder establecer relaciones con las fisuras faciales. Para esto se usó la técnica citogenética estándar.

Se estudió la frecuencia de presentación de fisuras en todos los casos evaluados genéticamente. A los afectos se los dividió en 4 grupos de estudio: fisura aislada, fisura asociada con otras malformaciones, fisura sindrómica (como componente de un síndrome establecido o cuando existen 3 o más malformaciones asociadas sin conformar un

síndrome definido) y fisuras dentro de cromosopatías. Se han diferenciado también 4 tipos de fisuras: fisura palatina (FP), fisura labial unilateral (FLu), fisura labial bilateral (FLb) y fisura labial más fisura palatina (FLP).

Adicionalmente, se realizaron genealogías de los individuos afectados dividiéndolos de acuerdo al sexo y analizando la incidencia de la afección según el grado de parentesco. En 64 individuos afectados pertenecientes a 60 familias, se calculó, las frecuencias de los diferentes tipos de fisuras. Entre paréntesis se encuentra los datos del total de familiares de los afectados de acuerdo al grado de parentesco. Es importante aclarar que en cuanto a los datos de parientes de primer grado solamente constan los datos de los hermanos de los individuos afectados estudiados.

6.1.1. Fisura palatina

La fisura palatina fue la más frecuente con 32 afectados que representan el 50% del total. Se encontró un mayor porcentaje en mujeres, 18 (56,3%) frente a 14 varones (43,7%). Al analizar los datos con mayor detalle se observaron 13 casos aislados (8 mujeres y 5 varones), 10 casos como parte de síndromes conocidos, 6 asociados con otras malformaciones y 3 casos relacionados con alteraciones cromosómicas (Tabla VI.5).

Tabla VI.5. Individuos con fisura palatina y sus familiares afectados

Afección	#	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Total familias
Aislada	13	3 (48)	4 (156)	2 (208)	27
Asociadas a malformaciones	6	2 (17)	1 (84)	0 (118)	7
Fisura facial y alteración cromosómica	3	0 (7)	0 (31)	0 (25)	7
Fisura facial en síndrome	10	0 (29)	1 (44)	0 (40)	19
Total	32	5 (101)	6 (315)	2 (391)	60

6.1.2. Fisura labio-palatina

Se encontraron 27 individuos afectados (42%), de los cuales fueron 15 varones (55,5%) y 12 mujeres (44,5%). De estos, 13 casos fueron aislados (7 varones y 6 mujeres), 9 asociados con síndromes, 3 con alteraciones cromosómicas y 2 con otras malformaciones (Tabla VI.6).

Tabla VI.6. Individuos con fisura labio-palatina y sus familiares afectados

Afección	#	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Total familias
Aislada	13	4 (48)	0 (156)	0 (208)	27
Asociadas a malformaciones	2	1 (17)	1 (84)	0 (118)	7
Fisura facial y alteración cromosómica	3	0 (7)	0 (31)	0 (25)	7
Fisura facial en síndrome	9	0 (29)	1 (44)	0 (40)	19
Total	27	5 (101)	2 (315)	0 (391)	60

6.1.3. Fisura labial

Se encontraron 5 individuos afectados, 3 con FLu y 2 con FLb, de los cuales 4 fueron varones (80%) y 1 mujer (20%); de estos 1 caso relacionado con alteraciones

cromosómicas y 4 casos aislados (Tabla VI.7). Según Oliver & Jones, el labio fisurado es más probable que aparezca en los varones, lo que de alguna manera corrobora los datos de este estudio que, aunque son pocos, muestran un mayor porcentaje de afectos entre los varones (Oliver & Jones, 1997).

Tabla VI.7. Individuos con fisura labial y sus familiares afectos

Afección	FLu	FLb	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Total familias
Aislada	3	1	1 (48)	2 (156)	0 (208)	27
Asociadas a malformaciones	0	0	0 (17)	1 (84)	0 (118)	7
Fisura facial y alteración cromosómica	0	1	0 (7)	0 (31)	0 (25)	7
Fisura facial en síndrome	0	0	0 (29)	0 (44)	0 (40)	19
Total	3	2	1 (101)	3 (315)	1 (391)	60

6.1.4. Asociaciones malformativas

En cuanto a las malformaciones asociados a las fisuras faciales se pudo observar que 6 casos se asociaron con FP y 2 casos con FLP; 3 de las 4 cardiopatías encontradas se presentaron en FP, lo que sugiere que ante tal presencia puede haber un riesgo mayor a otras malformaciones y en especial un 42,8% a una cardiopatía. En lo que a síndromes asociados a fisuras faciales se refiere, se encontró que de los 19 hallados, 9 presentaron FLP (47,3%) y 10 FP (52,7%). Dentro de estos síndromes, 6 presentaron cardiopatías (31,5%), 3 con trastornos del sistema nervioso central (15,7%), 3 con alteraciones en miembros inferiores (15,7%), 3 con alteraciones craneofaciales (15,7%) y 2 en genitales (10,5%).

6.1.5. Análisis estadístico comparativo

Al comparar el número total de casos de FLP + FL (cuyo resultado es la suma de datos de FLu y FLb) con la FP total, no existen diferencias significativas ($p > 0,05$). En el caso de la FP aislada, al ser comparada con los otros tipos de fisuras palatinas, no se observaron diferencias significativas ni con la asociada ni con la sindrómica ($p > 0,05$), pero sí hay diferencias con la FP en cromosopatías ($p < 0,01$). Esta diferencia podría deberse a que los casos de cromosopatías son muy pocos o debido a que la etiopatogenia es diferente, lo que sería más probable.

Al comparar la FLP aislada con los otros grupos, ocurre todo lo contrario con las fisuras asociadas y cromosómicas, ya que las diferencias encontradas son significativas ($p < 0,001$ y $p < 0,01$ respectivamente), mientras que con las sindrómicas no existen diferencias ($p > 0,05$). La explicación puede ser similar a la anterior ya que en el caso de FLP asociada sólo se registraron 2 casos.

Finalmente, al comparar el comportamiento de la FP y la FLP no se encontró diferencia alguna en los grupos ($p > 0,05$).

El cálculo de la recurrencia se lo realizó considerando el número de afectos sobre el total de parientes por grado de consanguinidad, los resultados de la recurrencia se los presenta en la Tabla VI.8. Se conoce que la frecuencia y recurrencia de las fisuras

orales, labiopalatina y palatina, es diferente para cada grupo étnico, encontrándose que la presente población estudiada está dentro de los datos informados en la literatura.

Tabla VI.8. Recurrencia de fisura palatina, labial y labio-palatina

Afección	Recurrencia fisura palatina				Recurrencia fisura labial				Recurrencia fisura labio-palatina			
	Grado parentesco (%)			No. familia	Grado parentesco (%)			No. familia	Grado parentesco (%)			No. familia
1ro	2do	3ro	1ro		2do	3ro	1ro		2do	3ro		
Aislada	5/24 (20,8)	4/61 (6,5)	2/54 (3,7)	11	1/4 (25)	2/24 (8,3)	0/63 (0)	4	5/28 (17,8)	0/67 (0)	0/92 (0)	12
Asociadas a malformaciones	3/14 (21,4)	1/67 (1,4)	2/92 (2,1)	5	No existen afectos				1/5 (20)	2/17 (11,7)	0/23 (0)	2
Fisura facial en síndrome	0/16 (0)	1/24 (4,1)	0/18 (0)	10	No existen afectos				0/13 (0)	1/18 (5,5)	0/22 (0)	9
Fisura facial y alteración cromosómica	0/7 (0)	0/12 (0)	0/10 (0)	3	0/1 (0)	0/8 (0)	0/7 (0)	1	0/4 (0)	0/11 (0)	0/8 (0)	3

Adicionalmente, el análisis de los datos revela que cuando se encuentra la FP como patología en los ascendientes, en la generación analizada se presenta mayor número de afectos de fisuras (*probandus*). Cuando hay antecedentes de FL (5 afectos) solo se encontraron 3 *probandus*. Cuando hay antecedentes de FP (3 casos) hay mayor riesgo de recurrencia en las familias (10 afectos); en cambio cuando los antecedentes de FL o FLP (7 casos) están presentes, proporcionalmente de forma mayor a los de FP (3/7), la recurrencia parece ser menor o igual (6 casos). Lo que proporcionaría a la FP las características de una mayor penetrancia y severidad que la FLP.

Cuando se observa antecedentes familiares en la rama materna, especialmente por consanguinidad (7 afectos en las familias maternas), hay mayor número de *probandus* (7/14 con FLP y 7 con FP) que cuando los antecedentes están en la rama paterna (2 afectos) y 2 afectos probandi (1 con FP y 1 con FLP).

De 15 familias con antecedentes de fisuras de todos los tipos, en la rama materna se encontró 11 afectos (7 con FLP y 4 con FP) y 4 afectos en la rama paterna (2 con FLP y 2 con FP).

Cuando la consanguinidad está en la rama materna, se ha encontrado un mayor número de casos de FLP (50%) y cuando la consanguinidad está en la rama paterna, el otro 50% de casos son de FP. En otras palabras, la recurrencia familiar es 2,75 veces mayor en la rama materna que en la paterna y la FLP es 1,5 veces mayor que la FP.

Al analizar los factores ambientales que podrían intervenir en la etiopatogenia de las fisuras, y a los cuales se tuvo acceso, en las familias estudiadas se encontraron 2 individuos (3,3%) con antecedentes de importancia. Un caso de exposición a rayos X en el primer trimestre de embarazo (FL). Un caso de contagio con rubéola durante el embarazo (FP). También se observaron 9 familias (15%) con abortos por causa desconocida, los cuales se presentaron antes del nacimiento del *probandus*.

En conclusión, los datos de la investigación sobre heredabilidad, antecedentes familiares y recurrencia, apoyan los presentados en la literatura. Los resultados encontrados son válidos para esta población estudiada, existiendo, como se observa, una heterogeneidad geográfica ya descrita anteriormente en otros trabajos similares.

La incidencia de fisura palatina aislada fue más elevada con relación a las fisuras labio-palatinas y a las labiales. Así mismo, se encontró que la fisura palatina aislada es más frecuente en mujeres, mientras que la fisura labial aislada y labio-palatina fueron más frecuentes en hombres.

De acuerdo con la relación entre fisuras y otras afecciones, las fisuras palatinas aisladas son las que presentan mayor asociación con otro tipo de malformaciones, mientras que las labio-palatinas se asocian con menor frecuencia y las labiales aisladas en ningún caso; datos que concuerdan con otras investigaciones. De igual manera, esto está en mayor relación a una herencia con características más estables, como sería la dominante con penetrancia y expresividad variable, o un poligén (grupo de genes ligados transmitidos en conjunto) con herencia mendeliana. De todas maneras, el espectro de asociaciones es variado para los diferentes sistemas y órganos, lo que conduce a pensar que existiría un número de genes específicos que provocan las fisuras faciales clásicas y a éstos, se agregarían otros genes que producen la gran variación de fenotipos asociados o sindrómicos. Como sugieren los estudios de Shields, esto no contradice la herencia poligénica, en pacientes con fisura palatina aislada, aunque se agrega que ni un modelo multifactorial ni el de un solo locus principal es completamente compatible con la distribución de casos estudiados (Shields et al., 1981). Los autores propusieron la existencia de dos clases de fisura palatina no sindrómica:

- a) Fisura palatina familiar, la cual parece tener un componente autosómico dominante para su etiología.
- b) Fisura palatina no familiar, al demostrarse una frecuencia incrementada con el tiempo y un efecto de la edad materna, lo que parece estar relacionado con factores ambientales o herencia poligénica. Sin embargo, se sugirió que la etiología es probablemente heterogénea con algunas familias, mostrando herencia dominante modificada.

Finalmente, se considera el estudio de la afección humana: fisura oral, como un excelente modelo para comprender la distribución de los genes en las poblaciones y la manera en que las frecuencias de los mismos y sus genotipos se mantienen o cambian. A partir de este tipo de estudios se puede determinar los posibles genotipos de otros miembros de la familia del afecto y calcular los riesgos de recurrencia para los hermanos, hijos y otros familiares lejanos del individuo afecto, lo que sería de mucha utilidad en el consejo genético.

7

ORIGEN GENÉTICO DE LAS DISCAPACIDADES EN EL ECUADOR



ā[[\ • { ^ āæ[• ē! *

CAPÍTULO VII

ORIGEN GENÉTICO DE LAS DISCAPACIDADES EN EL ECUADOR

La Organización Mundial de la Salud estima que más de mil millones de personas a nivel mundial viven con algún tipo de discapacidad, correspondiendo al 15% de individuos de la población mundial en el año 2010. Esta cifra es superior a las estimaciones previas, 10% en el año 1970. El aumento de la prevalencia de los discapacitados con el paso del tiempo se debe a que la población está envejeciendo y el riesgo de discapacidad es superior en adultos mayores, y también al aumento mundial de enfermedades crónicas tales como los trastornos de la salud mental, las enfermedades cardiovasculares, la diabetes y el cáncer (OMS, 2011).

Estas cifras generan retos a la sociedad actual, las cuales se enfocan en la prevención, mejoramiento de la calidad de vida e integración social en igualdad de derechos de los discapacitados. Al amparo de este principio, así como cumpliendo las disposiciones legales ecuatorianas, se llevó a cabo en el Ecuador el “Primer estudio biopsicosocial clínico genético de las personas con discapacidad” dentro del programa gubernamental “Misión Solidaria Manuela Espejo (MSME)”.

Históricamente, en el Ecuador, el tema de las discapacidades ha sido trabajado desde los aportes de las ciencias médicas; sin embargo, las personas con discapacidad han estado, en su mayoría, relegadas y excluidas del desarrollo social debido, por un lado, a la ausencia de una política pública integral orientada al reconocimiento de sus derechos y, por otro, a una visión medicalizada y segmentada. Era necesario, por tanto, conocer las causas y factores que provocan y agravan una discapacidad, al igual que disponer de datos precisos, actuales y reales de la situación de las discapacidades en países como el Ecuador (Vázquez, 2011).

El Gobierno del Ecuador, en el año 2008, declaró el estado de emergencia para crear el sistema de prevención de discapacidades, atención y provisión de ayudas técnicas e insumos médicos, prestación de servicios de salud, capacitación y accesibilidad a través del mejoramiento e implementación de la infraestructura pública; también se declaró en emergencia al proceso de registro e identificación de las personas con discapacidad, y, en general, a todos los sectores que trabajan, llevan y ejecutan programas de discapacidad. Esta declaratoria de emergencia tuvo además, como objetivos, la articulación de los servicios que se encontraban segmentados y dispersos, e iniciar en el país la Convención sobre los derechos humanos de las personas con discapacidad, además de reconocerlos como sujetos con atención prioritaria y promover su inclusión integral en la esfera social.

Comprometido con la Constitución y la Convención sobre los derechos de las personas con discapacidad, el Gobierno del Ecuador declara la validez de la reivindicación de este grupo de individuos bajo la premisa de que es necesario generar en actores sociales, gobierno, organismos no gubernamentales y sociedad en general, la voluntad social y política de diseñar, observar e implementar todos los mecanismos que viabilicen el ejercicio y aplicación de los preceptos contenidos en ambos cuerpos jurídicos y, por ende, la reivindicación de los derechos de las personas con discapacidad

y sus respectivas familias. Para materializar en hechos esta política, se implementa el programa “Ecuador sin Barreras” (Decreto Ejecutivo 1188).

Durante los años 2007 y 2008, la planificación de este programa se orientó a la solución de los problemas que agravan la situación de discapacidad, entre los que se identificaron: la falta de servicios de salud especializados, una mínima e inadecuada inclusión laboral, insuficiente accesibilidad al medio físico, transporte, comunicación y al entorno cultural; y, deficiencias en el sistema educativo (INEC, 2013).

En este contexto, en el año 2009 nació la Misión Solidaria Manuela Espejo, estableciendo un Convenio Marco de Cooperación en materia de salud, e implementando el estudio y metodología ya realizado en Cuba (2001 – 2003) y Venezuela (2007 – 2008) (Ruíz et al., 2011).

1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN, EXCLUSIÓN Y ESTRATEGIA DE TRABAJO

Se realizó una investigación de carácter descriptivo, transversal entre los años 2009 y 2010 en el Ecuador. En el estudio se combinaron los métodos clínicos, epidemiológicos, pedagógicos y sociales, con el propósito de caracterizar a las personas con discapacidad que cumplieran con los criterios de inclusión.

A efectos de la investigación, se considera discapacidad a toda limitación grave para realizar actividades que tenga una persona en la actualidad, siempre que su duración total, es decir el tiempo que la padece o espera padecer, sea superior a un año. Se incluyen las personas que han atenuado o eliminado su discapacidad con el uso de ayudas técnicas extras, pero que tendrían dificultades importantes si no dispusieran de dicha ayuda. Forman parte del estudio las personas con discapacidades: físico motoras (parálisis de una extremidad superior o inferior, hemiplejia, hemiparesia, paraplejia, paraparesia, tetraplejia o tetraparesia, amputación de miembros, trastornos en la coordinación de movimientos, trastornos del sistema nervioso central u alteraciones del sistema osteoamioarticular); auditivas (sorderas, hipoacústica); visuales (ceguera total, debilidad visual); mentales (psicosis crónica, demencia); mixtas o múltiples; orgánicas o viscerales (sólo la insuficiencia renal crónica con criterio de diálisis) y discapacidad intelectual (grado leve o ligero, moderado, severo y profundo). Excluyendo las personas con discapacidad menor y con discapacidades temporales.

La Misión Solidaria Manuela Espejo conformó brigadas de trabajo compuestas por quintetos profesionales: médico, trabajador social, genetista, militar y psicólogo. La distribución de las brigadas se realizó atendiendo al estimado de personas con discapacidad a estudiar, que fue alrededor del 3% de la población total de cada una de las 24 provincias ecuatorianas según el censo del año 2001.

Los especialistas visitaron a las personas con discapacidad en sus propias viviendas, tanto en sectores rurales como en sectores urbanos. En la marcha, a toda persona identificada con discapacidad, que cumplía con los criterios de inclusión, se le realizaron entrevistas, historiales clínicos y revisiones médicas, abarcando las áreas psicopedagógica, social y clínico genética, según el caso particular de cada individuo y su discapacidad. Particularmente, las personas con afección intelectual requirieron de

una segunda visita del médico especialista para precisar su diagnóstico mientras que, las enfermeras tomaron muestras de sangre y orina para el análisis en el laboratorio.

Uno de los objetivos complementarios en la investigación fue la realización de estudios de laboratorio a todas aquellas personas que presentaron una discapacidad intelectual de la cual se sospechaba podría tener como causa una enfermedad genética; estos estudios fueron de carácter cromosómico, molecular y metabólico, según el caso.

Las muestras de sangre u orina se extrajeron, preferentemente, en los lugares donde residían las personas con discapacidad, pues en su mayoría son personas que viven en lugares alejados y en condiciones de pobreza. No obstante, siempre que fue posible, se trasladó al paciente a los subcentros de salud para la toma de las muestras en condiciones higiénicas de máxima asepsia. Todos los individuos o sus representantes legales firmaron el respectivo consentimiento informado y aceptaron su participación en este estudio.

Realizadas las tomas de las muestras de sangre u orina, estas fueron trasladadas al Centro Nacional de Genética Médica de Cuba, donde fueron procesadas. Con los resultados, el grupo de especialistas liderados por el Ministerio de Salud Pública, programaron el protocolo de atención para cada una de las personas.

2. EPIDEMIOLOGÍA DE LAS DISCAPACIDADES EN EL ECUADOR

Hasta el año 2010, en el Ecuador se determinó un total de 293743 personas con discapacidad, lo que corresponde a una prevalencia del país de 20,3 por cada 1000 habitantes. Del total de individuos afectos, 71417 presentaron discapacidad intelectual (24%) y 222326 otros tipos de discapacidades (76%).

A nivel territorial, el 49,5% de discapacitados estuvo presente en la región Costa, el 45,4% en la región Sierra, el 5% en la región de la Amazonía y el 0,1% en la región Insular. Probablemente, las diferencias porcentuales de discapacidades en las diferentes regiones del Ecuador se deban al número poblacional, a los problemas de seguridad laboral y a la complejidad en el tratamiento de los problemas físicos debido a escasos recursos.

En la Tabla VII.1 se detalla la prevalencia de discapacidad de las 24 provincias que conforman el territorio ecuatoriano. La provincia de Bolívar, perteneciente a la región Sierra, presentó la prevalencia más alta con 30,4 por cada 1000 habitantes, seguida en orden descendente por Cotopaxi (27,0), Chimborazo (26,9), Cañar (26,8), Carchi (26,4), Zamora Chinchipe (25,1). Las provincias que mayor número de discapacitados presentaron fueron: Guayas (74833), Pichincha (44675) y Manabí (27723).

Con respecto a la discapacidad intelectual, las provincias con mayor distribución proporcional son: Guayas (2,6), Manabí (1,1), Pichincha (1), El Oro (0,5), Los Ríos (0,5), Azuay (0,4), Esmeraldas (0,4) y Loja (0,4). Mientras que las provincias con mayor distribución proporcional en otras discapacidades son: Guayas (8), Pichincha (5), Manabí (2,8), El Oro (1,5) y Los Ríos (1,4).

Tabla VII.1. Número y tasa de prevalencia de discapacidad según provincias

Provincias	Clasificación				Total	Tasa / 1000 habitantes
	Discapacidad intelectual		Otras discapacidades			
	No.	Distribución proporcional	No.	Distribución proporcional		
Azuay	3035	0,4	9930	1,4	12965	18,2
Bolívar	1311	0,2	4280	0,6	5591	30,4
Cañar	1384	0,2	4654	0,7	6038	26,8
Carchi	774	0,1	3573	0,5	4347	26,4
Chimborazo	2261	0,3	10067	1,4	12328	26,9
Cotopaxi	2299	0,3	8742	1,2	11041	27,0
El Oro	3529	0,5	10332	1,5	13861	23,1
Esmeraldas	3004	0,4	6492	0,9	9496	17,8
Galápagos	85	0	187	0	272	10,8
Guayas	18352	2,6	56481	8	74833	20,5
Imbabura	1464	0,2	5924	0,8	7388	18,6
Loja	2897	0,4	7799	1,1	10696	23,8
Los Ríos	3462	0,5	9621	1,4	13083	16,8
Manabí	7957	1,1	19766	2,8	27723	20,2
Morona Santiago	756	0,1	2107	0,3	2863	19,4
Napo	635	0,1	1427	0,2	2062	13,9
Orellana	720	0,1	1570	0,2	2290	16,8
Pastaza	431	0,1	1303	0,2	1734	20,6
Pichincha	9481	1	35194	5	44675	17,3
Santa Elena	1625	0,2	4728	0,7	6353	20,6
Santo Domingo	1953	0,3	5167	0,7	7120	19,3
Sucumbíos	1096	0,2	2396	0,3	3492	19,8
Tungurahua	2194	0,3	9004	1,3	11198	23,2
Zamora Chinchipe	712	0,1	1582	0,2	2294	25,1
Total	71417		222326		293743	
Porcentaje	24		76		100	
				Tasa / 1000 habitantes		20,3

(MSME, 2013)

Con respecto a la prevalencia de personas con discapacidad según grupos de edades, el grupo de 60 y más años de edad presentó un total de 127616 individuos discapacitados y una prevalencia de 95 por cada 1000 habitantes, seguido por los grupos de 40 a 59 años (20,9), de 30 a 39 años (12,4), de 15 a 19 años (11,5), de 5 a 14 años (11) y de 0 a 4 años (6,2). Las provincias que mayor número de individuos discapacitados presentaron entre los 60 y más años de edad fueron Guayas (31351), Pichincha (20835), Manabí (10242) y Tungurahua (6369).

En la Tabla VII.2 se detalla el número y la prevalencia según el tipo de discapacidad en las 24 provincias. La discapacidad físico motora se presentó en el Ecuador como la causa más frecuente de discapacidad con un total de 107522 afectos y una prevalencia de 7,4 por cada 1000 habitantes. Los otros tipos de discapacidad desde la mayor hasta la menor prevalencia encontrada fueron: intelectual (4,9), múltiple (2,7), auditiva (2,3), visual (1,9), mental (0,8) e insuficiencia renal crónica (0,2). En relación a la discapacidad físico motora, las provincias con mayor prevalencia de individuos afectos fueron Chimborazo (11,5), Cañar (9,7) y Bolívar (9,66). Sobre la discapacidad intelectual, las provincias con mayor prevalencia fueron Zamora Chinchipe (7,8), Bolívar (7,1) y Loja (6,5) por cada 1000 habitantes.

Tabla VII.2. Prevalencia de personas según tipo de discapacidad y provincia

Provincia	Discapacidades													
	Intelectual	Tasa	Físico motora	Tasa	Múltiple	Tasa	Auditiva	Tasa	Visual	Tasa	Mental	Tasa	IRC	Tasa
Azuay	3035	4,2	4743	6,7	2138	3,0	1368	1,9	1034	1,5	489	0,7	158	0,2
Bolívar	1311	7,1	1774	9,7	868	4,7	946	5,2	488	2,7	189	1,0	15	0,1
Cañar	1384	6,2	2188	9,7	873	3,9	839	3,7	502	2,2	225	1,0	27	0,1
Carchi	774	4,7	1500	9,1	642	3,9	817	5,0	422	2,6	177	1,1	15	0,1
Chimborazo	2261	5,5	4708	11,5	2111	5,2	2092	5,1	872	2,1	258	0,6	26	0,1
Cotopaxi	2229	4,9	3837	8,4	1562	3,4	2120	4,6	955	2,1	250	0,6	18	0,04
El Oro	3529	5,9	5113	8,5	1760	2,9	1199	2,0	1339	2,2	795	1,3	126	0,2
Esmeraldas	3004	5,6	3523	6,6	658	1,2	863	1,6	1126	2,1	292	0,6	30	0,1
Galápagos	85	3,4	94	3,7	25	1,0	20	0,8	30	1,2	17	0,7	1	0,04
Guayas	18353	5,0	28893	7,9	9368	2,5	5930	1,6	7228	2,0	4224	1,2	838	0,2
Imbabura	1464	3,7	2285	5,7	912	2,3	1869	4,7	580	1,5	256	0,6	22	0,1
Loja	2897	6,5	3551	7,9	1367	3,0	1291	2,9	926	2,1	616	1,4	48	0,1
Los Ríos	3462	4,5	5393	6,9	1246	1,6	1135	1,5	1261	1,6	474	0,6	112	0,1
Manabí	7957	5,8	10508	7,7	2572	1,9	2622	1,9	2768	2,0	992	0,7	304	0,2
Morona Santiago	756	5,1	1052	7,1	315	2,1	319	2,2	317	2,1	97	0,7	7	0,1
Napo	635	6,1	681	6,6	149	1,4	343	3,3	206	2,0	41	0,4	7	0,1
Orellana	720	5,2	782	5,7	168	1,2	299	2,2	252	1,9	63	0,5	6	0,04
Pastaza	431	5,1	572	6,8	234	2,8	247	2,9	194	2,3	44	0,5	12	0,1
Pichincha	9481	3,7	15162	5,9	7887	3,1	5398	2,1	4358	1,7	1947	0,8	442	0,2
Santa Elena	1625	5,3	2460	8,0	670	2,2	656	2,1	632	2,1	266	0,9	44	0,1
Santo Domingo	1953	5,3	2842	7,7	724	2,0	694	1,9	551	1,5	288	0,8	68	0,2
Sucumbíos	1096	6,2	1087	6,2	221	1,3	537	3,0	420	2,4	125	0,7	6	0,03
Tungurahua	2194	4,4	4037	8,0	1954	3,9	1933	3,8	702	1,4	337	0,7	41	0,1
Zamora Chinchipe	712	7,8	737	8,1	257	2,8	291	3,2	196	2,1	90	1,0	11	0,1
Total	71417	4,9	107522	7,4	38681	2,7	33828	2,3	27359	1,9	12552	0,9	2384	0,2
Tasa / 1000 habitantes	4,9		7,4		2,7		2,3		1,9		0,8		0,2	

(IRC) Insuficiencia renal crónica.

(MSME, 2013)

En la Tabla VII.3 se detalla el número de individuos con discapacidad según la clasificación etiopatogénica y sus respectivas prevalencias. En el grupo postnatal se observó la prevalencia más alta con 11,9 por cada 1000 habitantes correspondiendo a un total de 172680 individuos con discapacidad. Los siguientes grupos con mayor prevalencia fueron prenatal (5,8) y perinatal (1,9).

Con respecto al grupo postnatal, las provincias que más individuos discapacitados presentaron fueron Guayas (44328), Pichincha (26267) y Manabí (15524).

Tabla VII.3. Prevalencia y etapa de desarrollo de las discapacidades

Provincias	Prenatal	Perinatal	Postnatal	Psicosis	Inclasificado	Total	Porcentaje
Azuay	3546	1234	7847	44	294	12965	4,4
Bolívar	1689	472	3167	15	248	5591	1,9
Cañar	1673	528	3695	17	125	6038	2,1
Carchi	1115	271	2823	11	127	4347	1,5
Chimborazo	2981	849	8190	23	285	12328	4,2
Cotopaxi	2872	670	7175	24	300	11041	3,8
El Oro	4251	1427	7872	56	255	13861	4,7
Esmeraldas	2985	902	5223	36	350	9496	3,2
Galápagos	94	36	135	1	6	272	0,1
Guayas	20611	7972	44328	383	1539	74833	25,5
Imbabura	2134	590	4364	25	275	7388	2,5
Loja	3520	1124	5823	31	198	10696	3,6
Los Ríos	3624	1270	7817	33	339	13083	4,5
Manabí	8656	2861	15524	87	595	27723	9,4
Morona Santiago	850	304	1648	11	50	2863	1,0
Napo	710	203	1090	7	52	2062	0,7
Orellana	739	265	1218	11	57	2290	0,8
Pastaza	490	172	1037	3	32	1734	0,6
Pichincha	12782	4226	26267	157	1243	44675	15,2
Santa Elena	2107	724	3366	24	132	6353	2,2
Santo Domingo	2149	724	4096	28	123	7120	2,4
Sucumbios	1175	341	1874	11	91	3492	1,2
Tungurahua	3168	838	6873	23	296	11198	3,8
Zamora Chinchipe	735	287	1228	6	38	2294	0,8
Total	84656	28290	172680	1067	7050	293743	100
Porcentaje	28,8	9,6	58,8	0,4	2,4	100	
Tasa/ 1000 habitantes	5,8	1,9	11,9	0,1	0,5	20,3	

(MSME, 2013)

3. FACTORES GENÉTICOS ASOCIADOS A LAS DISCAPACIDADES

El estudio de la Misión Solidaria Manuela Espejo permitió identificar los defectos congénitos y enfermedades genéticas que aquejan a las personas con discapacidad intelectual.

Existen diversos factores, entre ellos los ambientales, que al actuar en etapas tempranas del desarrollo del embrión pueden desencadenar defectos malformativos debido a la alteración del material genético.

Con respecto a las causas prenatales de 20285 personas con discapacidad intelectual en el Ecuador, se observó un predominio de las etiologías multifactoriales (42%) y cromosómicas (42%). Las provincias con mayor prevalencia de etiología prenatal genética encontrada son Zamora Chinchipe (2,41), Bolívar (2,28) y Loja (2,11). No se posee información de los otros 51132 casos (Tabla VII.4).

En la etiología prenatal genética multifactorial, además del perfil genético de cada individuo, se asocian otros factores ambientales que permite el desarrollo de un fenotipo específico que presente discapacidad cognitiva. Se evidenció antecedente familiar de retraso mental y la existencia de consanguinidad parental en 8526 personas.

La consanguinidad es el fenómeno responsable de las altas frecuencias de enfermedades genéticas asociadas a las discapacidades en varias provincias del país. Con respecto a la etiología cromosómica, 8450 personas presentaron este problema, correspondiendo la gran mayoría al diagnóstico con el síndrome de Down.

Tabla VII.4. Clasificación de las causas genéticas en personas con discapacidad

Provincias	Clasificación etiológica						Total	Tasa
	Monogénico	Tasa	Cromosómico	Tasa	Multifactorial	Tasa		
Azuay	179	0,25	298	0,42	449	0,63	926	1,30
Bolívar	54	0,29	109	0,59	256	1,39	419	2,28
Cañar	94	0,42	118	0,52	219	0,97	431	1,91
Carchi	102	0,62	54	0,33	101	0,61	257	1,56
Cotopaxi	252	0,62	155	0,38	262	0,64	669	1,63
Chimborazo	123	0,27	146	0,32	420	0,92	689	1,50
El Oro	151	0,25	446	0,74	509	0,85	1106	1,84
Esmeraldas	164	0,31	318	0,60	363	0,68	845	1,58
Galápagos	2	0,08	10	0,40	12	0,48	24	0,96
Guayas	402	0,11	2446	0,67	1910	0,52	4758	1,31
Imbabura	82	0,21	136	0,34	129	0,32	347	0,87
Loja	232	0,52	328	0,73	389	0,87	949	2,11
Los Ríos	128	0,16	551	0,71	282	0,36	961	1,24
Manabí	553	0,40	1050	0,77	642	0,47	2245	1,64
Morona Santiago	36	0,24	87	0,59	96	0,65	219	1,48
Napo	51	0,49	68	0,66	51	0,49	170	1,64
Orellana	61	0,45	75	0,55	85	0,62	221	1,62
Pastaza	34	0,41	44	0,52	41	0,49	119	1,42
Pichincha	296	0,11	1120	0,43	1202	0,47	2618	1,02
Santa Elena	34	0,11	187	0,61	221	0,72	442	1,43
Santo Domingo	53	0,14	286	0,78	280	0,76	619	1,68
Sucumbios	78	0,44	128	0,73	128	0,73	334	1,89
Tungurahua	87	0,17	218	0,43	392	0,78	697	1,38
Zamora Chinchipe	61	0,67	72	0,79	87	0,95	220	2,41
Total	3309	0,23	8450	0,58	8526	0,59	20285	1,40
Porcentaje	16		42		42		100	

(MSME, 2013)

3.1. Agentes ambientales como causas prenatales

La exposición a ciertos factores ambientales desencadena un importante número de defectos congénitos y fetopatías asociadas con discapacidad. Ejemplos históricos de alteración del material genético son las bombas atómicas en Hiroshima y Nagasaki, las

sustancias tóxicas en Chernóbil y Fukushima, la ingestión de talidomina y el uso indiscriminado de pesticidas como el glifosato (Paz-y-Miño & López-Cortés, 2011).

En relación a los agentes ambientales en personas con discapacidad intelectual, se puede observar una asociación en 4716 personas del Ecuador. La hipertensión se encuentra presente en el 27% de los individuos, seguido de las infecciones fetales (26%), alcoholismo (9%), hipertermia (7%), afecciones fetales (5%) y drogas (2%).

En cuanto a las provincias del Ecuador, las tasas más altas de individuos afectados con agentes ambientales son Esmeraldas (0,67), Sucumbíos (0,57), Orellana (0,52), Cotopaxi (0,50), Pastaza (0,48), Napo (0,47), Carchi (0,43), Cañar (0,41), Manabí (0,39), Bolívar (0,38), Guayas (0,36), Los Ríos (0,35), El Oro (0,32), Zamora Chinchipe (0,31), Loja (0,29), Morona Santiago (0,29), Santa Elena (0,28), Santo Domingo (0,28), Azuay (0,23), Imbabura (0,22), Pichincha (0,20), Chimborazo (0,20), Tungurahua (0,19) y Galápagos (0,16).

Con respecto al grupo prenatal inespecífico, se observó que 3567 personas presentaron epilepsia, 3005 presentaron antecedentes de discapacidad de parientes lejanos, 1207 mostraron patrones dismórficos que no especifican una enfermedad genética encuadrable o atribuida a otros factores (Tabla VII.5).

Los médicos brigadistas observaron que la mayoría de las madres cuyos hijos se encuentran en el grupo “crecimiento intrauterino retardado”, mencionaron que no tuvieron conocimiento ni control de su gestación. Las provincias con mayor frecuencia de causas prenatales inespecíficas fueron Guayas (2225), Manabí (1123) y Pichincha (1034).

3.2. Causas perinatales y postnatales en la discapacidad intelectual

En la Tabla VII.6 se detallan los eventos relacionados con el parto y los siete días posteriores al mismo como causa de discapacidad intelectual mediante recordatorio. Los eventos que ocurrieron con mayor frecuencia fueron la hipoxia (14652), la prematuridad (5405), los traumas perinatales (798) y la sepsis (256). Mientras que las provincias con mayor tasa fueron Zamora Chinchipe (2,85), Bolívar (2,30) y Loja (2,23).

Con respecto a los factores postnatales evidenciados por recordatorio, las infecciones del SNC afectan a 3853 personas (especialmente meningoencefalitis), los traumas o accidentes ocurrieron en 2290 personas y las infecciones en 1753 individuos (Tabla VII.7). Las medidas sanitarias en todas las regiones del Ecuador son de extrema importancia, y van a la par del proceso de educación de la población. Los programas de salud con respecto a la vacunación han tenido bastante éxito a nivel nacional, pero aún existen zonas rurales con condiciones higiénicas extremadamente desfavorables.

En conclusión, todos los factores ambientales, perinatales y postnatales, en su gran mayoría son prevenibles, por lo que, si se reducirían a cero, las cifras de discapacidad intelectual podría llegar a ser inferiores. Esta labor es clave siempre y cuando las diferentes instituciones públicas, privadas y sociedad se unan para trabajar por un mismo beneficio.

Tabla VII.5. Número y tasa del grupo prenatal inespecífico

Provincias	Dismorfias	Tasa	MCA	Tasa	AF	Tasa	Epilepsia	Tasa	CIR	Tasa	Total	Tasa
Azuay	72	0,10	17	0,02	157	0,22	145	0,20	22	0,03	413	0,58
Bolívar	25	0,14	3	0,02	68	0,37	45	0,25	16	0,09	157	0,85
Cañar	13	0,06	5	0,02	51	0,23	56	0,25	16	0,07	141	0,63
Carchi	16	0,10	2	0,01	18	0,11	26	0,16	18	0,11	80	0,49
Chimborazo	38	0,09	9	0,02	148	0,36	79	0,19	28	0,07	302	0,74
Cotopaxi	57	0,12	5	0,01	155	0,34	98	0,21	30	0,07	345	0,75
El Oro	57	0,09	20	0,03	162	0,27	183	0,30	30	0,05	452	0,75
Esmeraldas	66	0,12	22	0,04	147	0,28	131	0,25	30	0,06	396	0,74
Galápagos	2	0,08	-	0,00	2	0,08	6	0,24	-	0,00	10	0,40
Guayas	256	0,07	107	0,03	590	0,16	1014	0,28	258	0,07	2225	0,61
Imbabura	40	0,10	6	0,02	116	0,29	59	0,15	22	0,06	243	0,61
Loja	49	0,11	16	0,04	139	0,31	129	0,29	30	0,07	363	0,81
Los Ríos	82	0,11	20	0,03	143	0,18	174	0,22	30	0,04	449	0,58
Manabí	111	0,08	31	0,02	429	0,31	485	0,35	67	0,05	1123	0,82
Morona Santiago	15	0,10	2	0,01	22	0,15	34	0,23	11	0,07	84	0,57
Napo	21	0,20	1	0,01	35	0,34	34	0,33	7	0,07	98	0,95
Orellana	27	0,20	3	0,02	23	0,17	28	0,21	3	0,02	84	0,62
Pastaza	9	0,11	1	0,01	6	0,07	18	0,21	4	0,05	38	0,45
Pichincha	149	0,06	52	0,02	277	0,11	427	0,17	129	0,05	1034	0,40
Santa Elena	28	0,09	8	0,03	55	0,18	113	0,37	25	0,08	229	0,74
Santo Domingo	25	0,07	6	0,02	87	0,24	100	0,27	25	0,07	243	0,66
Sucumbios	19	0,11	6	0,03	53	0,30	48	0,27	26	0,15	152	0,86
Tungurahua	23	0,05	6	0,01	95	0,19	91	0,18	27	0,05	242	0,48
Zamora Chinchipe	7	0,08	4	0,04	27	0,30	44	0,48	7	0,08	89	0,97
Total	1207	0,08	352	0,02	3005	0,21	3567	0,25	861	0,06	8992	0,68
Porcentaje	13		4		33		40		10		100	

(MCA) Malformaciones congénitas asociadas; (AF) Antecedentes familiares; (CIR) Crecimiento intrauterino retardado.

(MSME, 2013)

Tabla VII.6. Grupo perinatal y causas asociadas al parto

Provincias	Hipoxia	Tasa	TP	Tasa	Prematuridad	Tasa	Sepsis	Tasa	Otras	Tasa	Total	Tasa
Azuay	642	0,90	34	0,048	218	0,31	7	0,010	162	0,23	1063	1,49
Bolívar	288	1,57	12	0,065	59	0,32	4	0,022	59	0,32	422	2,30
Cañar	318	1,41	24	0,107	71	0,32	1	0,004	30	0,13	444	1,97
Carchi	176	1,07	6	0,036	25	0,15	1	0,006	21	0,13	229	1,39
Chimborazo	463	0,97	22	0,048	106	0,12	6	0,013	87	0,12	684	1,26
Cotopaxi	445	1,13	22	0,054	53	0,26	6	0,015	54	0,21	580	1,67
El Oro	809	1,35	33	0,055	247	0,41	6	0,010	128	0,21	1223	2,04
Esmeraldas	461	0,86	33	0,062	105	0,20	17	0,032	151	0,28	767	1,44
Galápagos	21	0,84	-	-	7	0,28	2	0,080	3	0,12	33	1,31
Guayas	3678	1,01	200	0,055	1960	0,54	66	0,018	1030	0,28	6934	1,90
Imbabura	269	0,68	22	0,055	100	0,25	4	0,010	84	0,21	479	1,20
Loja	673	1,50	22	0,049	162	0,36	9	0,020	133	0,30	999	2,23
Los Ríos	612	0,79	41	0,053	237	0,30	16	0,021	193	0,25	1099	1,41
Manabí	1602	1,17	99	0,072	516	0,38	46	0,034	216	0,16	2479	1,81
Morona Santiago	160	1,08	8	0,054	43	0,29	2	0,014	45	0,30	258	1,74
Napo	118	1,14	3	0,029	23	0,22	4	0,039	21	0,20	169	1,63
Orellana	138	1,01	6	0,044	50	0,37	3	0,022	23	0,17	220	1,61
Pastaza	84	1,00	4	0,048	34	0,41	4	0,048	18	0,21	144	1,72
Pichincha	2211	0,86	114	0,044	841	0,33	24	0,009	323	0,13	3513	1,36
Santa Elena	352	1,14	17	0,055	158	0,51	9	0,029	79	0,26	615	1,99
Santo Domingo	369	1,00	23	0,062	139	0,38	6	0,016	95	0,26	632	1,72
Sucumbíos	182	1,03	12	0,068	59	0,33	5	0,028	30	0,17	288	1,63
Tungurahua	415	0,82	27	0,054	134	0,27	7	0,014	130	0,26	713	1,41
Zamora Chinchipe	166	1,82	14	0,153	58	0,63	1	0,011	21	0,23	260	2,85
Total	14652	1,01	798	0,055	5405	0,37	256	0,018	3136	0,22	24247	1,67
Porcentaje	60		3		22		1		13		100	

(TP) Traumas perinatales.

(MSME, 2013)

Tabla VII.7. Grupo postnatal y causas asociadas al parto

Provincias	Infecciones	Tasa	Infección SNC	Tasa	Traumas	Tasa	Otros	Tasa	Total	Tasa
Azuay	46	0,06	89	0,12	107	0,15	19	0,03	261	0,37
Bolívar	28	0,15	40	0,22	44	0,24	7	0,04	119	0,65
Cañar	32	0,14	61	0,27	64	0,28	8	0,04	165	0,73
Carchi	17	0,10	28	0,17	23	0,14	5	0,03	73	0,44
Chimborazo	43	0,11	90	0,24	103	0,18	14	0,04	250	0,61
Cotopaxi	52	0,11	111	0,22	81	0,25	17	0,03	266	0,58
El Oro	69	0,11	157	0,26	113	0,19	26	0,04	365	0,61
Esmeraldas	112	0,21	210	0,39	92	0,17	26	0,05	470	0,88
Galápagos	-	-	7	0,28	-	-	1	0,04	8	0,32
Guayas	416	0,11	993	0,27	540	0,15	114	0,03	2067	0,57
Imbabura	23	0,06	74	0,19	58	0,15	11	0,03	166	0,42
Loja	62	0,14	137	0,31	83	0,18	12	0,03	294	0,65
Los Ríos	144	0,19	260	0,33	81	0,10	30	0,04	515	0,66
Manabí	338	0,25	587	0,43	223	0,16	61	0,04	1209	0,88
Morona Santiago	26	0,18	54	0,37	23	0,16	8	0,05	111	0,75
Napo	18	0,17	52	0,50	26	0,25	11	0,11	107	1,03
Orellana	24	0,18	39	0,29	14	0,10	9	0,07	86	0,63
Pastaza	13	0,15	27	0,32	21	0,25	3	0,04	64	0,76
Pichincha	126	0,05	468	0,18	341	0,13	48	0,02	983	0,38
Santa Elena	41	0,13	76	0,25	51	0,17	14	0,05	182	0,59
Santo Domingo	46	0,12	107	0,29	71	0,19	16	0,04	240	0,65
Sucumbios	33	0,19	76	0,43	42	0,24	10	0,06	165	0,93
Tungurahua	29	0,06	82	0,16	60	0,12	8	0,02	179	0,35
Zamora Chinchipe	15	0,16	28	0,31	29	0,32	10	0,11	82	0,90
Total	1753	0,12	3853	0,27	2290	0,16	488	0,03	8427	0,58
Porcentaje	21		46		27		6		100	

(SNC) Sistema nervioso central.

(MSME, 2013)

Además de todas las causas prenatales, perinatales y postnatales, las brigadas médicas han determinado diferentes patologías genéticas presentes en un grupo de personas con discapacidad. Las diferentes enfermedades se enlistan en la siguiente tabla:

Tabla VII.8. Otras patologías genéticas presentes en personas con discapacidad

Patologías genéticas	
Aarskog	Hurler
Albinismo	Incompatibilidad Rh
Alcoholismo fetal	Incontinencia pigmentaria
Aminoacidemia orgánica	Insensibilidad congénita al dolor
Apert	Kabuki
Artrogiposis	Klinefelter
Asimetrías faciales	Kniest
Ataxia cerebelosa	Laron
Atrofia espinal	Leucodistrofia metacromática
Barden Bield	Marfan
Corea de Huntington	Meningocele
Cornellia de Lange	Microftalmia de Lenz
Craniocinostosis	Mielomeningocele
Crecimiento intrauterino retardado	Miller Dieker
Crouzon	Morgan
Diabetes mellitus	Morquio
Dismorfias faciales inclasificadas	Neurofibromatosis tipo I
Dismorfias inclasificables	Noonan
Disostosis mandibulofacial	Norrie
Displasia ectodérmica	Olivier McFarlane
Displasia esquelética	Otopalatodigital II
Displasia frontometafisiaria	Pentasomia X
Displasia frontonasal	Polimalformaciones inclasificadas
Distrofia miotónica de Steinert	Prader Willi
Distrofia muscular Duchenne	Preclamsia
Down	Progeria
Dyggve-Melchior-Clausen	Proteus
Elis Van Klever	Pubertad precoz
Epilepsia	Retardo mental
Retardo mental ligado al X	Rett
Esclerosis tuberosa	Robinow
Fenilcetonuria	Rubeola congénita
Genodermatosis	Rubinstein Taybi
Hidrocefalia	Seckel
Hipomelanosis de Ito	Silver Russel
Hipotiroidismo congénito	Sphrintzer
Hunter	Williams
Cromosomopatías	
9qh+	del 17 (p11.2)
Mauilido de gato 5p-	Pentasomia X
Prader Willi	Trisomía 18
Turner	Wolf 4p-
X frágil	Trisomía 21

(MSME, 2013)

4. SÍNDROME DE DOWN EN EL ECUADOR

El síndrome de Down es un trastorno genético que puede ser causado por varios factores, siendo uno de ellos la presencia de una copia extra del cromosoma 21 (trisomía 21), y otro, la duplicación de la región 21q22. Los individuos con este síndrome presentan un grado variable de retraso mental y rasgos físicos peculiares que le dan un aspecto reconocible. Es la causa más frecuente de discapacidad psíquica congénita y debe su nombre a John Langdon Haydon Down, que fue el primero en describir esta alteración genética en 1866.

Más del 90% de casos con este síndrome deben el exceso del cromosoma 21 a un error ocurrido durante la primera división meiótica de la célula germinal (ovario o espermatozoide). La generación del cariotipo 47, XX, +21 en mujeres y 47, XY, +21 en hombres se debe a una disyunción incompleta del material genético.

El mosaico es la forma menos frecuente del síndrome de Down. Esta mutación se produce tras la concepción, por lo que la trisomía no está presente en todas las células del individuo con síndrome de Down, sino sólo en aquellas cuya estirpe procede de la primera célula mutada.

A nivel citogenético se ha encontrado que una baja cantidad de oxígeno predispone a la no disyunción cromosómica. Por ello, es probable que el factor ambiental predominante en sitios andinos de gran altura, de alguna forma incremente el riesgo de presentar los rearrreglos observados a nivel genético y cromosómico en los individuos ecuatorianos con síndromes (Paz-y-Miño et al., 2002a).

Con respecto a la Misión Solidaria Manuela Espejo, del total de personas con síndrome de Down (7792) por grupo de edad, se evidencia que el mayor número de casos (4937) se concentra en las edades pediátricas (menores de 19 años). Este dato es relevante debido a que esta etapa se considera como escolar, y es cuando se pueden desarrollar las potencialidades y habilidades pedagógicas para un mejor desempeño en la vida. Las provincias con mayor prevalencia de síndrome de Down son Manabí (0,74), Santo Domingo (0,72) y Zamora Chinchipe (0,67) (Tabla VII.9).

Tabla VII.9. Tasa de personas con síndrome de Down en el Ecuador

Provincias	Grupos de edad (años)														Total	Tasa
	0 a 4	Tasa	5 a 14	Tasa	15 a 19	Tasa	20 a 29	Tasa	30 a 39	Tasa	40 a 59	Tasa	> 60	Tasa		
Azuay	59	0,86	84	0,57	30	0,40	52	0,40	38	0,42	14	0,11	1	0	278	0,39
Bolívar	15	0,80	28	0,65	19	1,01	16	0,60	15	0,71	10	0,32	1	0	104	0,57
Cañar	25	1,09	32	0,63	18	0,72	23	0,62	7	0,28	3	0,08	-	0	108	0,48
Carchi	8	0,52	15	0,44	6	0,37	16	0,62	3	0,13	1	0,03	-	0	49	0,30
Chimborazo	18	0,40	42	0,42	18	0,37	30	0,40	13	0,24	7	0,09	2	0	130	0,32
Cotopaxi	18	0,42	50	0,53	25	0,59	25	0,37	8	0,16	2	0,03	1	0	129	0,28
El Oro	70	1,25	121	0,97	54	0,91	73	0,71	38	0,44	19	0,16	2	0	377	0,63
Esmeraldas	42	0,65	104	0,78	46	0,83	59	0,68	28	0,43	21	0,24	4	0	304	0,57
Galápagos	1	0,47	4	0,83	-	-	2	0,44	-	-	1	0,19	-	-	8	0,32
Guayas	438	1,22	777	1,06	305	0,90	380	0,60	225	0,42	184	0,25	4	0	2313	0,63
Imbabura	29	0,74	40	0,45	17	0,43	15	0,23	9	0,18	5	0,07	1	0	116	0,29
Loja	42	0,95	97	0,99	39	0,83	63	0,87	26	0,49	18	0,22	-	0	285	0,63
Los Ríos	68	0,81	154	0,88	74	0,96	86	0,68	77	0,72	42	0,30	3	0	504	0,65
Manabí	109	0,78	297	0,78	117	0,86	223	1,01	156	0,84	103	0,40	12	0	1017	0,74
Morona Santiago	13	0,59	27	0,66	14	0,85	10	0,42	10	0,63	1	0,05	1	0	76	0,51
Napo	15	1,10	23	0,85	10	0,88	11	0,64	3	0,23	4	0,26	-	-	66	0,64
Orellana	18	0,97	24	0,69	9	0,63	12	0,49	3	0,16	3	0,15	-	-	69	0,51
Pastaza	10	0,93	18	0,85	1	0,11	7	0,49	2	0,19	2	0,16	-	-	40	0,48
Pichincha	220	0,93	326	0,67	131	0,55	193	0,40	71	0,18	58	0,11	6	0	1005	0,39
Santa Elena	30	0,82	64	0,95	17	0,57	33	0,63	15	0,35	11	0,20	2	0	172	0,56
Santo Domingo	51	1,26	88	1,05	26	0,68	54	0,83	22	0,44	21	0,33	3	0	265	0,72
Sucumbíos	19	0,89	43	0,99	12	0,62	22	0,70	12	0,50	3	0,11	1	0	112	0,63
Tungurahua	40	0,88	67	0,69	27	0,54	33	0,38	24	0,34	11	0,11	2	0	204	0,40
Zamora Chinchipe	10	0,90	21	0,88	9	0,89	11	0,73	7	0,67	3	0,22	-	-	61	0,67
Total	1368	0,94	2546	0,84	1024	0,72	1449	0,58	812	0,40	547	0,20	46	0	7792	0,54
Porcentaje	18,5		33		13		19		10		7		0,5		100	

(MSME, 2013)

El riesgo de nacimientos con síndrome de Down se incrementa con la edad materna avanzada (ver el *Capítulo XV. Aspectos genéticos del crecimiento y desarrollo*). La prevalencia de este síndrome al nacimiento es de 1 por cada 1000 nv en mujeres menores de 35 años, mientras que a partir de los 35 años se incrementa a 1 por cada 275 nacimientos, y en mujeres mayores de 40 años a 1 por cada 100.

En Ecuador, el 48% de las madres de los nacidos con síndrome de Down, los tuvieron en edades inferiores a los 35 años, mientras que el 52% de ellas tenía 35 años o más en el momento de la concepción, sugiriendo que las madres con edad avanzada presentan mayores riesgos de tener hijos con este síndrome debido al envejecimiento celular o a problemas genéticos adquiridos con la edad (Tabla VII.10).

Tabla VII.10. Personas con síndrome de Down y edad materna en el embarazo

Provincias	Grupos de edad (años)					Total
	< 20	20 a 34	35 a 39	> 40	No sabe	
Azuay	28	112	50	83	5	278
Bolívar	4	38	20	41	1	104
Cañar	3	45	22	37	1	108
Carchi	3	22	4	20	-	49
Chimborazo	8	51	12	55	4	130
Cotopaxi	12	53	19	43	2	129
El Oro	35	147	72	116	7	377
Esmeraldas	23	94	62	121	4	304
Galápagos	1	6	-	1	-	8
Guayas	311	833	421	645	103	2313
Imbabura	3	44	24	40	5	116
Loja	13	90	62	119	1	285
Los Ríos	37	202	95	162	8	504
Manabí	71	398	192	326	30	1017
Morona Santiago	8	33	17	18	-	76
Napo	7	21	12	25	1	66
Orellana	5	26	12	26	-	69
Pastaza	6	6	3	22	3	40
Pichincha	85	446	178	271	25	1.005
Santa Elena	18	69	37	46	2	172
Santo Domingo	18	109	48	86	4	265
Sucumbíos	11	33	21	45	2	112
Tungurahua	9	90	35	68	2	204
Zamora Chinchipe	3	18	13	27	-	61
Total	722	2986	1431	2443	210	7792
Porcentaje	9	38	18	31	3	100

(MSME, 2013)

5. ETNIAS Y DISCAPACIDADES

En genética, el término “etnia” se lo usa haciendo referencia a grupos poblacionales que comparten características genéticas comunes. Para este estudio se habla de “comunidades” indígenas y se considera la referencia de pueblos y nacionalidades existentes en el país.

En la Tabla VII.11 se detalla las diferentes causas de personas con discapacidad pertenecientes a las comunidades indígenas del Ecuador.

Tabla VII.11. Comunidades indígenas y causas de discapacidad intelectual

Grupos	Monogénico	Cromosómico	Multifactorial	Prenatal ambiental	Prenatal inespecífico	Perinatal	Postnatal	Psicosis	Inclasificado	Total
Achuar	1	-	4	2	-	8	4	-	1	20
Awa	-	1	2	1	3	4	2	-	2	15
Kañari	5	2	9	6	9	13	9	1	7	61
Karanki	3	1	1	5	2	9	2	-	5	28
Chachi	1	1	3	3	7	9	5	-	3	32
Cofán	4	1	-	1	2	3	1	-	1	13
Waorani	2	3	-	1	3	3	2	-	-	14
Kichwa	146	136	288	276	153	552	252	16	203	2022
Natabuela	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1
No aclara	4	1	11	9	-	5	2	-	-	32
Otavalo	4	5	4	7	7	23	12	2	5	69
Panzaleo	8	2	10	18	3	30	8	1	4	84
Puruwá	14	-	22	10	4	12	15	-	7	84
Salasaca	-	-	1	-	1	2	-	-	-	4
Saraguro	8	6	15	11	6	35	10	-	9	100
Shiwiar	-	1	1	-	-	2	-	-	-	4
Shuar	29	35	36	48	27	139	74	1	12	401
Siona	-	1	2	-	-	-	-	-	-	3
Tsa'chila	-	1	2	3	1	5	1	-	1	14
Total	229	197	411	401	228	855	399	21	260	3001
Porcentaje	8	7	14	13	8	28	13	1	9	100

(MSME, 2013)

El factor perinatal está presente en el 28%, el multifactorial en el 14% y el factor prenatal ambiental en el 13% del total de personas indígenas con discapacidad. El grupo kichwa presenta mayor número de personas con discapacidad con un total de 2022 (67,4%), seguido del grupo shuar con 401 (13,4%) y del grupo kichwa-saraguro con 100 personas (3,3%).

Las comunidades indígenas kichwa y shuar presentan mayor frecuencia de factores monogénico, cromosómico, multifactorial, prenatal ambiental, prenatal inespecífico, perinatal, postnatal y psicosis.

En relación a las provincias del Ecuador, las que presentan la mayor tasa estimada de discapacidad intelectual son Napo (3,66), Morona Santiago (2,02) y Pastaza (1,87), siendo un total de 3001 personas indígenas discapacitadas en Ecuador.

Con respecto al diagnóstico de parálisis cerebral, 125 individuos con discapacidad lo presentaron (70%). Mientras que 294 individuos presentaron algún familiar con antecedentes de discapacidad (30%).

En cuanto a las comunidades indígenas, los tres grupos que presentan mayor número de antecedentes familiares de personas con discapacidad y diagnóstico de parálisis cerebral son los kichwa (189) (82), shuar (37) (14) y kichwa-saraguro (17) (5), respectivamente.

Tabla VII.12. Personas con discapacidad, diagnosticadas con parálisis cerebral

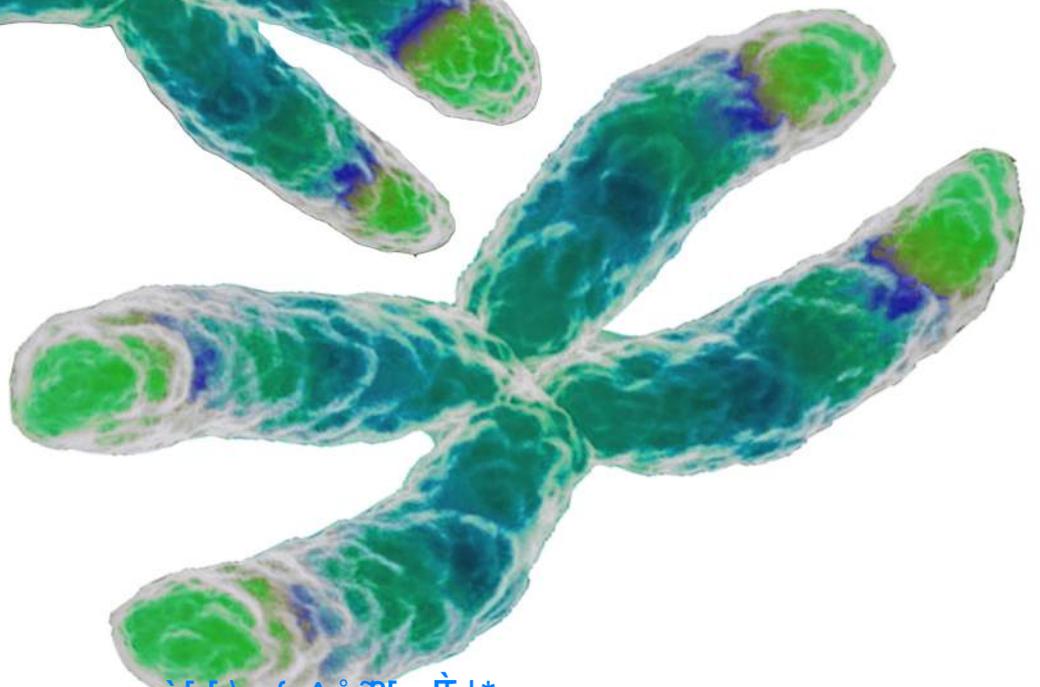
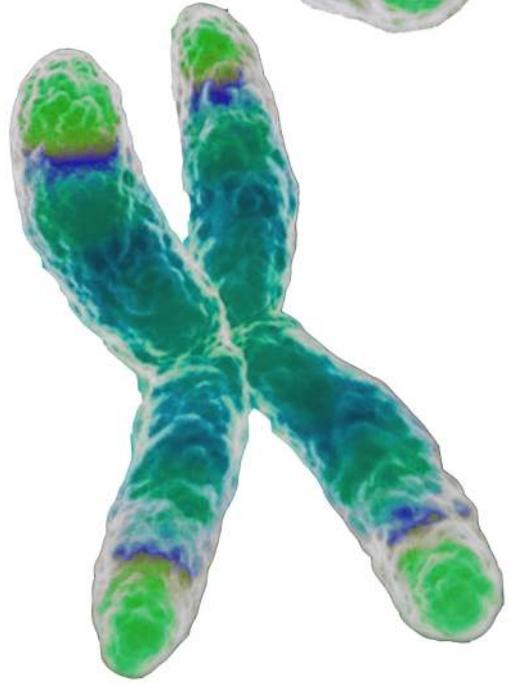
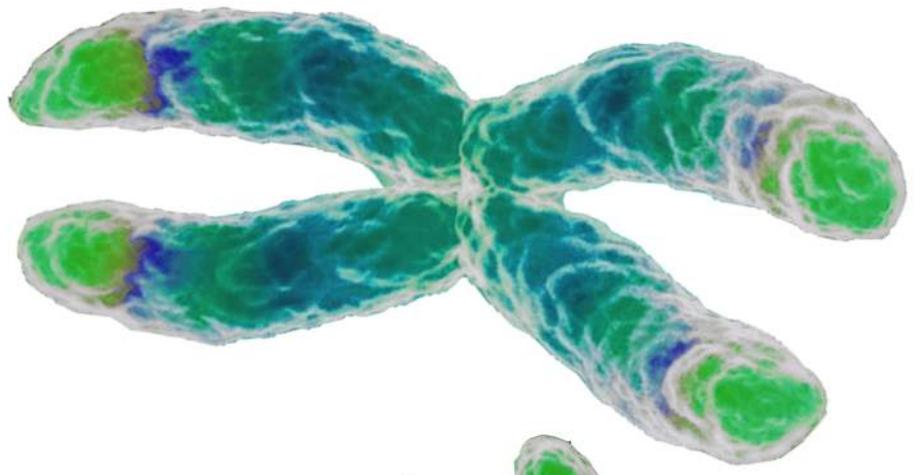
Comunidades	Antecedentes familiares	Diagnóstico parálisis cerebral	Total
Achuar	2	1	3
Awa	1	-	1
Kañari	12	3	15
Karanki	7	4	11
Chachi	1	1	2
Cofán	5	1	6
Waorani	2	1	3
Kichwa	189	82	271
Natabuela	-	-	-
No aclara	1	2	3
Otavalo	1	4	5
Panzaleo	5	5	10
Puruwá	12	-	12
Salasaca	-	1	1
Saraguro	17	5	22
Shiwiar	-	-	-
Shuar	37	14	51
Siona	2	-	2
Tsa'chila	-	1	1
Total	294	125	419
Porcentaje	70	30	100

(MSME, 2013)

8

BIOLOGÍA MOLECULAR Y CARACTERIZACIÓN DE POBLACIONES HUMANAS





CAPÍTULO VIII

BIOLOGÍA MOLECULAR Y CARACTERIZACIÓN DE LAS POBLACIONES HUMANAS

La estructura genética de una población viene determinada por las frecuencias alélicas presentes en cada loci de los cromosomas. Muchas de estas frecuencias son típicas de ciertas poblaciones y se convierten en marcadores genéticos, por la diversidad de proporciones que presentan (polimorfismo).

Las poblaciones humanas son polimórficas para un gran número de loci génicos, siendo los sistemas de marcadores polimórficos más conocidos, los siguientes:

- a) Antígenos de los eritrocitos (ABO, Rh, MN_{Sc}).
- b) Antígenos de los leucocitos (HLA).
- c) Proteínas del plasma (Hp, Tt, Gc).
- d) Variantes enzimáticas de los eritrocitos (G6PDH).
- e) Segmentos polimórficos del ADN (SNPs y ADN_m).
- f) Grupo de diferenciación de células hematopoyéticas (CD).
- g) Polimorfismos del citocromo P450 (CYP).

El estudio de ciertas proteínas humanas ha servido para comprender varios aspectos genéticos de las poblaciones. Se sabe que la variabilidad genética de los anticuerpos humanos, reside en mutaciones ancestrales ocurridas hace unos 20 o 30 millones de años, producidas por duplicaciones de genes y cambios puntuales de nucleótidos del ADN, resultando en la formación de las regiones V, C, H y L de las cadenas proteicas, la versatilidad funcional de las inmunoglobulinas (anticuerpos), y la formación de subclases de las cadenas J, D, mu, alfa, beta, gamma, delta, épsilon y kappa (Matson et al., 1966).

La diferencia de las cadenas kappa de las inmunoglobulinas, entre el ratón y el hombre, está en el aminoácido: 43 para el ratón y 110 para el hombre. La diferencia para las cadenas gamma entre el conejo y el hombre está en el aminoácido: 38 para el conejo y 120 para el hombre. Estos datos posibilitan estudiar mejor la evolución de las especies, sus semejanzas y diferencias.

Otro marcador genético poblacional constituye el sistema ABO, responsable de los grupos sanguíneos. Este permite conocer las distancias genéticas entre poblaciones que, aun en caso de estar próximas geográficamente, tienen una diferente evolución genética, llegando a ser totalmente distintas. Grupos de poblaciones que migran y que tienen por lo tanto unos pocos genes consigo en relación al total de la población de origen, provocan, en las otras áreas geográficas donde han emigrado, un efecto fundador que, por el aislamiento geográfico, tradiciones culturales y los cruces consanguíneos, se han aislado en etnias con características biológicas y biopatológicas típicas. Estos

grupos poblacionales presentan una mayor frecuencia de ciertas enfermedades, de grupos sanguíneos, de fenotipos, etc. y se convierten en verdaderos laboratorios para la investigación y el entendimiento de muchos aspectos nuevos en genética poblacional. Otros grupos sanguíneos importantes en este sentido son el M, N, MN, Lewis, entre otros.

Tabla VIII.1. Frecuencias génicas de dos sistemas de antígenos en ecuatorianos

Sistema	Fenotipo	No.	Frecuencia génica		
			p	q	r
ABO	A	303	0,018	0,007	0,975
	B	96			
	O	8736			
	AB	32			
Total		9167			
MNS	M	234	0,792	0,208	
	N	17			
	MN	121			
Total		372			
ABO (Negros)	A	7	0,025	0,009	0,966
	B	2			
	O	155			
	AB	1			
Total		165			
MNS (Negros)	M	159	0,982	0,018	
	N	0			
	MN	6			
Total		165			

Uno de los sistemas polimórficos más interesantes y mejor estudiados es el sistema de histocompatibilidad HLA (antígenos leucocitarios humanos), cuyos genes, en el hombre, se encuentran en el brazo corto del cromosoma 6. De todos los alelos del sistema HLA, se sabe que sus combinaciones determinan 165 posibilidades genotípicas pero, al estudiar las poblaciones humanas se ha observado que solo 37 son los frecuentes, variando de una población a otra (Chang et al., 1997). Las poblaciones indígenas latinoamericanas tienen fuertes asociaciones genéticas por ligamiento entre los sistemas A28 B7 y el A11 B21; en otras etnias se encuentran:

A1 B8	Caucasoide
Aw36, Aw43 y Bw43	Negroides
Bw22	Australoides (Mongoloides)
HLA 21	Población del mediterráneo
Aw33 y Aw 43	Indonesios
A28 B7 y A11 B21	Indios latinoamericanos

Al contrario que en varias poblaciones europeas, la población indígena latinoamericana tiene una clara tendencia a manifestar los alelos A y B en el sistema HLA y presentar un menor número de variantes antigénicas.

Se sabe que ciertos marcadores genéticos (características proteicas, enzimáticas, cromosómicas, inmunológicas) están relacionados con enfermedades específicas; esto significa que una persona que tenga un marcador genético específico tiene mayor probabilidad de desarrollar una determinada enfermedad, que otra persona que no tenga el marcador (Tabla VIII.2).

Tabla VIII.2. Enfermedades y sus asociaciones a marcadores genéticos

Enfermedad	Asociación	Marcador
S. de fragilidad cromosómica	Leucemias cromosómicas	Fragilidad
S. de Down	Leucemias	Trisomía 21
S. de Turner	Gonadoblastoma	Monosomía X y variantes
S. de Klinefelter	Gonadoblastoma	47, XXY
S. Martin Bell	Neoplasias	Xq27
Úlcera gástrica	Grupos sanguíneos	Tipo O
Hepatitis crónica autoinmune	HLA	B8, DR3
Lupus (LES)	HLA	B8
Artritis reumatoide	HLA	DR4
Diabetes	HLA	Dw4, Dw3

Los seres vivos existen en grupos, para un estudio genético el grupo más apropiado es la población, que se define como una comunidad de individuos que viven en una localidad geográfica determinada y que, real o potencialmente, son capaces de cruzarse entre sí, compartiendo un acervo común de genes. Las poblaciones naturales son difíciles de estudiar porque sobre ellas actúan simultáneamente muchas fuerzas genéticas y ambientales que las pueden hacer variar (migración, selección, deriva, mutación); por lo que al estudiar poblaciones humanas en particular, es clave utilizar modelos matemáticos.

Cuando se busca describir la distribución de un locus con efecto fenotípico distinguible en una población natural, se empieza determinando la frecuencia de los diferentes fenotipos en una muestra de la población y, a continuación, a partir de las frecuencias fenotípicas, determinar las frecuencias genotípicas y las frecuencias alélicas. Resulta interesante estimar las frecuencias alélicas porque la variación de estas, a lo largo del tiempo, determina el destino de la población. Los modelos de genética de poblaciones se refieren casi siempre a la variación de las frecuencias alélicas a lo largo del tiempo.

Las frecuencias alélicas se pueden encontrar a partir de las fenotípicas, pero éstas no se pueden encontrar a partir de las frecuencias genotípicas. Por definición, la frecuencia de un alelo tiene un valor de 0 a 1. Si un alelo no existe en una población, su valor es 0; si éste está presente en la totalidad de la población será 1. La suma de las frecuencias alélicas presentes en una población siempre es igual a 1. Así, si existen dos alelos A_1 y A_2 , con frecuencias p y q , se puede deducir que $p = 1 - q$ o $q = 1 - p$. Si en un locus existen varios alelos, A_1, A_2, A_3 , con frecuencias p, q, r, \dots, z , se cumple $p + q + r + \dots + z = 1$. Estas fórmulas resultan de la aplicación de la Ley de Hardy-Weinberg (Nussbaum et al., 2008).

La estructura genética de la población se puede cuantificar no solo mediante las frecuencias alélicas y fenotípicas, se cuantifica mediante otros dos parámetros denominados polimorfismos, que es una medida de la variación de las frecuencias alélicas, y heterocigosis que es una medida de la variación de los genotipos.

Se dice que un locus es polimórfico cuando la frecuencia del alelo más raro en la población es mayor a 0,01. El polimorfismo de una población se estima como el número de loci polimórficos dividido por el número total de loci. La heterocigosidad de la población es la frecuencia media de individuos heterocigotos y se estima calculando la frecuencia de heterocigotos para cada locus y dividiendo para el número total de loci.

Ecuador es un país con una población con características fenotípicas diversas, debido al gran entrecruzamiento interétnico sobre todo de origen hispánico y amerindio. Esta población está compuesta el 60% por mestizos, el 30% por nativos amerindios, el 8% por negros y el 2% por otros grupos étnicos como caucásicos, mongoloides y árabes. La mezcla poblacional por lo tanto determina un flujo genético importante que induce a la aparición de características complejas que se ven influenciadas por determinantes geográficos y ambientales que permiten la adaptación del individuo al medio donde este se desarrolla. Estos cambios evolutivos, muchos de ellos sutiles, trazan un perfil poblacional típico y colaborarían en la elaboración de un patrón de caracteres que podrían ayudar en la detección de mutaciones o alteraciones genéticas.

El modelo de Hardy-Weinberg demuestra matemáticamente la distribución de alelos en una población, preservando la variación mendeliana, consiguiendo así describir la distribución de los genotipos y sus frecuencias para dos alelos alternantes mediante la ecuación $p^2 + 2pq + q^2 = 1$.

Ciertas características fenotípicas, algunas de las cuales son descritas en la presente obra, fueron utilizadas por la Antropología Física en la detección de trastornos genéticos y su distribución étnica, y durante algún tiempo fueron invadidas por nociones no científicas sobre la directa relación entre fenotipo y comportamiento, fenotipo e inteligencia, entre otros. Hoy se sabe que diferentes poblaciones pueden tener diversas características fenotípicas, bioquímicas y moleculares, que no significan diferencias esenciales entre los grupos poblacionales, los conceptos de raza y aun los de etnia, que cada vez son menos utilizados y se los está reemplazando por el de poblaciones con similar base genética.

En el Ecuador no existen estudios que describan la distribución de las frecuencias alélicas de diferentes características de herencia mendeliana, por lo que interesa documentar los datos sobre algunas de estas, y que a la vez puedan ser relacionadas con alteraciones o variantes genéticas.

En un estudio se evaluaron 15 características fenotípicas a 447 estudiantes de Medicina de dos universidades de la ciudad de Quito durante el lapso de tres años. Los valores obtenidos fueron analizados con fórmulas estándares de Genética de Poblaciones y ecuaciones de tendencia lineal. Se obtuvo las siguientes frecuencias: 15% homocigotos dominantes, 27% heterocigotos y 58% homocigotos recesivos. En las frecuencias alélicas se observa una relación inversamente proporcional entre los individuos dominantes y recesivos, destacando que la tendencia para los heterocigotos no presenta variaciones significativas. Las características dominantes más comunes en la población estudiada son la producción normal de insulina, el uso manual diestro, la capacidad de doblar la lengua y el factor Rh positivo. Entre los fenotipos recesivos más frecuentes están la ausencia de canas, la nariz recta y la ausencia de hoyuelos en las mejillas. Los individuos heterocigotos tienen como características más comunes los orificios nasales anchos, los dedos cortos, la capacidad de enrollar la lengua y la

presencia de vello en falanges intermedias. En las frecuencias alélicas se encuentra una relación inversamente proporcional entre los individuos homocigotos dominantes y recesivos. Se espera que estos datos puedan servir para evaluaciones fenotípicas de pacientes dismórficos.

1. POLIMORFISMOS DEL ADN

Se conoce que existen variaciones interindividuales y poblacionales de ciertas secuencias genéticas. Dichas variaciones provocan diferencias genéticas inespecíficas en los seres humanos y pueden estar concentradas en poblaciones con el mismo ancestro histórico y geográfico, determinando por lo tanto evidentes distinciones fenotípicas (negro, blanco, amarillo, rojo). En esencia, la calidad de los genes de todos los individuos es la misma. Las diferencias observables tienen más bien interés biomédico. Cuando una característica, información o secuencia genética se presenta en una proporción mayor al 1%, en una población, se la denomina polimórfica (Nussbaum et al., 2008). Los polimorfismos constituyen secuencias importantes que pueden predisponer a los individuos y a las poblaciones a ciertas características patogénicas y anómalas. Entre los polimorfismos más importantes están:

1.1. Polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción

Los polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP) son fragmentos de ADN de diversos tamaños obtenidos al digerirlo con enzimas de restricción (ADNasa de otras especies), que cortan al ADN en secuencias específicas. Pueden ser observados en una simple electroforesis en geles de agarosa, como una escalera en que cada peldaño corresponde a un RFLP. Aproximadamente, un fragmento se presenta por cada kilobase. Estos marcadores han sido de gran utilidad, pero su uso ha decaído al tener solo dos posibles alelos por cada fragmento (Krebs et al., 2009).

1.2. Repeticiones en tándem de número variable

Las repeticiones en tándem de número variable (VNTR) constituyen parte de los minisatélites. Son secuencias de ADN pequeñas (0,1 a 10 Kb), que se repiten en forma continua en el genoma y son altamente polimórficas. Generalmente se encuentran en regiones no codificantes, pero cuando se encuentran en regiones codificantes pueden ser patogénicos como en el caso de la enfermedad de Huntington y otras ataxias. En los VNTR cortados por enzimas de restricción pueden observarse hasta 100 variantes alélicas, pero al tener una densidad insuficiente en las poblaciones, su uso es limitado para estudios poblacionales y de ubicación de genes. Para su estudio se utiliza la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y se los observa en geles de agarosa y acrilamida (Krebs et al., 2009).

1.3. Microsatélites o secuencias cortas repetidas en tándem

Los microsatélites son secuencias cortas de ADN repetidas en el genoma (STR) y se diferencian de los VNTR por el número de bases; las repeticiones más comunes son di, tri o tetranucleótidos. Están ampliamente diseminados en la población y su uso es clave en la identificación de genes o variables poblacionales. Igualmente, se los analiza mediante PCR y observación en geles de acrilamida.

Para la identificación de un individuo se puede emplear varios métodos basados en características genéticas; entre los más utilizados se encuentran las isoenzimas, los marcadores eritrocíticos, el grupo sanguíneo (ABO) y los STR. La eficacia depende de la frecuencia con que se presenten en la población.

Los loci STR están dentro del grupo de ADN de secuencia repetitiva y se caracterizan porque presentan un conjunto de bases específicas, el mismo que irá de 2 bases (dinucleótidos) a 6 bases (hexanucleótidos), pudiendo un alelo llegar a medir hasta 500 bases. Los alelos de estos loci se reconocen por el número de veces en que la secuencia base se encuentre presente, lo cual permite que los alelos se consideren como unidades discretas, fácilmente diferenciables y se los pueda identificar de manera sencilla. Los STR son frecuentes en el genoma humano (1 loci cada 300 a 500 kilobases), y muchos de ellos presentan un elevado polimorfismo, así como un alto nivel de heterocigosis (entre 35 y 90%).

Diferentes loci han sido estudiados en diversas poblaciones humanas, de esta manera se ha logrado establecer el número de alelos y sus frecuencias, así como el nivel de heterocigosis de los loci. Estos datos son muy importantes pues nos permiten establecer cuáles loci resultan más informativos dentro de la población estudiada. Los actuales esfuerzos de los laboratorios están encaminados a encontrar loci STR que, usados en cualquier tipo de población, nos aseguren individualizar a una persona por su genotipo (haplotipo) y reducir la probabilidad de confusión a un mínimo porcentaje. Es debido a ello que mientras mayor sea el número de loci empleados en un estudio, será menor la probabilidad de encontrar dos haplotipos que se asemejen.

En lo que se refiere al cálculo de probabilidades, aplicable al estudio de STR, éste se basa en el teorema de Bayes, el cual es una consecuencia inmediata de la ley de la multiplicación, que sirve para conocer las probabilidades finales de un suceso, a partir de las probabilidades iniciales y dadas cierta información o informaciones adicionales obtenidas. Este teorema nos da la probabilidad *a posteriori* de paternidad, a partir de una probabilidad *a priori* (P_0), dando como resultado la fórmula de Essen-Moller que, de manera simplificada, se expresa como $P_p = X / X + Y$, e indica la probabilidad que tiene el *probandus* de ser el padre (X), comparado con un hombre al azar de la población (Y). Aquí el valor de X es el resultado del análisis del caso, y el de Y la frecuencia del alelo compartido por el imputado y el hijo. Sin embargo, la manera más adecuada de expresar la probabilidad de paternidad es a través de una razón de verosimilitudes, evitando así la circunstancia *a priori*; esta razón es conocida como Índice de Paternidad (IP), que es simplemente X / Y . La conversión de índice de paternidad a probabilidad de paternidad es muy sencilla utilizando un *a priori* de 0,5, y se expresa en las siguientes fórmulas (Nussbaum et al., 2008):

$$P(w) = IP / [IP + 1] \quad IP = P(w) / [1 - P(w)]$$

Nuestra experiencia al usar 17 loci STR de secuencia tetranucleótida (4 bases) nos ha dado como resultado la determinación de la paternidad en 80% de casos en los que la persona imputada apareció como posible padre, con un 99,999% de probabilidad, mientras que en el 20% de los casos restantes se presentaron 4 y 6 exclusiones respectivamente, con lo que se genera un descarte de primer orden. (Se descarta paternidad si dos o más STR no coinciden). De esta manera se determina que con un

juego de cebadores para 12 loci STR se puede obtener una probabilidad de inclusión, en casos de paternidad, superior al 99,9%; además, un juego así nos permite reconocer 1 genotipo en 475 millones de genotipos. Los loci con los cuales hemos trabajado, se los muestra en la siguiente tabla (Paz-y-Miño, 2006b).

Tabla VIII.3. Loci utilizados en pruebas de paternidad y forense

STR	Localización cromosómica	No. de alelos descritos
D3S1358	3p	10
HUMTH01	11p15-15.5	9
D21S11	21q	17
D18S51	18q	15
PENTA E	15q	21
D5S818	5q	9
D13S317	13q22-q31	13
D7S820	7q	12
D16S539	16q22-q24	11
CSF1PO	5q33-q34	12
PENTA D	21q	16
VWA	12p12pter	18
D8S1179	8p	10
TPOX	2p23-2pter	11
FGA	4q28	21
F13A1	6p24-p25	8
FES/FPS	15q25	6
Amelogenina	X	1
	Y	2

Para el estudio descrito se obtuvo ADN de sangre periférica de 404 individuos no emparentados del grupo mestizo, a los cuales se les informó de la prueba y después de su consentimiento escrito, se amplificó los exones de los 17 marcadores STR. Hay una amplia discusión, sin acuerdo, sobre el tipo de población seleccionada para el estudio. Se decidió descartar la población marcadamente negra, indígena o blanca, considerando que la restante sería exclusivamente población mestiza. Las muestras de ADN se las sometió a la PCR utilizando 34 juegos de cebadores específicos para cada STR, incluyendo al gen amelogenina para determinar el sexo de los individuos. Se realizaron 7676 reacciones y sus productos fueron evaluados en geles de acrilamida y teñidos con nitrato de plata.

Los resultados se muestran en las Tablas VIII.4a y VIII.4b, en donde se puede observar las frecuencias para los diferentes STR. No se encontraron variantes nuevas de STR. Al comparar estas frecuencias con poblaciones similares y diferentes a la ecuatoriana, se aprecia mucha variación. La población estudiada es similar a unos y diferente a otros grupos humanos, sean negroides, mongoloides o caucasoides. Los datos confirman que la población ecuatoriana estudiada es producto de varios cruces y oleadas poblacionales, como lo sugieren estudios actuales con marcadores genéticos de mitocondrias y del cromosoma Y. La población mestiza ecuatoriana, al menos la estudiada, es polihíbrida, como lo confirma el índice de homocigocidad que está dentro de los descritos para la población mundial: entre el 29,4% para el marcador PENTA D al 83,8% del D13S317 (media de 53,64%), y con índices bajos para el PENTA E 11,2% y el D18S51 con 21,2%. Mientras menor es el índice de homocigocidad, se encuentra mayor porcentaje de población cruzada, dato a favor de un polihibridismo.

De este estudio se desprenden otros datos poblacionales interesantes. El número de individuos estudiados es importante. Se tiene una posibilidad de error de detección de nuevas variantes en el orden de 0,002414 y, si se trata de aplicar los STR en estudios de medicina forense, por ejemplo en paternidades, el poder de inclusión o exclusión o de identificación de individuos aplicando los 17 STR, llega al 99,997588%.

La experiencia de nuestro laboratorio en el uso de los STR para pruebas de paternidad se inició en el año 1999, y fue especial. Las pruebas se comenzaron con 12 STR hasta llegar a 17, aparte del gen de la amelogenina para tipificar el sexo. Lo particular de estas pruebas es que el índice de inclusión/exclusión de paternidad era diferente al informado en la literatura, que llega al 30% para las exclusiones. Nuestros datos mostraron un índice de exclusión mucho más alto: 41%. Esta diferencia se debe a que esta prueba se inició por la necesidad social e institucional de contar con un laboratorio de contraperitaje, lo que significa que las pruebas realizadas en otros laboratorios del Ecuador y que no satisfacían a los implicados, solían ser reenviadas para evaluación a nuestro laboratorio, bajando notablemente el poder de inclusión de la prueba a 59% y subiendo el de exclusión (Paz-y-Miño, 2006b). Actualmente existen estándares de automatización mediante electroforesis capilar en relación a 15 STR dentro del Sistema de Índice de ADN Combinado (CODIS), los cuales están siendo aplicados en nuestro país.

1.3.1. Microsatélites y grupo étnico

Interesa argumentar algo sobre el origen de la población ecuatoriana desde el punto de vista genético y de los microsatélites en particular. Hace 500 años los conquistadores procedentes del sur de España, con gran influencia genética del norte de África y Oriente Medio, introdujeron nuevos elementos genéticos en la población indígena americana. En más de 1500 generaciones la presencia genética en el Ecuador es evidente. Dejando a un lado a la población claramente caucasoide y claramente negroide, el resto es blanco-mestiza, al punto de que se habla de un grupo étnico sudamericano. Si aceptamos como válidos estos conceptos, tendremos que aceptar que cada grupo poblacional, por lo tanto, presentará variedad en la información genética, lo cual hace que los estudios actuales de la población humana se encaminen a la diversidad genética y se centren en el Proyecto del Genoma Humano. Algunos estudios afirman que los amerindios de toda América provienen de un tronco común asiático, según lo muestran los estudios de marcadores de ADN del cromosoma Y, específicamente el microsatélite DYS19, que ha mostrado más de cincuenta variantes, concentrándose en los amerindios la variante IIA, que representa 13 repeticiones de la secuencia GATA, distribuidas entre un 91% en Sudamérica, 87% en la Amazonía brasileña y 38% en Norteamérica. Estudios más profundos con este mismo marcador microsatelital, una vez descubierta una nueva variante, han mostrado que la población amerindia proviene de Asia; específicamente, se postula que los primeros habitantes de América atravesaron el estrecho de Bering y se produjo en ellos una mutación en el microsatélite DYS19, apareciendo un cambio de una T o una C en la secuencia, a la cual se la llamó DYS199. A este polimorfismo se lo ha encontrado exclusivamente en amerindios hasta una proporción del 91%, lo que hace suponer un efecto fundador de las poblaciones que migraron desde Asia hace unos 30 mil años (Paz-y-Miño, 2006b).

Entender el origen de la población ecuatoriana es más complejo por ahora, y demanda estudios de otros marcadores que han mostrado ser más informativos: ADN

mitocondrial, polimorfismos de nucleótidos simples y del cromosoma Y. De todas maneras, aplicando los STR, el F13A1 en su alelo 5 y el D7S820 en su alelo 12, son los marcadores que mostraron mayores diferencias con otras poblaciones de Latinoamérica y podrían ser los indicados para iniciar estudios más profundos sobre cercanías o lejanías poblacionales.

Tabla VIII.4a. Frecuencia de los STR en la población mestiza ecuatoriana

Alelos	D3S1358	TH01	D21S11	D18S51	PENTA E	D5S818	D13S317	D7S820
2,2								
3,2		0,001						
4		0,001						
5		0,102			0,022			
6		0,261			0,001			0,002
7		0,212			0,069	0,118		0,005
8	0,069	0,059			0,029	0,036	0,058	0,049
9	0,009	0,102			0,009	0,097	0,107	0,041
9,3		0,136						
10	0,064	0,013		0,003	0,047	0,057	0,074	0,189
11	0,042	0,112		0,018	0,062	0,321	0,163	0,262
12	0,159	0,001		0,079	0,163	0,229	0,276	0,352
13	0,164			0,118	0,068	0,087	0,163	0,076
14	0,183			0,244	0,058	0,047	0,141	0,023
15	0,085			0,153	0,131	0,008	0,018	0,001
16	0,216			0,112	0,102			
17	0,009			0,142	0,058			
18				0,058	0,064			
19				0,032	0,034			
19,2								
20				0,017	0,028			
20,2				0,011				
21				0,005	0,032			
22				0,005	0,015			
22,2								
23				0,003	0,005			
23,2								
24								
25			0,002		0,001			
25,2					0,002			
26			0,001					
27			0,011					
28			0,068					
29			0,193					
29,2			0,005					
30			0,241					
30,2			0,031					
31			0,077					
31,2			0,151					
32			0,006					
32,2			0,141					
33			0,002					
33,2			0,062					
34,2			0,003					
35			0,005					
35,2			0,001					
Suma	1	1	1	1	1	1	1	1
Alelos	10	11	16	15	20	9	8	10
IH	0,615	0,795	0,760	0,212	0,112	0,808	0,838	0,570

Los STR nos brindarán la posibilidad de obtener un primer mapa genético ecuatoriano y aunque existen muchos grupos étnicos, es clave tener datos para poder compararlos y sobre todo, que permitan una base para el análisis de características individuales o poblacionales.

Tabla VIII.4b. Frecuencia de los STR en la población mestiza ecuatoriana

Alelos	D16S539	CSF1PO	PENTA D	VWA	D8S1179	TPOX	FGA	F13A1	FES
2,2			0,005						
3,2			0,001					0,009	
4								0,001	
5			0,001					0,214	
6						0,003		0,146	
7	0,001	0,003	0,006			0,007		0,180	0,002
8	0,025	0,002	0,012		0,012	0,386		0,054	0,003
9	0,129	0,011	0,168		0,009	0,051		0,043	0,004
9,3									
10	0,159	0,176	0,216	0,001	0,069	0,043		0,002	0,242
11	0,198	0,301	0,125	0,002	0,049	0,212		0,008	0,126
12	0,214	0,211	0,146	0,001	0,153	0,111		0,001	0,375
13	0,121	0,285	0,173	0,002	0,326	0,176		0,004	0,123
14	0,101	0,011	0,056	0,036	0,239	0,011		0,001	0,125
15	0,052		0,063	0,067	0,079			0,001	
16			0,026	0,328	0,053			0,169	
17			0,002	0,289	0,011		0,009	0,167	
18				0,108			0,006		
19				0,036			0,007		
19,2							0,005		
20				0,021			0,056		
20,2							0,004		
21				0,068			0,091		
22				0,041			0,086		
22,2							0,054		
23							0,226		
23,2							0,008		
24							0,132		
25							0,185		
25,2							0,008		
26							0,067		
27							0,032		
28							0,011		
29							0,013		
29,2									
30									
30,2									
31									
31,2									
32									
32,2									
33									
33,2									
34,2									
35									
35,2									
Suma	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Alelos	9	8	16	13	10	9	18	15	8
ÍH	0,765	0,567	0,294	0,695	0,406	0,344	0,386	0,639	0,542

1.4. Polimorfismos de nucleótido simple

En la década de los noventa, al digerir secuencias de ADN, guiándolas hacia un solo nucleótido, se encontró la existencia de variaciones en los sitios de corte, que correspondían exactamente a un simple nucleótido. Posteriormente, se ha observado que existen aproximadamente 1,2 millones de variaciones de nucleótidos que éstas están presentes en el genoma humano de todas las poblaciones (*SNP database*). Además, pueden estar presentes tanto en secuencias codificantes (exones) o no codificantes (intrones) y podrían ser las responsables de una predisposición mayor o menor a enfermedades comunes. El estudio de los SNP o snips ha conducido a plantear la hipótesis de que las enfermedades comunes estarían determinadas por variaciones comunes. Los snips pueden o no producir cambios en la información esencial del

nucleótido y por lo tanto del gen; pero sea cual sea el caso, su relación con patologías está siendo cada vez más conocida. Así, el alelo Apo E E4 muestra frecuencias de 10 a 20% en la población y se asocia a la enfermedad de Alzheimer. La variación que se observa afecta por ejemplo al último nucleótido en el código genético, y aunque produce el mismo aminoácido, las evidencias investigativas lo relacionan con riesgos altos de enfermedades genéticas, como el cáncer.

Algunos estudios muestran que los SNP son muy frecuentes en los genes. Hay genes que presentan mayor número de snips que otros, lo cual determina que se los clasifique como snips de alto grado de presentación (> 15%), de grado medio (5-15%) y de baja presentación (< 5%). El número de alelos que se presentaría por cada variación en cada gen sería muy alto, entre 12 a 50 alelos de SNP. Los estudios de SNP en enfermedades habituales como la cardiopatía coronaria, hipertensión, la diabetes y la esquizofrenia, muestran variaciones de snips entre 36 al 52% de individuos analizados. La pregunta clave que surge es: ¿Serán estas variaciones responsables o estarían sólo asociadas a las enfermedades?

Desde el punto de vista evolutivo, los snips son interesantes. Primero, la frecuencia de SNP en exones e intrones es muy similar: 1/346 pb y 1/354 pb respectivamente. Los snips de exones podrían estar relacionados a enfermedades, mientras que los snips en intrones, sobre todo los perigénicos, se relacionan a variaciones en el empalme alternativo y a sitios de silenciamiento por miARN. Aunque al comparar snips entre chimpancés y humanos, se ha encontrado pequeñas variaciones en el número (0,6%), al analizar su distribución en el genoma las diferencias alcanzan un 32%. Adicionalmente, se ha encontrado que los SNPs varían de población a población. Los afroamericanos y africanos presentan mayor número de snips que los europeos y asiáticos en proporciones de 93 a 17. Los estudios del genoma calculan que existirían entre 240 mil a 400 mil snips, un 40% de estos podrían estar relacionados a alteraciones de codificación y por ende a patologías. Una persona tendría entre 24 mil a 40 mil snips en heterocigosis. Un 82% de los snips serían polimórficos. Existen informes que los snips se los encontraría cada mil a dos mil pb.

2. ESTRUCTURA Y FUNCIONES DE LOS GENES

A inicios de 1977 se postulaba que el gen era una cadena larga de ADN, que contenía la información para codificar al lenguaje de proteínas. Actualmente, para los genes de eucariontes se conocen muchos detalles más al respecto. El gen estaría compuesto por secuencias codificadoras o exones y secuencias no codificadoras o intrones; también se encuentran secuencias flanqueantes involucradas en la regulación de la actividad genética; así mismo, contiene una región inicial de la transcripción constituida por una secuencia CCAAT o caja CAT y otra TATA o caja TATA, y una región final de secuencia conformada por las bases AATAAA, involucrada en la transcripción de ARNm. Por ejemplo, el gen de la fibrosis quística del páncreas, enfermedad autosómica recesiva, está ubicado en el cromosoma 7 en su brazo largo; tiene una longitud de 250 Kb, pero solamente 6121 pb codifican la proteína CFTR. Los genes de las mitocondrias cuentan con variaciones que se las detalla más adelante (Krebs et al., 2009).

Se puede decir que la estructura característica de un gen, aparte de los exones e intrones anotados, incluye a tres secuencias flanqueantes que intervienen en la regulación de la actividad del gen: Por una parte están la caja CCAAT y la caja TATA; al parecer estas dos iniciarían la transcripción. Adicionalmente, existe una secuencia flanqueante AATTAAA, que serviría de sitio de reconocimiento de la cola poli-A, al final de la cadena de ARNm, región que es transcrita pero no traducida y que daría la señal para que una nucleasa corte el ARN, terminando así la transcripción.

El concepto de gen ha variado mucho, pues los nuevos conocimientos de sus funciones han permitido redefinirlo. En un inicio se postulaba que el gen era una enzima, pero luego adquiere otras funciones y propiedades. A continuación se expone algunas de las definiciones de gen:

Tabla VIII.5. Complejidad y variaciones del concepto de gen-enzima

Concepto	Ejemplo	Desorden
Un gen-una enzima	Fenilalanina-hidroxilasa Hipoxantina guanina fosforibosil transferasa	Fenilcetonuria Síndrome de Lesch-Nyhan
Un gen-una proteína	Colágeno	Osteogénesis imperfecta
Un gen-producto de ARN	ARN mitocondrial de transferencia	MERRF/MELAS
La actividad de una enzima requiere múltiples subunidades de genes diferentes	Propionil CoA carboxilasa	Acidemia propiónica
Una cadena polipeptídica con múltiples enzimas	Hexosaminidasa Sub-unidad β de la hexosaminidasa A y B Sub-unidad E ₃ de la deshidrogenasa	Enfermedad de Sandhoff Deficiencia de E ₃
La deficiencia de una enzima causa múltiples deficiencias enzimáticas secundarias	Cobalamina C y D	Acidemia metil-malónicas
División post- traduccional de un péptido	ACTH	
Promotores alternativos para la transcripción	Distrofina	Distrofia de Duchenne
Empalme alternativo de ARN mensajero inmaduro	Calcitonina	Agamaglobulinemia
Rearreglos en el ADN antes de la transcripción	Inmunoglobulinas Receptores de células T	Inmunodeficiencia combinada
Modificación post-transcripcional del ARNm	Apolipoproteínas B-100 y B-48	Hipobetalipoproteinemia
Sobreposición en el marco de lectura en ADN y ARN, supresión, cambios en el marco de lectura	Factor de liberación bacteriano Retrovirus	

La célula realiza sus principales funciones en la fase G1 del ciclo celular, en ésta el ADN, conformado en cromatina (solenoides de 30 nm), se abre para permitir las actividades del ADN. Durante la fase S del ciclo la célula se prepara para dividirse, para ello duplica su ADN y luego entra en una fase de actividad relativa que es la G2, para inmediatamente continuar con la división (mitosis o meiosis). El ADN debe cumplir al menos con tres funciones principales:

2.1. Replicación semiconservativa y bidireccional

Con esta función la célula duplica su material genético de $2n$ a $4n$. La replicación se inicia en zonas del genoma llamados replicones, entre 20 mil a 100 mil

por genoma humano, cada uno de éstos mide unas 150 Kb y tiene una velocidad de replicación de 1 a 6 Kb/min, es decir, que de 5 a 10 horas se habrá duplicado la totalidad del genoma. La doble hélice dispuesta en dirección 5'-3' se abre, por acción de enzimas helicicasas, y la alfa y delta polimerasas de ADN incorporan bases nitrogenadas en forma complementaria a su cadena madre. La replicación se la realiza en ambas cadenas. En una de ellas, la principal 5'-3', en forma continua y en su cadena antiparalela 3'-5', en forma discontinua a través de los fragmentos de Okazaki, que luego son unidos entre sí por una enzima ligasa. La replicación es un mecanismo complejo y por lo general muy preciso, asegurándose así la fidelidad de la información genética; además, tiene su finalidad en los procesos celulares de división mitosis y meiosis (Lodish et al., 2008).

Existen varios tipos de polimerasas:

- a) Alfa polimerasa implicada en la replicación de la cadena complementaria.
- b) Beta polimerasa que interviene en procesos de replicación del ADN.
- c) Delta polimerasa que interviene en la replicación de la cadena madre.
- d) Epsilon polimerasa que interviene en la replicación.
- e) Gamma polimerasa que replica el ADN mitocondrial.

Un mecanismo interesante adjunto a la replicación, es la reparación del daño del ADN, sea dentro del proceso normal de duplicación del genoma o producto de daños inducidos. En el mecanismo básico, enzimas de control de replicación o daño, ubican sectores alterados, luego una enzima endonucleasa corta las porciones dañadas y una polimerasa (sea la beta o epsilon) reproduce el sector malo. Normalmente todas las personas producen daños en su ADN y por lo general reparan eficientemente, de lo contrario las alteraciones se fijan y determinan mutaciones, las cuales a su vez conducen a enfermedades. Existen enfermedades en las cuales los procesos de reparación están disminuidos o alterados, por ejemplo la anemia de Fanconi. Los informes del Proyecto del Genoma Humano dan cuenta de unos 130 genes involucrados en la reparación del ADN.

2.2. Transcripción de la información hereditaria

La transcripción consiste en la síntesis de ARNm a partir de ADN. El ARNm es generalmente una molécula unicatenaria conformada por ribonucleótidos, y en una primera instancia intranuclear. Se copia en forma complementaria al ADN molde, con la particularidad de que en la secuencia de bases, la timina es reemplazada por el uracilo. Este primer ARN mensajero inmaduro o intrónico-exónico, sale del núcleo y madura, pierde los intrones y solo presenta exones. El ARN mensajero maduro o exónico, es el que se encargará de llevar la información genética a la fábrica de proteínas, los ribosomas. Durante la transcripción actúan tres tipos de polimerasas de ARN (I, II y III), que sintetizan el mensajero a una velocidad 20 veces mayor que la replicación, llegando a formar 200 millones de ribonucleótidos por minuto. Cada polimerasa de ARN es la responsable de transcribir un número igual de grupos de genes. La I, transcribe sólo una clase de genes (40 mil) y se localiza en el nucleolo, por lo que tiene

que ver con la formación de ARN de transferencia, mientras que la II y la III pueden transcribir varios genes (40 mil y 20 mil respectivamente) y actúan en el nucleoplasma.

Una vez formado el ARNm intranuclear, este deberá salir al citoplasma para completar su actividad. En su salida del núcleo, el ARNm inmaduro, pierde secuencias no codificadoras o intrones y los exones son los únicos en salir y empalmarse nuevamente. Este proceso de corte-empalme (empalme alternativo o *splicing* alternativo) proporciona al ARN y a la propia célula alternativas funcionales interesantes. Así, un mismo gen puede producir dos o más proteínas, gracias al empalme alternativo de uno u otro exón (Figura VIII.1).

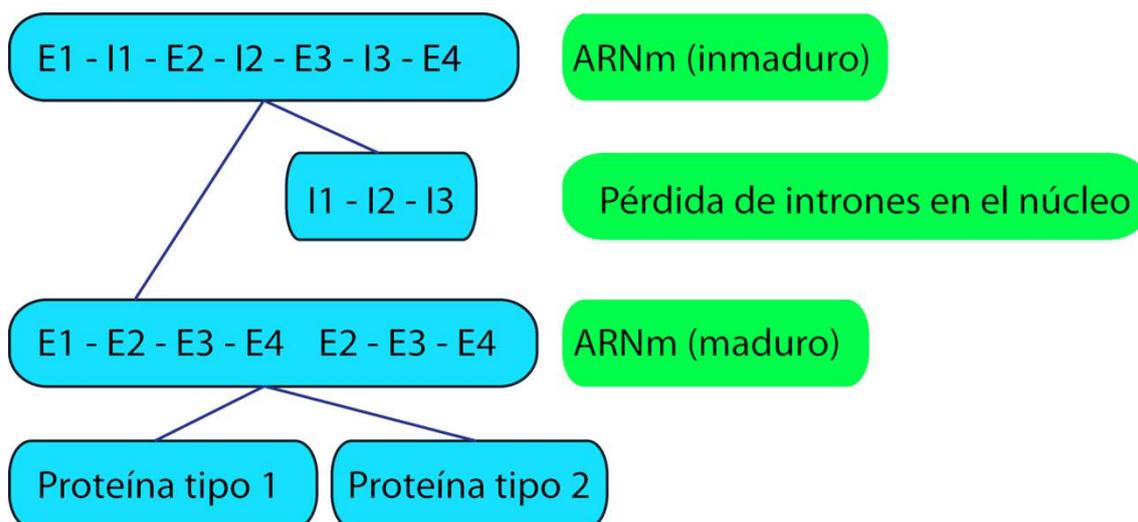


FIGURA VIII.1. FORMACIÓN DEL ARN MENSAJERO. El proceso de empalme [*splicing*] consiste en la eliminación de los intrones, la unión de los exones y la maduración del ARNm para la posterior formación de las proteínas (IIB, 2014).

La presencia de exones e intrones parece deberse a un proceso evolutivo del ADN. Se afirma que a los intrones se los habría adquirido en la evolución, pero lo más probable es que ya estaban presentes en las células originales que evolucionaron y, además, proporcionarían una ventaja evolutiva ya que las mutaciones al azar y beneficiosas habrían afectado a zonas intrónicas, formándose empalmes alternativos de exones e intrones, dando lugar a nuevas y diferentes proteínas. Con ello la conceptualización clásica de gen varía, pues un mismo gen por empalme alternativo podría producir más de una proteína y el intrón representar también dominios funcionales del gen. El caso de las hormonas tiroxina y calcitonina humana, es un ejemplo, de que el mismo gen produce dos ARNm diferentes y dos proteínas diferentes. Igual ocurre con varias proteínas producidas por el mismo gen: protrombina, plasminógeno, uroquinasa, factor VII y XII de la coagulación. Este mismo proceso se produce en algunas patologías en que los cromosomas se reestructuran y se producen genes quiméricos (empalme alternativo) que determinan proteínas de tamaños diversos. Un ejemplo es la leucemia mieloide crónica (LMC) y la leucemia linfoblástica aguda (LLA), con presencia del cromosoma Filadelfia. La proteína p210 de la LMC es de mayor tamaño que la proteína p190 de la LLA, y más agresiva desde el punto de vista clínico. Como dato curioso, en las moscas de la fruta, el sexo está determinado también

por empalme alternativo de exones, los machos tienen tres exones y las hembras dos del mismo gen.

2.3. Traducción de la información genética

El cambio de lenguaje de ADN a proteínas permite desempeñar funciones vitales para la célula y el individuo, para lo cual la célula utiliza el código genético o lenguaje de tripletes de nucleótidos. La proteína se forma a partir de la estructuración y unión de aminoácidos (gen-proteína), el polipéptido que se forma a partir del ARNm representa una secuencia leída en lenguaje de tres letras (codón) (Figura VIII.2).

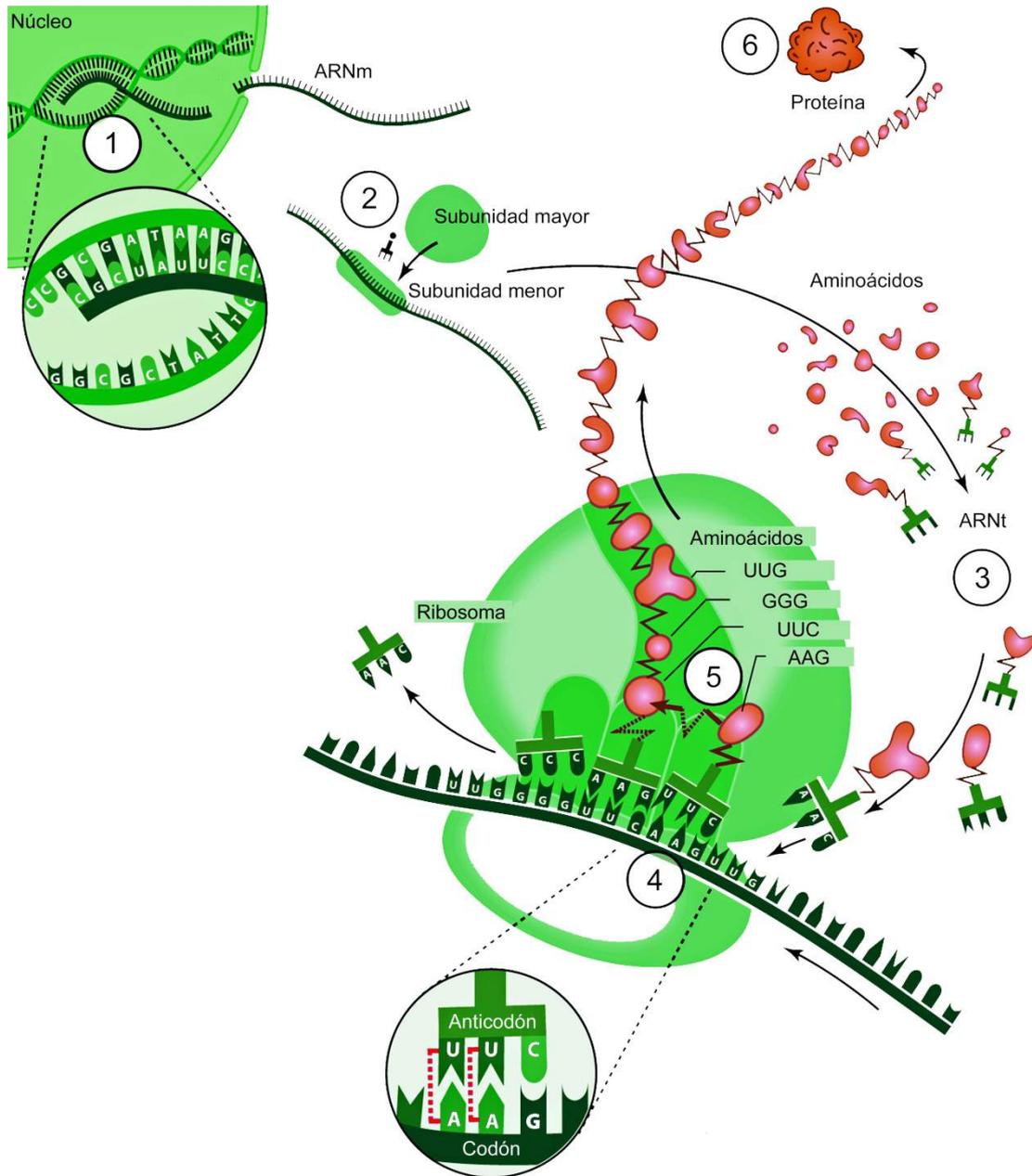


FIGURA VIII.2. PROCESO DE TRANSCRIPCIÓN, TRADUCCIÓN Y SÍNTESIS PROTEICA. El ARNm se dirige hacia los ribosomas, los cuales van a permitir la formación de las diferentes cadenas polipeptídicas [Modificado de The Royal Swedish Academy of Sciences, 2009; IIB, 2014].

Cada aminoácido de la secuencia está representado por uno o varios tripletes o codones (código genético degenerado), cuya variación para cada aminoácido se puede evaluar con técnicas de genética molecular (Figura VIII.3). A estas variaciones se las conoce como polimorfismos de nucleótidos y aunque no representan efectos nocivos, en la actualidad sí se ha relacionado a riesgos de enfermedades comunes, al polimorfismo de último nucleótido o mutación silenciosa.

En la traducción de la información interviene también el ARN ribosómico (ARNr), que formará parte de los ribosomas. El ARNr, está producido por comando del ADN ribosómico (ADNr), que se encuentra en los organizadores nucleolares de los cromosomas acrocéntricos o satélites y conforman el nucleolo en la interfase. En la traducción participan también al menos unos 497 ARNs de transferencia (ARNt), encargados de suplir los aminoácidos citoplasmáticos al ribosoma.

UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys
UUC	Phe	UCC	Ser	UAC	Tyr	UGC	Cys
UUA	Leu	UCA	Ser	UAA	Stop	UGA	Stop
UUG	Leu	UCG	Ser	UAG	Stop	UGG	Trp
CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg
CUC	Leu	CCC	Pro	CAC	His	CGC	Arg
CUA	Leu	CCA	Pro	CAA	Gln	CGA	Arg
CUG	Leu	CCG	Pro	CAG	Gln	CGG	Arg
AUU	Ile	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser
AUC	Ile	ACC	Thr	AAC	Asn	AGC	Ser
AUA	Ile	ACA	Thr	AAA	Lys	AGA	Arg
AUG	Met	ACG	Thr	AAG	Lys	AGG	Arg
GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly
GUC	Val	GCC	Ala	GAC	Asp	GGC	Gly
GUA	Val	GCA	Ala	GAA	Glu	GGA	Gly
GUG	Val	GCG	Ala	GAG	Glu	GGG	Gly

FIGURA VIII.3. EL CÓDIGO GENÉTICO. Los codones del ARNm se asocian con anticodones específicos del ARNt para permitir la formación de proteínas (IIB, 2014).

3. REGULACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LOS GENES

Uno de los asuntos importantes en la dinámica de los genes es comprender cuándo y cómo un gen inicia o no su actividad, y el momento que la termina. Algunos

mecanismos han sido propuestos para entender al menos tres momentos de regulación: expresión, transcripción y post-transcripción.

Los genes están controlados en su expresión por varios mecanismos, algunos más sencillos que otros, dentro de los cuales tenemos: la simple posición celular, la impresión o marcado diferente de genes, rearrreglo de sectores de genes o de genes completos (por ejemplo en las inmunoglobulinas), competencia a través de genes saltadores o silenciadores, simple efecto de posición, supresión de actividad de genes por dominios de la cromatina, inactivación de genes o aun de cromosomas completos (inactivación del X), e interferencia con la expresión entre genes “antagónicos” (por ejemplo los oncogenes y los genes supresores de tumores).

El primer paso para que un gen sea expresado es la transcripción (síntesis de ARN a partir de un modelo de ADN) que puede dar como resultado ARN mensajero (ARNm), ARN ribosomal (ARNr), ARN heterólogo nuclear (ARNhn) o ARN de transferencia (ARNt). Luego de ser transcrito, el gen sufre procesos de regulación de la expresión post-transcripcionales, tales como el empalme (*splicing*), la adición de la cola de poli adenina (poli A) y la adición de CAP (*capping*); después, existen procesos de control de expresión a nivel traduccional y post-traduccional (Alberts et al., 2002).

La transcripción de muchos de los genes humanos está restringida a una línea tisular y celular específica, a un momento del desarrollo del tejido o a la respuesta hacia un factor inductor ambiental específico, como una hormona. También hay genes que se expresan constantemente, llamados “genes endógenos o *housekeeping*” y que son suficientes para mantener la vida (entre 300 a 400 por célula). El control transcripcional vendría dado principalmente a dos niveles: a) al nivel de la estructura cromosómica y b) de las interacciones entre la ARN polimerasa, el ADN que le sirve de modelo y una cantidad de proteínas reguladoras de la transcripción, específicas para cada tipo celular; por ejemplo, las proteínas con homodominios, hélice-enrollamiento-hélice, proteínas de dedos de zinc (*Zn fingers*). Otras formas de regulación son la formación de secuencias reguladoras que actúan en posición cis-trans y producen proteínas reguladoras en genes alejados del regulado (Krebs et al., 2009).

El paso inicial de la síntesis de ARN, a partir de una plantilla o templado de ADN, incluye la ubicación de la ARN polimerasa (en eucariontes actúan tres ARN polimerasas) junto a una secuencia de ADN bicatenario a la altura del denominado promotor del gen a ser transcrito. Esta secuencia promotora define el sitio de la iniciación de la transcripción, aunque existe la posibilidad de que la célula utilice promotores alternativos para un mismo gen. A diferencia de las ARN polimerasas bacterianas, las eucarióticas no entran en contacto directo con el ADN promotor, sino que son reclutadas hacia éste por complejos de proteínas específicas para cada ARN polimerasa; complejos denominados SL1 para la ARN polimerasa I, TFIID para la ARN polimerasa II y TFIIB para la ARN polimerasa III, cuya función es la de reclutar a la ARN polimerasa hacia la secuencia de ADN promotor. Estos factores interactúan con el ADN, los factores de transcripción y las ARN polimerasas, para formar el Complejo Basal de Transcripción que está sujeto a la activación o represión transcripcional por la acción de proteínas reguladoras de la transcripción específica de cada tejido.

Complementariamente, existe también una barrera natural de regulación génica, y es la propia organización de la cromatina. La heterocromatina corresponde al ADN

transcripcionalmente inactivo, ya que está tan condensado que la ARN polimerasa no tiene acceso al ADN y aun si llegase a tener contacto con este, la transcripción no se daría debido a que otros elementos necesarios para la transcripción, como los factores de transcripción, no tendrían el acceso necesario para iniciarla. Inclusive si se llegara a tener la combinación correcta de elementos de transcripción, estos no tendrían acceso a la secuencia promotora del ADN. Por otro lado, está la eucromatina, que corresponde al ADN activamente transcrito debido a que está más dispersa. Por lo tanto, la estructura de la cromatina regula la accesibilidad del ADN a estos factores de transcripción y de esta manera representa un importante paso en la regulación de la transcripción específica de los diferentes tipos celulares.

También la regulación puede ser post-transcripcional e incluye: la regulación del transporte del ARNm hacia el núcleo, el empalme alternativo de exones e intrones, la poliadenilación del transcrito, la transcripción del ARNm y su estabilidad, y la producción específica de ARN en cada tejido.

Finalmente, se debe tomar en cuenta que la unidad funcional de la herencia es el gen y tiene la capacidad de recombinación, por lo cual se asegura la variación interindividual y de funciones. También el gen constituye la unidad de mutación, es decir, es el sustrato cambiante de la evolución y al mismo tiempo la base de las enfermedades genéticas.

4. TÉCNICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR

La Biología Molecular maneja diferentes tipos de técnicas indispensables para el estudio de genes asociados a las diversas enfermedades. Entre las técnicas más relevantes y aplicadas en el Instituto de Investigaciones Biomédicas, está la reacción en cadena de la polimerasa, la PCR cuantitativa en tiempo real y la secuenciación genética.

4.1. Reacción en cadena de la polimerasa

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es un proceso bioquímico *in vitro* catalizado por una enzima, en la cual pequeñas cantidades de un segmento específico de ADN, que se hallan entre dos regiones de ADN de secuencia conocida, son amplificadas obteniéndose una gran cantidad de ADN lineal de doble cadena. Debido a que la PCR está basada en la acción enzimática de una ADN polimerasa (la más comúnmente utilizada es la Taq ADN pol I), inmediatamente en varias áreas de investigación, incluyendo la tecnología del ADN recombinante, la expresión génica, medicina general, medicina forense y evolución. Actualmente, la PCR ha adquirido mayor importancia con el desarrollo de las enzimas de restricción, con el clonaje del ADN y con el southern blot en el avance de la biología molecular. Los primeros experimentos de amplificación con PCR fueron realizados por Mullis y Faloona, quienes desarrollaron el primer dispositivo automático regulador de la temperatura en ciclos, conocido como termociclador (Mullis & Faloona, 1987).

La amplificación del ADN se obtiene por ciclos repetidos de PCR, cada uno de los cuales consta de tres estadios de temperatura distintos:

- a) Denaturación del templado de ADN (que servirá de modelo para su amplificación) a una temperatura de 94 a 96°C.
- b) Anillamiento de los cebadores o cebadores. Los cebadores son oligonucleótidos, formados por moléculas de cadena simple de ADN, que son complementarios a ambos extremos de una secuencia determinada de ADN que actúa como templado o plantilla. Su función es servir al ADN como punto de partida para la polimerización. Este paso requiere una temperatura que varía entre los 42 a 60°C.
- c) Elongación o extensión del primer por la ADN polimerasa. Los cebadores son extendidos de una cadena molde de ADN de cadena simple (previamente desnaturalizado). Gracias a la enzima ADN polimerasa, en presencia de desoxinucleótidos fosfato (dNTPs) y bajo condiciones adecuadas de la reacción, esto da como resultado la síntesis de nuevas cadenas de ADN complementario, a partir de las cadenas templado. Para este paso se requieren temperaturas entre los 60 y 72°C.

La reacción de amplificación contiene dos cebadores dispuestos de tal manera que puedan hibridizar con las cadenas opuestas de la secuencia "blanco" o secuencia a amplificarse. Debido a que el producto extendido incluye la secuencia complementaria a la del otro primer, el producto de cada reacción sirve como templado en el nuevo ciclo de PCR, verificándose así una reacción bioquímica en cadena.

El impacto de la PCR ha sido particularmente importante en algunos campos relacionados al análisis del genoma humano, especialmente en el mapeo genético y físico de los cromosomas y análisis de la expresión génica.

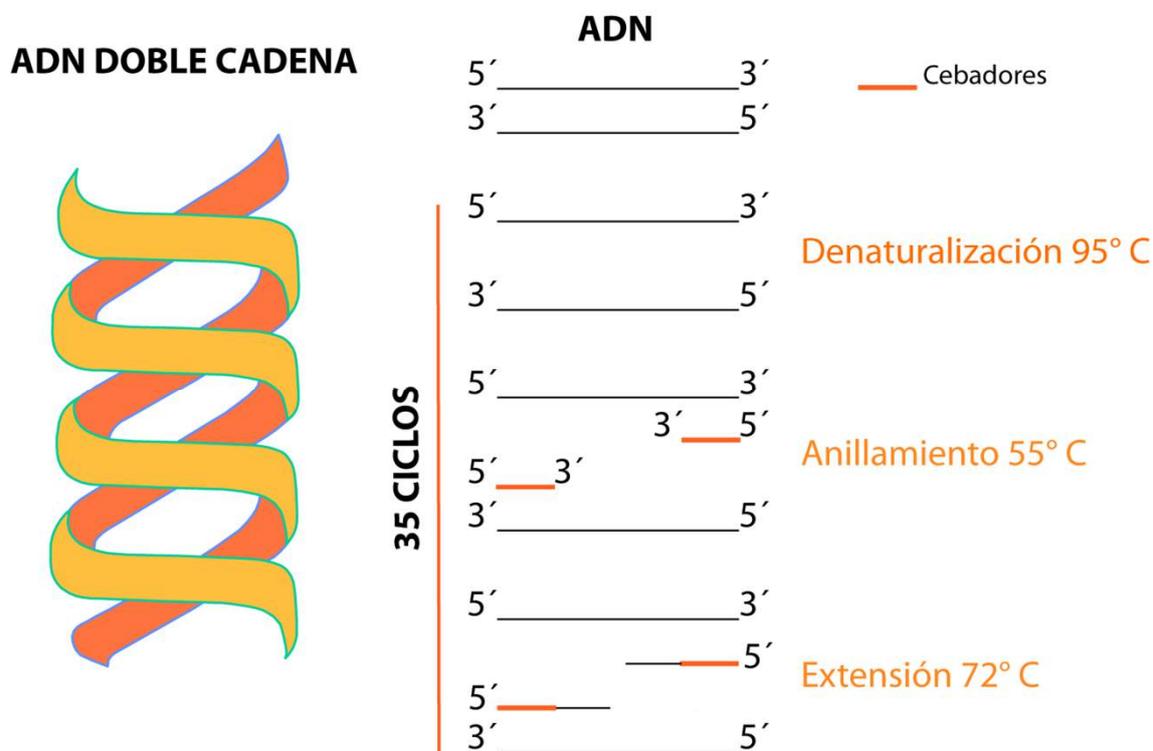


FIGURA VIII.4. REPRESENTACIÓN DE LA AMPLIFICACIÓN DE ADN MEDIANTE PCR. La temperatura de anillamiento va a permitir que los cebadores se complementen efectivamente en las cadenas del ADN para la posterior síntesis de las cadenas hijas [IIB, 2014].

4.2. PCR cuantitativa en tiempo real

La PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR) es una variación de la PCR estándar utilizada para la cuantificación de ADN o ARN mensajero de una muestra. Sus ventajas al compararla con la PCR tradicional son: la eliminación de la manipulación post-PCR, tiene mayor sensibilidad y especificidad, permite discriminar productos (dímeros de cebadores o bandas inespecíficas) mediante la curva melting, tiene la capacidad de analizar múltiples productos, expresión génica, análisis de expresión de micro ARNs y genotipaje de poblaciones para determinar frecuencias polimórficas.

Utilizando cebadores y sondas específicas de secuencia, es posible determinar el número de copias o la cantidad inicial de una determinada secuencia de ADN o ARN. La cuantificación del material genético puede darse a través del análisis absoluto o relativo (Nolan et al., 2006).

El análisis absoluto permite cuantificar una secuencia blanco y expresar el resultado final como un valor absoluto. Este análisis es muy utilizado en Virología y Microbiología para determinar carga viral o número de copias de material genético bacteriano.

El análisis relativo compara los niveles de una o varias secuencias blanco en una misma muestra, con un control, y expresa el resultado final como el radio de las secuencias de interés. La comparación de diferentes genes en una misma muestra radica en la normalización de la expresión génica a través del uso de genes endógenos (*housekeeping*). Este análisis es utilizado en oncología molecular (Livak et al., 2001).

Cuando la qPCR se combina con una reacción de retro-transcripción (RT-PCR), puede determinarse la cantidad de ARNm de una muestra mediante una cuantificación relativa. La cuantificación relativa compara la cantidad del ARNm de un gen específico respecto a la cantidad de ARNm de un gen endógeno. Para la cuantificación se mide en cada ciclo de PCR la cantidad de amplicón producido. La cuantificación del producto se produce mediante la adición de fluoróforos que se unen al amplicón de forma específica o inespecífica, de manera que a mayor producto mayor fluorescencia producida y los programas de análisis representan dicha fluorescencia gráficamente respecto al número de ciclos. La cantidad de amplicón producido es ser proporcional al número de moléculas de ADN y ARN iniciales ($r = 1$), de forma que en aquellas muestras con mayor expresión del gen el amplicón fluorescente aparecerá en ciclos anteriores (Figura VIII.5).

La qPCR presenta diferentes fases: linearizada o inicial, exponencial temprana, logarítmica lineal y latencia o final. En la fase exponencial temprana se expresa la información de la línea umbral denominada en inglés *cycle threshold* (Ct) o *crossing point* (Cp). El Ct es un valor que nace de la intersección entre la curva de amplificación y la línea umbral; es un valor que denota cuando empieza la fase exponencial y es utilizado para cuantificar el ADNc. En cambio, la cantidad absoluta de ADN (número de copias o concentración) es determinada por comparación del valor Ct con estándares externos conocidos.

Un esquema de las curvas de amplificación se puede observar en la Figura VIII.5.

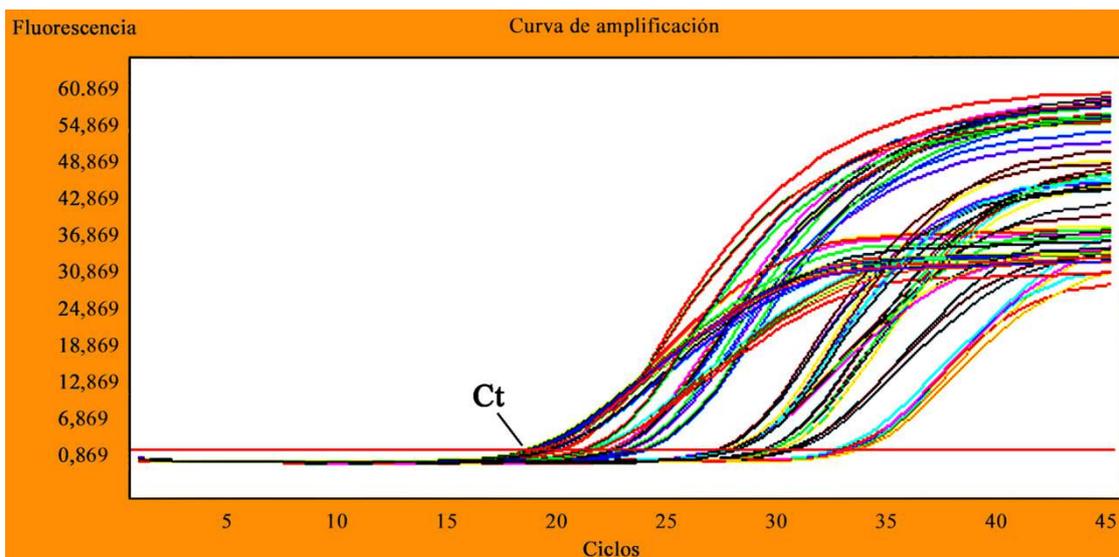


FIGURA VIII.5. CURVA DE AMPLIFICACIÓN Y LÍNEA UMBRAL DE LA qPCR. Relación entre el nivel de fluorescencia y el número de ciclos de una PCR [IIB, 2014].

4.2.1. Tipos de químicas

En la PCR cuantitativa en tiempo real existen dos tipos de químicas: inespecíficas y específicas. Estas químicas pueden ser utilizadas para diversos fines tales como la determinación del genotipaje y la cuantificación de la expresión génica o carga viral. La química inespecífica se activa mediante la presencia de dobles cadenas de ADN y la química específica utiliza transferencia energética de fluorescencia por resonancia (FRET).

4.2.1.1. SYBR Green

Un método inespecífico muy utilizado por su costo y efectividad es el SYBR Green, el cual se intercala en el ADN de doble cadena emitiendo fluorescencia. El uso de SYBR Green implica un diseño muy cuidadoso de los cebadores con el fin de evitar la formación de dímeros de cebadores o de la amplificación de varias regiones del genoma no propias del estudio. La Figura VIII.6 explica la activación del SYBR Green en presencia de cadenas dobles y la desactivación en cadenas simples (Ponchel et al., 2003).

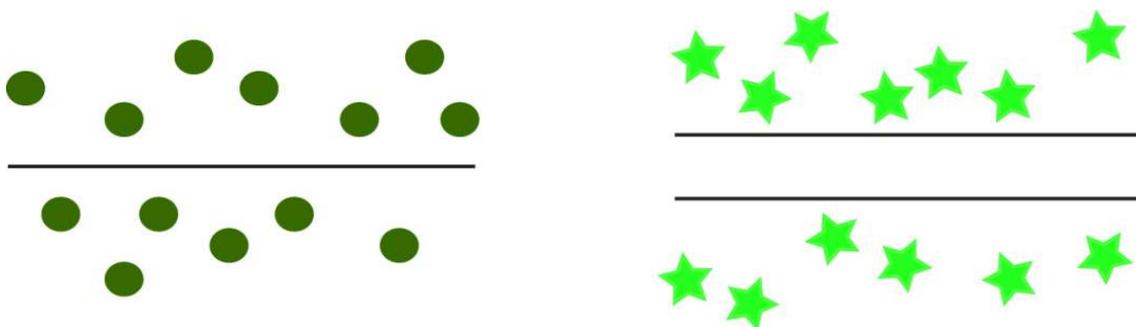


FIGURA VIII.6. SYBR GREEN. Se activa al intercalarse en cadenas dobles y se desactiva en cadenas simples de ADN [IIB, 2014].

4.2.1.2. Sondas TaqMan

Se puede mejorar la especificidad utilizando sondas fluorescentes (oligonucleótidos de alrededor de 25 pb) que se unen por complementariedad a secuencias blanco del ADN. Las sondas TaqMan permiten la cuantificación específica del ADN complementario (ADNc) de interés incluso en la presencia de amplificación inespecífica y dímeros de cebadores.

Estructuralmente las sondas TaqMan están conformadas por un fluoróforo en su extremo 5' y un quencher o inactivador de señal en el extremo 3' de la sonda. Funcionalmente las sondas se acoplan al ADN por complementariedad de bases en la fase de anillamiento y en la fase de elongación la ADN polimerasa degrada a la sonda y cuando el fluoróforo se distancia del quencher emite señal a una respectiva longitud de onda la cual es captada por un fotoreceptor (Figura VIII.7).

Aplicativamente, las sondas TaqMan pueden ser utilizadas para la determinación de polimorfismos o mutaciones en el ADN. Cuando se realiza un análisis genotípico se debe utilizar dos sondas, la una con la presencia del nucleótido del primer alelo y la otra con la presencia del nucleótido del segundo alelo, y así determinar si el individuo es homocigoto normal, heterocigoto u homocigoto mutante. Además, las sondas TaqMan también pueden ser utilizadas para el análisis de expresión génica a partir del estudio del ARNm.

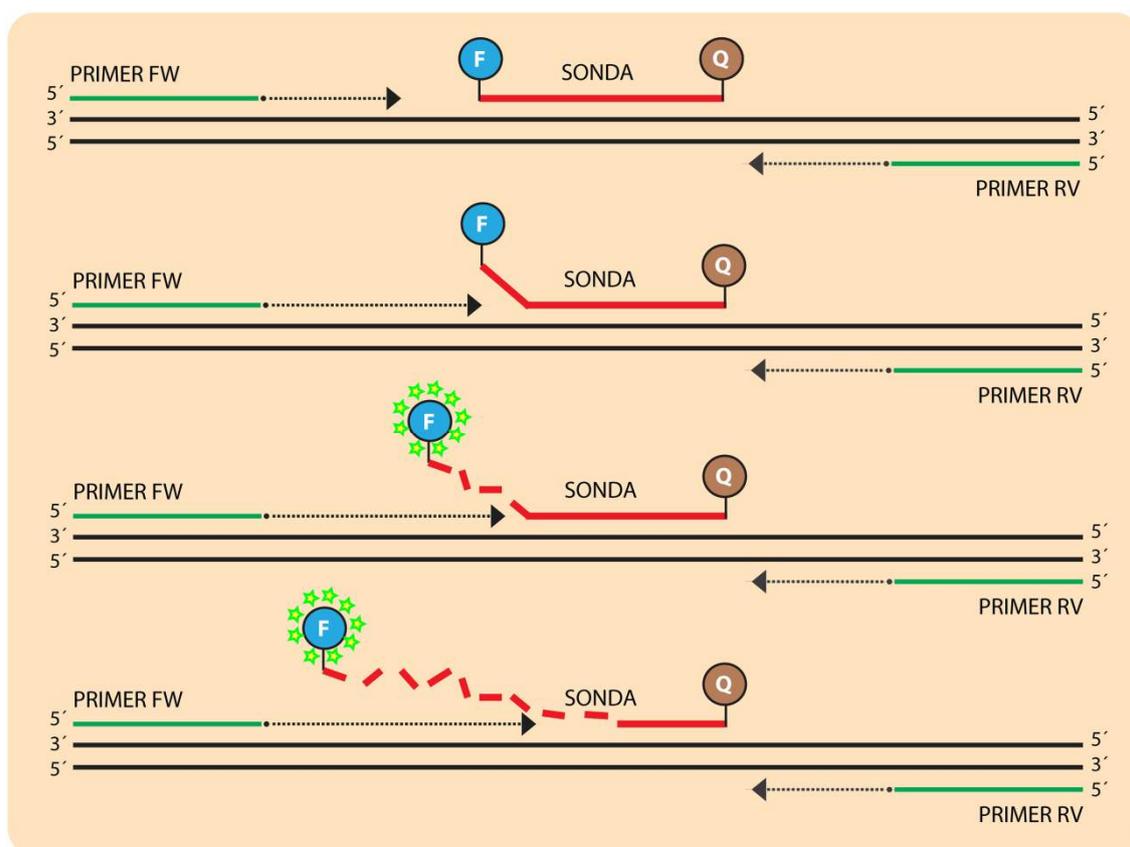


FIGURA VIII.7. SONDAS TAQMAN. Sondas específicas que permiten determinar la presencia de una determinada secuencia de ADN del genoma, cuya activación ocurre en el paso de elongación de la PCR [IIB, 2014].

4.2.1.3. Sondas Beacon

Las sondas Beacon son específicas para una determinada región del genoma. Funcionalmente, el fluoróforo emite señal cuando el agente bloqueador (quencher) se encuentra alejado por efecto de la hibridación (anillamiento) a la secuencia de interés.

Estructuralmente, esta sonda presenta una forma de horquilla con el fluorocromo en su extremo 5' y el quencher en su extremo 3' (Figura VIII.8).

Aplicativamente, este método sirve para realizar genotipaje y expresión génica de muestras de ADN o ADNc.

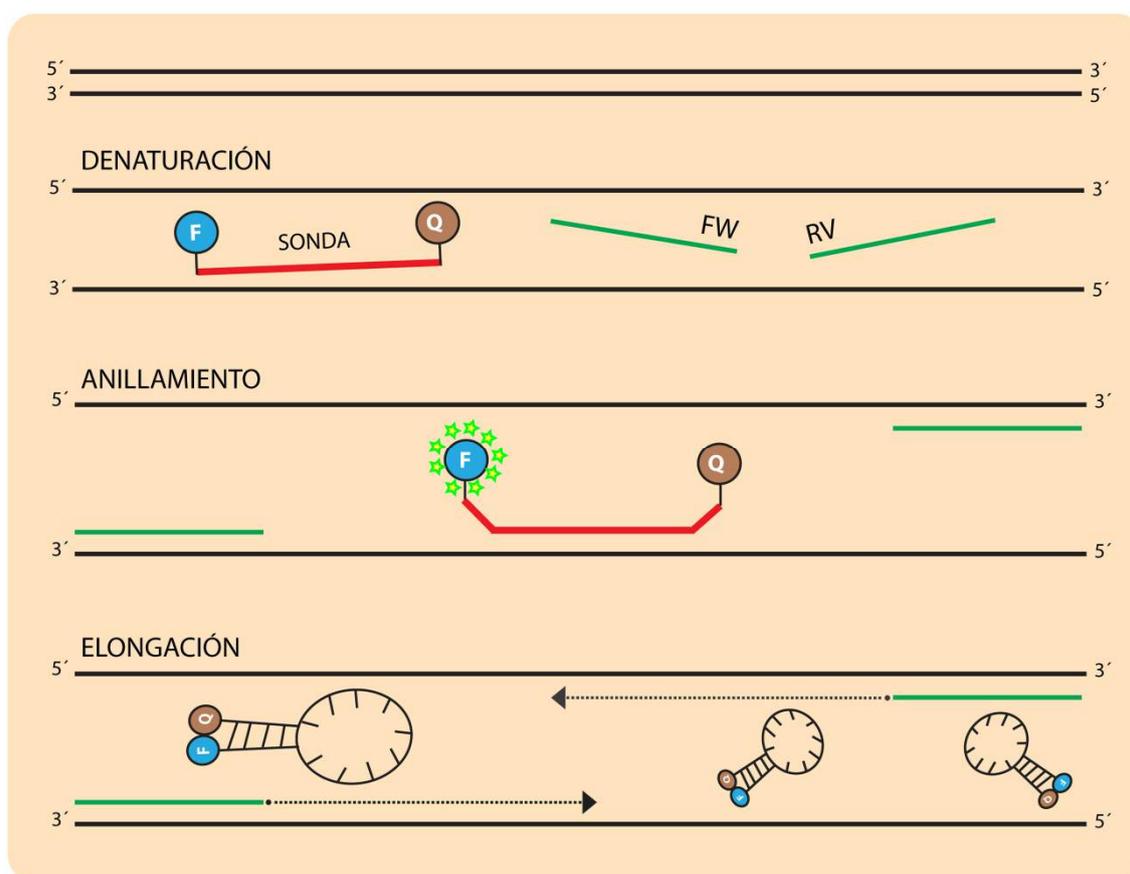


FIGURA VIII.8. SONDAS BEACON. Sondas específicas que permiten determinar la presencia de una determinada secuencia de ADN del genoma, cuya activación ocurre en el paso de anillamiento de la PCR (IIB, 2014).

4.2.1.4. Sondas Scorpion

La sonda Scorpion presenta una forma de horquilla. El fluoróforo se encuentra acoplado al extremo 5' y el bloqueador en el extremo 3'. Además, el extremo 3' de la sonda se encuentra enganchada al extremo 5' del primer (Figura VIII.9). Funcionalmente la sonda se activa en la fase de denaturación debido a que es el momento en el que las dobles cadenas se abren, se abre la horquilla y se genera una distancia para que el fluorocromo emita señal sin que esta sea bloqueada.

Aplicativamente, y a pesar de su mayor complejidad con relación a las otras químicas explicadas, esta puede ser utilizada para el análisis de expresión génica.

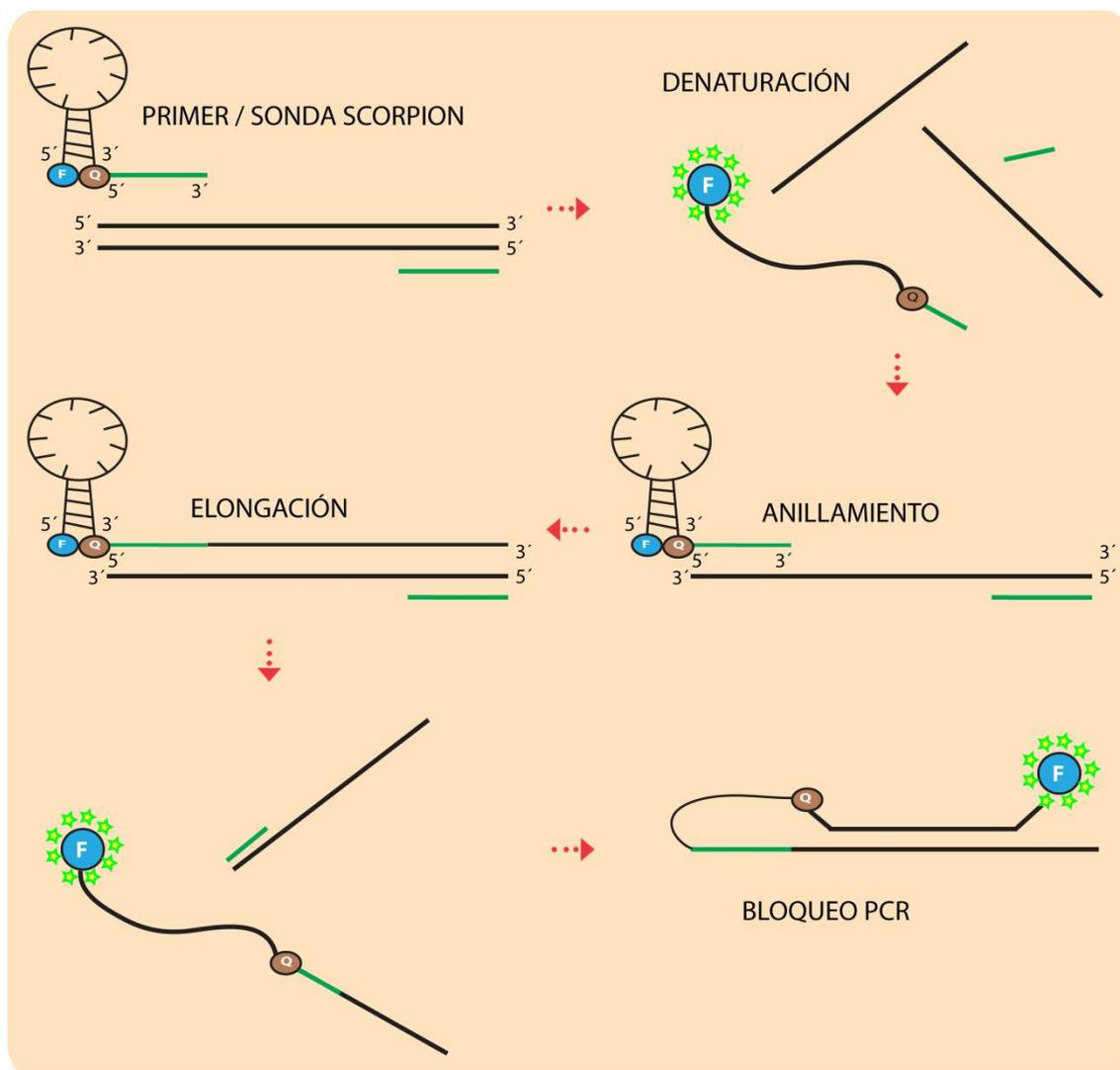


FIGURA VIII.9. SONDAS BEACON. Sondas específicas que permiten determinar la presencia de una determinada secuencia de ADN del genoma, cuya activación ocurre en el paso de denaturación de la PCR (IIB, 2014).

4.2.2. Genes endógenos o de referencia

La medida de la expresión génica por medio de la PCR es una cuantificación relativa, en la que se compara entre las diferentes muestras la expresión del gen objeto de estudio respecto a la expresión de un gen constitutivo cuya expresión no varía en las condiciones del experimento (control endógeno). Es lo que se denomina como normalización de la expresión del gen específico, o normalizar respecto a la diferente concentración de ARN total de las muestras, ya que si la cantidad de control endógeno varía, es debido a cambios en la cantidad del ARN total empleada en la síntesis de ADNc, no a cambios en su expresión. Los genes más utilizados como controles endógenos son: ARNr 18S, GAPDH, beta-actina, TBP, HPRT, beta-2-microglobulina, entre otros. No existe gen cuya expresión no varía en alguna de las condiciones, por lo

que el usuario debe evaluar cual sería el mejor control endógeno para su experimento (Livak et al., 2001).

Tabla VIII.6. Genes endógenos aplicados en la expresión génica

Código	Nombre	Cromosoma
18S ARNr	18S ARNr	12p12
ABL	Abelson	9q34
PO	Proteína ácida ribosomal	11p15
B2M	Beta 2 microglobulina	15q21
ACTB	Beta actina	7p15
GUS	Beta glucoronidasa	7q21
CYC	Ciclofilina	7p13
GAPDH	Gliceraldehido 3 fosfato deshidrogenasa	12q13
HPRT	Hipoxantina fosforibosiltransferasa	Xq26
PGK	Fosfogliceroquinasa	Xq13
PBGD	Porfobilinógeno deaminasa	11q23
PBGD2	Porfobilinógeno deaminasa 2	11q23
TBP	Factor de transcripción IID	6q27
TFRC	Receptor transferrina	3q26

4.2.3. Métodos de cuantificación de la expresión génica

Existen principalmente dos métodos de cuantificación, dependiendo si la eficiencia de amplificación del gen objeto de estudio y del gen de referencia son comparables:

4.2.3.1. Cuantificación relativa mediante el método Livak

En este método se comparan directamente los *cycle threshold* (Ct) del gen testado y del gen de referencia (ΔCt) en cada muestra, y posteriormente se comparan los ΔCt de la muestra experimental con respecto a la muestra control, para aplicar dicho método es necesario que las eficiencias de ambos genes sean similares. La fórmula aplicada es la siguiente (Livak et al., 2001):

$$2^{-\Delta\Delta Ct} = \text{Tasa de expresión normalizada}$$

$$2^{-[\text{Ct gen de interés} - \text{Ct gen endógeno}] - [\text{Ct gen de interés} - \text{Ct gen endógeno}]}$$

SANOS
ENFERMOS

4.2.3.2. Cuantificación absoluta mediante la curva estándar

El otro método se basa en la utilización de una recta estándar a partir de ADNc de concentraciones conocidas, y extrapolar la concentración del gen en la muestra experimental a partir del Ct obtenido, posteriormente se calcula la relación entre la cantidad del gen testado y el gen de referencia, y se compara dicha relación entre las muestras (Figura VIII.10).

La cuantificación absoluta mediante una curva estándar es ampliamente utilizada en el análisis de cargas virales y en la enfermedad mínima residual (leucemia).

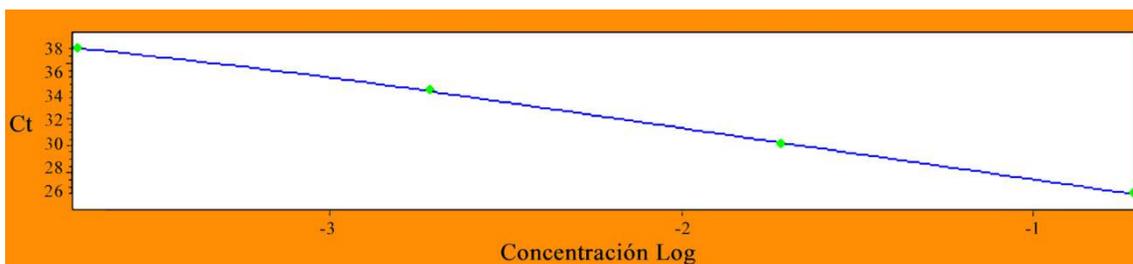


FIGURA VIII. 10. CURVA ESTÁNDAR. Diferentes concentraciones de una muestra de ADN [control positivo] sirven como patrón para el análisis absoluto de la muestra de un paciente (IIB, 2014).

4.3. Secuenciación de los genes

La finalidad de esta prueba es descifrar una a una las letras químicas que componen el ADN. Para esto se utilizan dos técnicas en conjunto, una que se encarga de copiar millones de veces los genes (PCR) y, al mismo tiempo que se producen las copias, se introducen bases nitrogenadas alteradas, lo que determina una interrupción momentánea y parcial de las copias del gen. Éstas luego se ven como escalera en una gelatina y teñidas o reveladas con nitrato de plata. Posteriormente, la secuencia de los genes va develándose, sea en forma manual o con sofisticados aparatos, en forma automática, así se llega a conocer cómo están dispuestas las letras del alfabeto de la herencia; por ejemplo: ACGTGTAATTTCGA... hasta todo el genoma. Cabe mencionar que la técnica manual ya no se aplica en la actualidad debido a los avances tecnológicos y a la bioseguridad.

Existen dos técnicas básicas para secuenciar el genoma:

4.3.1. Cartografía genética de ligamiento

La cartografía genética se basa en el cálculo de la frecuencia con la que se coheredan formas alternativas (alelos) de dos loci genéticos, ligados formando parte de un mismo cromosoma. Es útil para este propósito el uso de RFLP, VNTR, STR y SNP, en forma progresiva. Muchas de estas secuencias repetidas del ADN son informativas, ya que pueden estar asociadas a enfermedades específicas, con lo cual, al establecer un mapa de ligamiento, se podrá identificar el gen de la enfermedad.

4.3.2. Cartografía física e integración de los mapas

Los mapas físicos tienen como objetivo especificar distancias físicas mensurables en pares de bases o alguno de sus múltiplos. Obviamente, el mapa físico de mayor detalle es la propia secuencia del genoma. Pero antes de llegar a obtenerla, hay que elaborar mapas físicos partiendo de resoluciones bajas y avanzando hacia las resoluciones cada vez mayores. En cierta manera, los mapas físicos de menor resolución son los propios cariotipos.

Las técnicas de secuenciamiento se han desarrollado combinando efectos físicos con químicos, como por ejemplo, el método de Sanger.

4.3.2.1. Secuenciación automática según el método de Sanger

Cada base nitrogenada está marcada defectivamente, con lo cual la reacción de secuenciación se detiene al encontrar una base defectiva, de tal forma que van apareciendo bandas progresivamente más extensas. Cada uno de los nucleótidos trifosfato, ddNTP defectivo (dideoxi), se marca con un colorante fluorescente diferente; se puede también marcar con plata. Ello permite hacer la electroforesis en el mismo callejón del gel. Las bandas de ADN son detectadas por su fluorescencia según pasan delante del detector láser, al cual si le hacemos mover en horizontal, podrá leer varias secuenciaciones al mismo tiempo. Los datos pasan a un sistema computarizado (Figura VIII.11) (Wellcome Trust Sanger Institute, 2013).

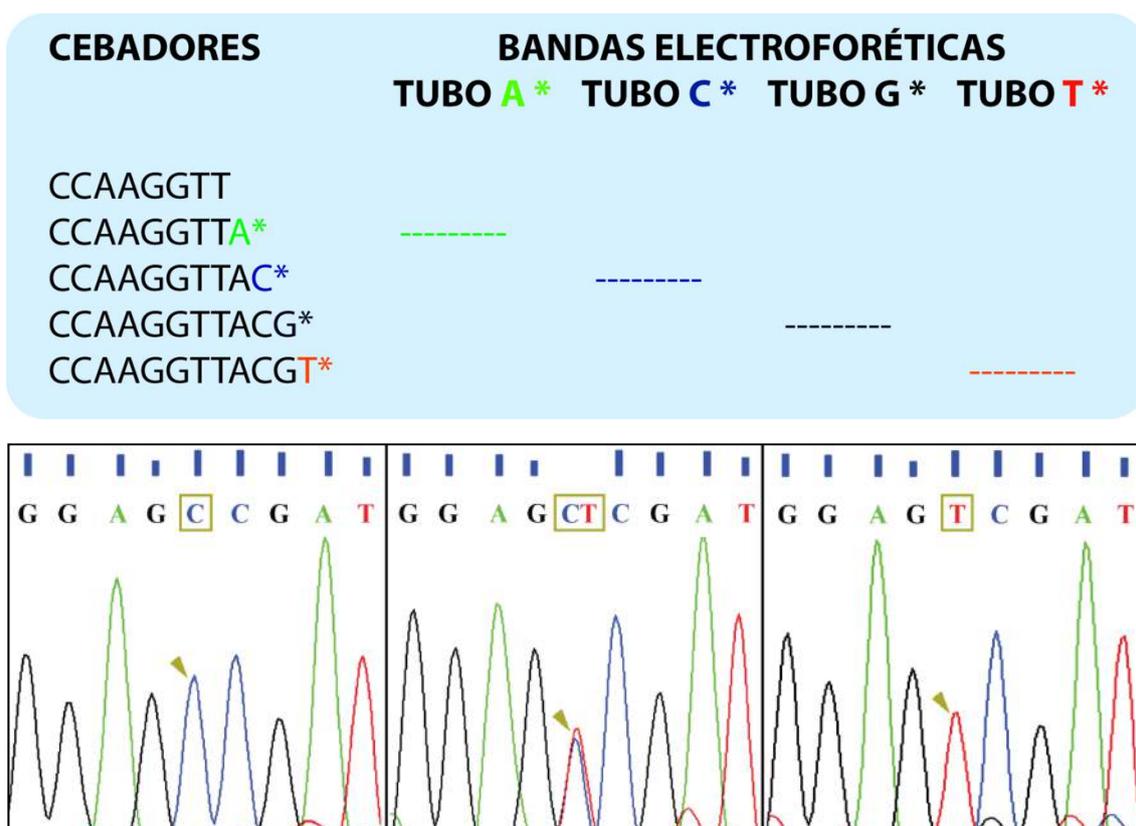


FIGURA VIII. 11. NUCLEÓTIDOS FLUOROMARCADOS Y SU INTERPRETACIÓN DIGITAL. Cada nucleótido [A, G, T, C] se encuentra marcado con un fluorocromo específico, el cual va a permitir su identificación en el software (IIB, 2014).

4.3.2.2. Secuenciación de última generación

El genoma humano normal en todas las personas maneja prácticamente la misma información, es decir, todos somos muy similares, pero debido a factores epigenéticos y a la presencia de polimorfismos de nucleótido simple, cada genoma se comporta de manera independiente y diferente.

Las técnicas moleculares actuales son cada vez más eficientes, produciendo mucha más información en menos tiempo y con un costo mucho menor. El genoma

humano se secuenció en medio de un proyecto multimillonario que duró más de diez años y utilizó miles de investigadores, cientos de centros y maquinaria sumamente costosa. Con los avances tecnológicos de la actualidad, mediante la llamada secuenciación de última generación, es posible secuenciar un genoma completo en menos de 8 horas, sin demasiado trabajo y a un costo totalmente accesible.

El primer genoma completo de un cáncer fue reportado en el 2008, una comparación entre la secuencia nucleotídica de una leucemia mieloide aguda y el tejido normal de la piel del mismo paciente (Ley et al., 2008). Desde ahí, genomas de varios organismos han sido publicados. La secuenciación de genomas completos puede representar una cantidad inmanejable de información, por lo cual se han creado algunos enfoques más específicos de la metodología, como son el estudio del exoma (estudio de la región codificante de un genoma) o del transcriptoma (estudio de los genes expresados en un tejido).

Mediante el estudio del exoma se han descubierto asociaciones no conocidas entre ciertas mutaciones o polimorfismos y algunos genes. Una de las ventajas de la técnica es la gran cantidad de información por muestra; por esta razón no es necesario tener grandes cantidades de especímenes para poder encontrar asociaciones significativas. En un estudio realizado en 22 muestras de cáncer gástrico, se encontraron más de 4000 mutaciones somáticas en el exoma, pero después de un análisis bioinformático extenso se determinó que una mutación en el gen ARID1A se encuentra de manera frecuente en las muestras analizadas. Dicha asociación no había sido descrita anteriormente (Wang et al., 2011). Otros estudios han determinado la pérdida de moléculas de adhesión y de control de cromatina en cáncer gástrico y hepático (Zang et al., 2012; Fujimoto et al., 2012).

La genómica se ha transformado con el pasar de los años. Las metodologías de última generación están aclarando cada vez más los horizontes de entendimiento de las enfermedades y sus mecanismos, y de esta manera cada vez más moléculas están siendo estudiadas como dianas para terapias dirigidas, las cuales determinan una mejor calidad de vida del individuo afecto.

La técnica de secuenciación de próxima generación se basa en la detección de la secuencia específica del material genético en un acoplamiento con la metodología de arreglos genéticos. Según el avance en la tecnología, las técnicas de secuenciación de próxima generación abarcan: la pirosecuenciación, la secuenciación por terminadores reversibles, por ligación, por semiconducción de iones y por secuenciación de una molécula de ADN (Meyerson et al., 2010).

Tabla VIII.7. Tecnologías de secuenciación de próxima generación

Método de secuenciación	Preparación de muestra	Longitud de lectura (pb)
Pirosecuenciación	PCR de emulsión	700
Terminadores reversibles	PCR en puente	150
Ligación	PCR de emulsión	50
Polimerasa	Molécula única	1000
Semiconducción de iones	PCR de emulsión/análisis de pH	201
Microscopía electrónica	Molécula única	No información

La pirosecuenciación es relativamente una nueva técnica de secuenciación del ADN, desarrollada inicialmente por Mostafa Ronaghi a finales de los años noventa (Ronaghi et al., 1996; 1998; 2001). Esta técnica está basada en la secuenciación por síntesis, acoplando la síntesis de ADN a una reacción quimioluminiscente, lo que permite una rápida determinación de secuencias en tiempo real. La técnica utiliza cuatro reacciones enzimáticas que tienen lugar en un único tubo en el que se monitoriza la síntesis de la cadena complementaria del ADN, usando como molde ADN de cadena simple. Los nucleótidos son añadidos de forma consecutiva a la reacción y, en caso de incorporación, se libera pirofosfato inorgánico (PPi). PPi desencadena una serie de reacciones que resultan en la producción de luz, de forma proporcional a la cantidad de ADN y el número de nucleótidos incorporados. La generación de luz se detecta en forma de pico y se graba mediante un sistema de detección, reflejando la actividad de las enzimas en la reacción (Ronaghi et al., 1996; 1998; 2001).

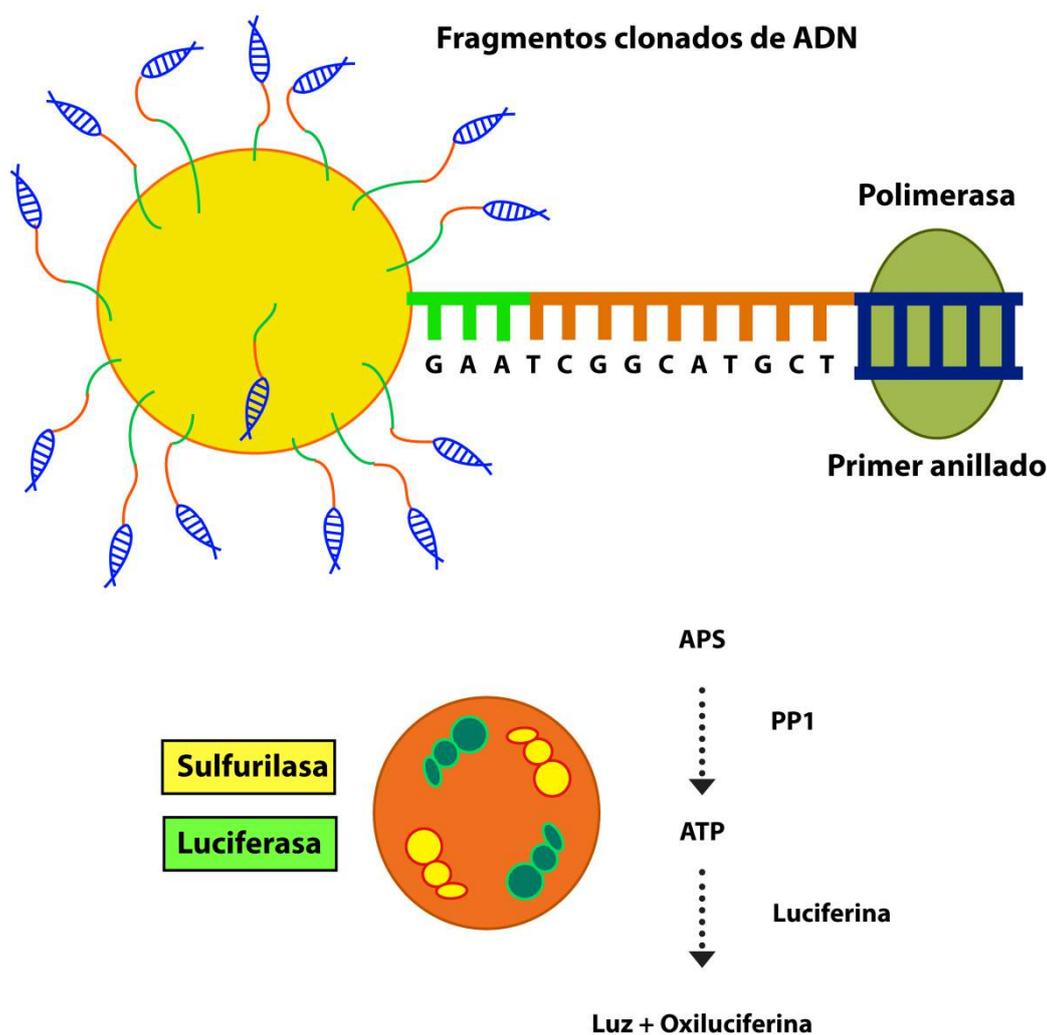


FIGURA VIII. 12. ESQUEMA DE PIROSECUENCIACIÓN. Secuenciación por síntesis, acoplando el ADN a una reacción quimioluminiscente, permitiendo la detección de secuencias en tiempo real [Modificado de Margulies et al., 2005; IIB, 2014].

Al mismo tiempo que se desarrollaba la pirosecuenciación, otras dos compañías desarrollaron otro tipo de tecnología para la secuenciación masiva en paralelo del ADN:

la técnica de terminadores reversibles que utiliza un método basado en la polimerización del ADN, donde la incorporación de un nucleótido marcado con fluorescencia y protegido en la cadena naciente impide que esta siga creciendo. Tras detectar la señal fluorescente, se elimina el grupo protector y se puede incorporar otro nucleótido marcado, con lo que empieza de nuevo el ciclo (Figura VIII.13).

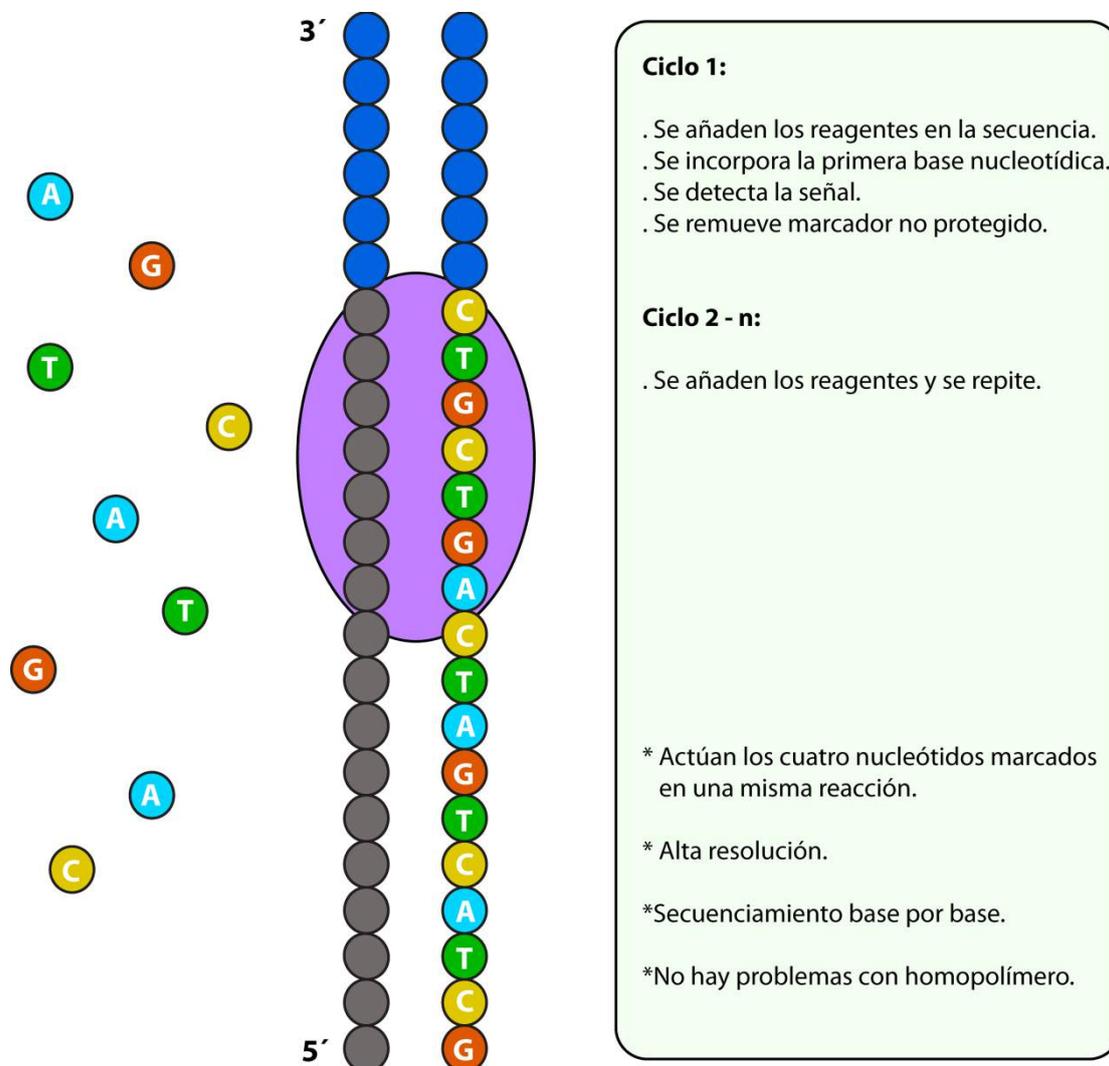


FIGURA VIII. 13. ESQUEMA DE SECUENCIACIÓN POR TERMINADORES REVERSIBLES. Es un método basado en la polimerización del ADN y en la incorporación de nucleótidos marcados con fluorocromos (IIB, 2014).

De otro lado, el método de secuenciación por ligación es una técnica que secuencia por ligación de octámeros marcados a la cadena de ADN, con la posterior detección de la señal fluorescente emitida tras cada ligación (Figura VIII.14).

Ambas técnicas (terminadores reversibles y ligación) tienen la gran ventaja, con respecto a la pirosecuenciación, de resolver de forma fiable las regiones homopoliméricas. Sin embargo, su gran desventaja radica en que no pueden generar lecturas superiores a 75 bases, por lo que no se puede utilizar en las secuencias *de novo*, siendo especialmente diseñadas para la resecuenciación de genomas ya conocidos o para estudiar la expresión de los transcritos (Metzker, 2010).

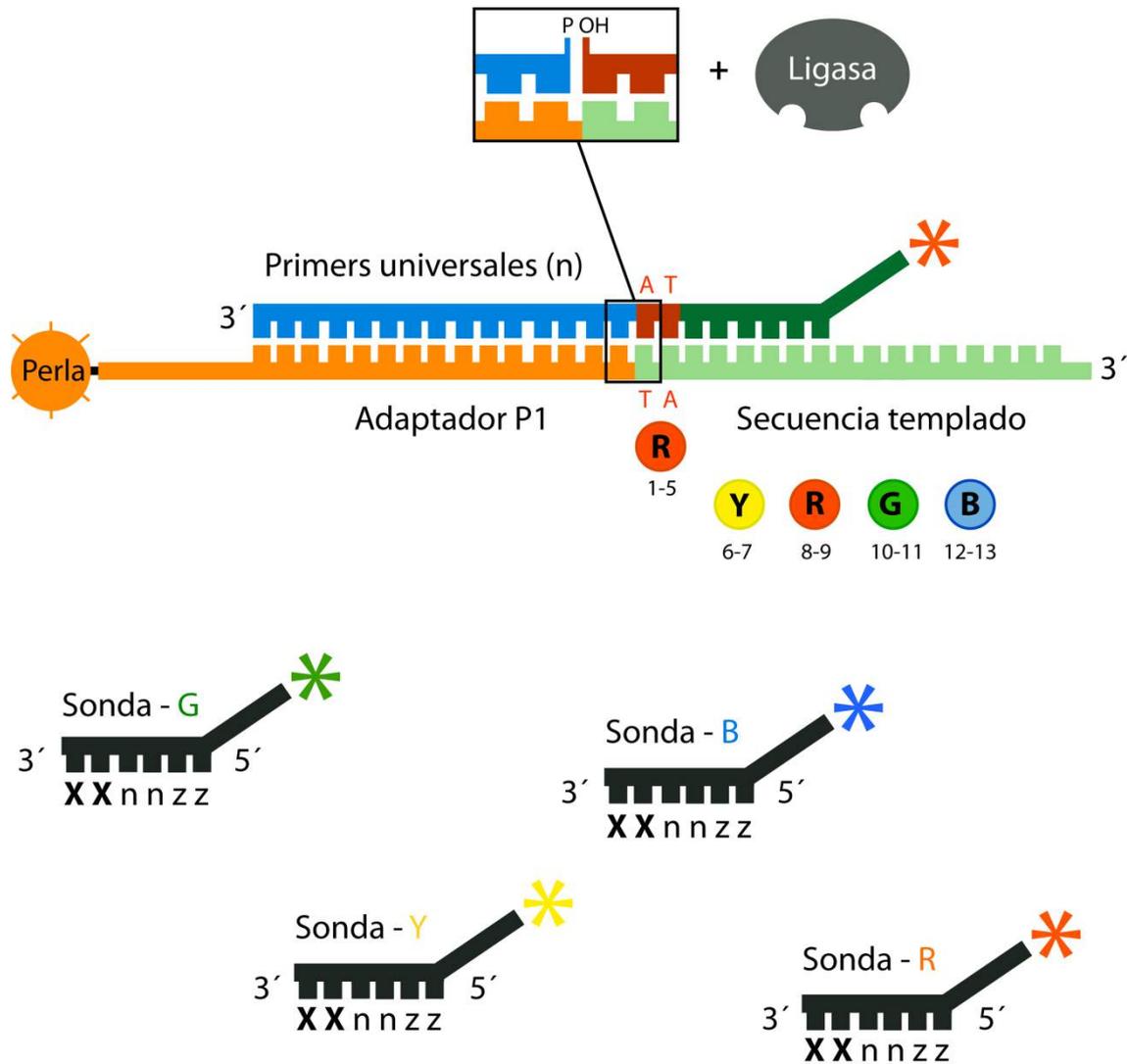


FIGURA VIII. 14. ESQUEMA DE SECUENCIACIÓN POR LIGACIÓN. Consiste en la ligación de octámicos marcados a la secuencia madre de ADN [IIB, 2014].

Una innovadora tecnología de secuenciación es la que aplica la conducción iónica, que consiste en la captación de protones (H^+) los cuales son eliminados cuando los nucleótidos se incorporan a la molécula de ADN que está siendo sintetizada por la polimerasa. Para detectar el cambio en el pH, la máquina PGM (*personal genome machine*) reconoce cuando el nucleótido es incorporado o no. Cada vez el chip es llenado con un nucleótido después de otro. Si se incorpora un nucleótido incorrecto no hay captación de voltaje y si se incorporan dos nucleótidos consecutivos hay doble captación de voltaje (Liu et al., 2012) (Figura VIII.15).

La necesidad de estudiar regiones de ADN más extensas con alta fiabilidad y a un menor costo, ha impulsado el desarrollo de otras técnicas denominadas de tercera generación, basadas en la secuenciación de una única molécula de ADN (*single molecule real time sequencing*). El primer secuenciador de esta generación tiene como base la secuenciación a tiempo real de miles de millones de pequeñas moléculas únicas de ADN adheridas a una superficie sólida. Permite generar fragmentos fiables de entre 25 y 45 bases. Dada la pequeñez de las lecturas generadas, esta tecnología está

recomendada para la resecuenciación de genomas y no para la secuenciación de *novo*. En un paso más adelante se sitúa otra tecnología que permite leer de golpe hasta 1000 nucleótidos, lo que resolvería el problema de las anteriores tecnologías mencionadas. Otra tecnología, encuadrada en los secuenciadores de tercera generación, es la que utiliza microscopía electrónica y permite leer la secuencia del ADN directamente sobre una imagen electrónica. La lectura de la secuencia requiere de la replicación previa de una hebra molde de ADN para poder marcarla con bases modificadas con yodo, bromo y triclorometilo antes de analizarlas (Metzker, 2010).

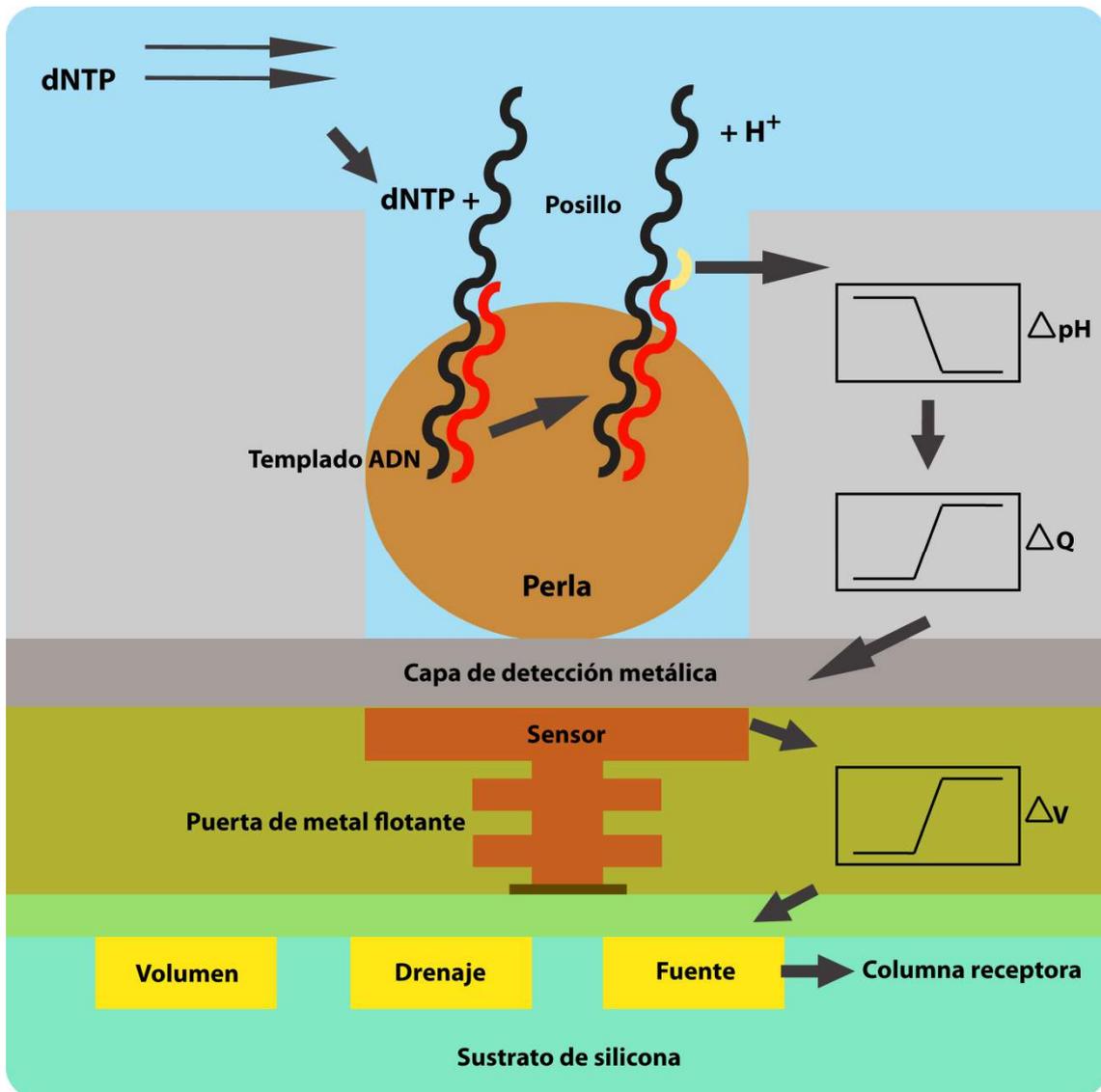


FIGURA VIII. 15. ESQUEMA DE SECUENCIACIÓN POR SEMICONDUCCIÓN IÓNICA. Esta técnica permite captar los protones [H^+] que son eliminados cuando los nucleótidos son incorporados al ADN (IIB, 2014).

Gracias al avance de la Nanotecnología y la Microscopía Electrónica se ha podido reducir, hasta límites insospechados, la cantidad de reactivos necesarios para lanzar las reacciones de secuenciación, con el consiguiente abaratamiento de los costos. Además, no se debe olvidar que estas tecnologías ya se están aplicando a campos como

la transcriptómica, el análisis de la variabilidad, la identificación de SNP, los análisis de metagenómica y el estudio del exoma.

A partir del uso de los métodos de Sanger y de secuenciación de próxima generación se realizó y se está realizando el Proyecto del Genoma Humano y el Proyecto del Varioma Humano, respectivamente. Mientras que el Proyecto ENCODE es un análisis de los elementos funcionales del genoma humano.

5. PROYECTOS DEL GENOMA HUMANO Y VARIOMA HUMANO

En el desarrollo de la Genética, merece un tratamiento aparte la decisión tomada por los científicos con respecto a una de las ambiciones más grandes e importantes de la época actual: secuenciar los aproximadamente 23000 genes que contiene el genoma humano. Para ello, se ha desarrollado el Proyecto Genoma Humano (PGH); en el que se han invertido 3 billones de dólares en el financiamiento de estudios durante 15 años (200 millones de dólares anuales), para descifrar 3000 millones de pares de bases que constituirían la totalidad de los genes humanos. Este proyecto que se inició en 1988 bajo la conducción de James Watson, ha logrado ya conocer unos 4600 genes responsables de enfermedades hereditarias mendelianas, 1500 de estos genes se ha logrado mapear en lugares específicos de los cromosomas y tan solo unos 600 de estos han sido clonados y secuenciados. La labor de secuenciar el genoma ha sido ardua y difícil; para su culminación, financiamiento y desarrollo, la comunidad científica internacional creó la *Human Genome Organization* (HUGO), liderada desde Baltimore, Estados Unidos, por Victor A. McKusick, y que aspira ser utilizada en la actualidad para resolver problemas genéticos como el cáncer, la diabetes y otros males (Human Genome Organization, 2013).

La estrategia a seguir para alcanzar la meta del Proyecto Genoma Humano fue la siguiente: En primer lugar, trazar el mapa genético; es decir, ubicar genes para los cuales existen marcadores genéticos a través del análisis del ADN polimórfico. Se aspiraba culminar esta primera etapa en 1995, año en el que se sabrían con certeza los genes causantes de anormalidades mendelianas. En segundo lugar, desarrollar un mapa físico; es decir, secuenciar el gen previamente extraído del ADN total; para este mapa físico se consideró la siguiente tecnología del ADN:

- a) Identificación genética por hibridación del ADN.
- b) Análisis de fragmentos del ADN por separación electroforética.
- c) Identificación de fragmentos del ADN por hibridación *in situ* y con fluorescencia.
- d) Análisis de fragmentos del ADN.
- e) Clonación de genes.
- f) Secuenciación del ADN.
- g) Aplicación de la PCR para amplificación de genes.
- h) Otros métodos: Citometría de flujo; microscopía; rayos X.

Los resultados del PGH han creado mucha polémica entre investigadores, empresas farmacéuticas y posibles usuarios. Hay grupos de personas que han tratado de manejar la información genética en forma restringida, secreta y han hecho lo posible por patentarla. Frente a esto, grupos de investigadores dirigidos por Cavalli-Sforza, impulsaron el Proyecto del Varioma Humano (PVH) para estudiar la diversidad del genoma humano. Uno de sus primeros logros fue el descifrar la casi totalidad de secuencias repetidas en el genoma y darlo a conocer a toda la comunidad científica, a través de las Naciones Unidas, lo que abrió una gran oportunidad para los países en vías de desarrollo, para acceder a las nuevas tecnologías e implementarlas en el estudio de sus propias poblaciones, que son muy ricas en grupos étnicos y posiblemente ofrecen valiosa información de los polimorfismos del ADN (Human Variome Project, 2013).

Los polimorfismos del ADN, que son cambios en nuestros genes, manejan los procesos evolutivos, introduciendo constantemente una variabilidad fenotípica en las poblaciones, asegurando que nosotros, como especie, nos podamos adaptar a cambios ambientales. A pesar de esto, las variaciones en el ADN también son causantes de enfermedades genéticas que pueden llegar a ser muy devastadoras personal y socialmente. Entre ellas la fibrosis quística, distrofia muscular, enfermedad de Tay-Sachs, ictiosis, etc.

La expectativa sobre los dos proyectos (PGH y PVH) es muy grande debido a que toda la información del genoma sirve para detectar marcadores moleculares, generar fármacos específicos de cada tipo de enfermedad, y también es importante en el entendimiento de la evolución humana y de todas las especies.

6. ENCICLOPEDIA DE LOS ELEMENTOS DEL ADN

El proyecto ENCODE o enciclopedia de los elementos del ADN (*Encyclopedia of DNA Elements*) nació en el año 2003 y se expandieron sus objetivos en el año 2007, cuyo enfoque actual es el de estudiar el genoma humano completo, capitalizando el desarrollo tecnológico para experimentos y para análisis computacional. Su misión es el brindar a la comunidad científica información comprensible y de alta calidad sobre los elementos funcionales del genoma humano (Dunham et al., 2012).

El proyecto ENCODE ha sido fundado por el *National Human Genome Research Institute*, para identificar todas las regiones de transcripción, asociación de factores de transcripción, estructura de la cromatina y modificaciones histónicas en la secuencia del genoma humano. Gracias a la identificación de los elementos funcionales, el 80% de estos componentes del genoma humano tienen ahora al menos una función bioquímica y toda la información recopilada ha brindado nuevos perfiles en cuanto a la organización y regulación de los genes y del genoma (National Human Genome Research Institute, 2013).

La tabla a continuación describe los diferentes tipos de información que han sido producidos por este proyecto (Bánfai et al., 2012; Charos et al., 2012; Cheng et al., 2012; Djebali et al., 2012; Gerstein et al., 2012; Ladewig et al., 2012; Neph et al., 2012; Park et al., 2012; Sanyal et al., 2012; Thurman et al., 2012; Tilgner et al., 2012; Wang et al., 2012) (Tabla VIII.8).

Tabla VIII.8. Información procesada por el proyecto ENCODE

Gen / Análisis de transcrito		
Región / Característica	Método	Grupo de investigación
Gen	GENCODE	Wellcome Trust Sanger Institute
Regiones codificadoras Poli A+	RNA-seq; tiling DNA	CSHL; Stanford/Yale/Harvard;
	Microarrays; PET	Caltech
Regiones codificadoras de ARN total	RNA-seq; tiling DNA	CSHL
	Microarrays; PET	
Regiones codificadoras en fracciones de ARN subcelular	PET	CSHL
ARNs pequeños	Short RNA-seq	CSHL
Lugares de inicio (5´) y terminación (3´) de la transcripción	CAGE; diTAGs	RIKEN; GIS
Moléculas largas de ARN	RACE	University of Geneva; University of Lausanne
Regiones de ARN enlazadas a proteínas	RIP; CLIP	SUNY-Albany; CSHL
Factores de transcripción / Cromatinas		
Elementos / Regiones	Métodos	Grupo de investigación
Sitios de enlace de factores de transcripción	ChiP-seq	Stanford/Yale/UC-Davis/Harvard; HudsonAlpha/Caltech; Duke/UT-Austin; UW; U. Chicago/Stanford
Estructura de cromatina	ADNasal	UW; Duke; UNC
	hipersensibilidad; FAIRE	
Modificación de la cromatina (H3K27ac, H3K27me3, H3K36me3)	ChiP-seq	Broad; UW
Huellas ADNasal	Huella genómica digital	UW
Otros elementos		
Características	Métodos	Grupo de investigación
Metilación del ADN	RRBS; Illumina Methyl27; Methyl-seq	HudsonAlpha
Interacción de cromatina	5C; CHIA-PET	UMass; UW; GIS
Genotipaje	Illumina 1M Duo	HudsonAlpha

7. PROCESOS DE INHIBICIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA

Entre los diversos mecanismos que existen en la célula para el control de la expresión génica, los ARN de interferencia (ARNi) son moléculas que actúan inhibiendo los ARN mensajeros ya sea por bloqueo o degradación.

7.1. ARN de interferencia

Una nueva era en la Genética de los eucariontes comenzó con el descubrimiento del ARNi, en la cual el ARN de doble cadena es introducido en la célula con el objetivo de silenciar la expresión de genes homólogos. El ARNi representa uno de los más promisorios avances en la aplicación de nuevas estrategias terapéuticas en Medicina. La interferencia de ARN es el proceso por el cual el ARN de interferencia pequeño (ARNsi) y el micro ARN (miARN) silencian la expresión de genes, ya sea por inducir la degradación de una secuencia específica de ARN mensajero (ARNm) o por inhibir su traducción. Los ARNs de interferencia son moléculas pequeñas de 20 a 25 nucleótidos que se generan por la fragmentación de precursores más largos (Fire et al., 1998).

Las moléculas de ARNi se clasifican en: ARN interferente pequeño, micro ARN y ARN asociado a piwi (ARNpi).

7.1.1. ARN interferente pequeño

El ARNsi es una molécula de ARN bicatenario, complementado entre sí. Su estructura está formada por 20 nucleótidos, manteniendo dos nucleótidos desemparejados en el extremo 3' (Ghildiyal et al., 2008).

El ARN de doble cadena (ARNds) es cortado en pequeñas moléculas (ARNsi) por la endorribonucleasa DICER. La cadena antisentido del ARNsi se engancha en el complejo multiproteico denominado RISC (*RNA-induced silencing complex*), que induce al silenciamiento del ARN mensajero. El complejo RISC utiliza la hebra de ARNsi como guía para identificar el ARN mensajero específico que va a ser cortado en dos mitades y degradado, con el objetivo de inhibir la síntesis proteica. Este procedimiento se lo puede observar en la siguiente figura (Watanabe et al., 2008).

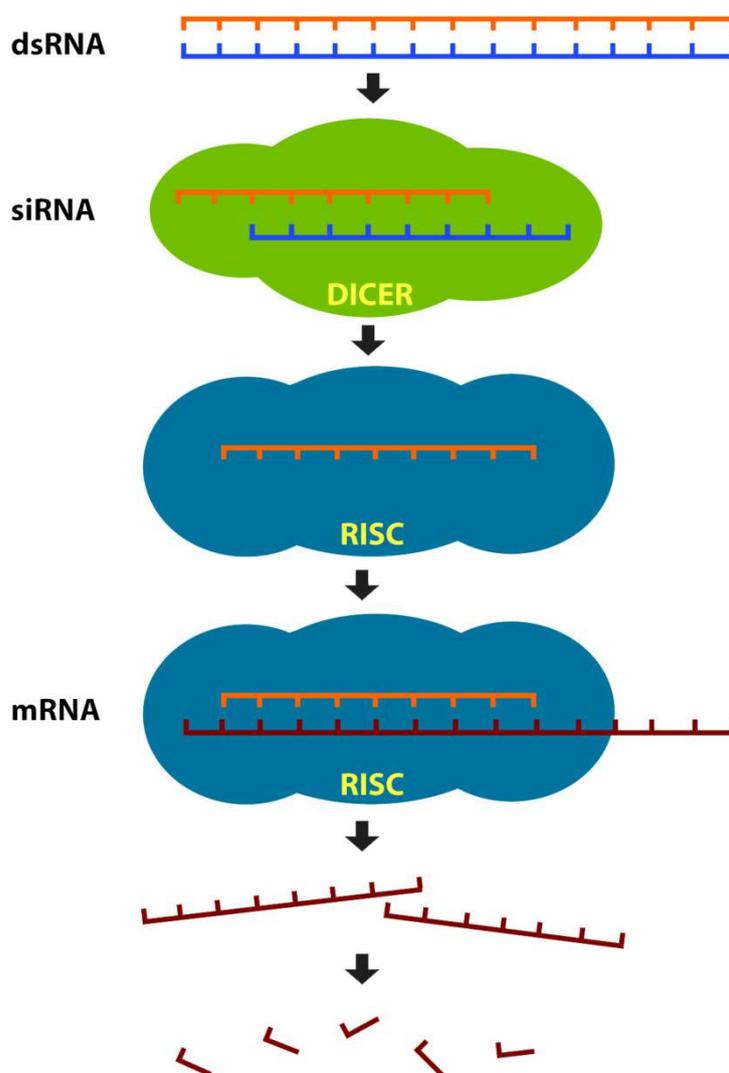


FIGURA VIII. 16. PROCESO DE FUNCIONAMIENTO DEL ARNsi. Consiste en la degradación de moléculas de ARNm a partir de moléculas de ARNsi (IIB, 2014).

7.1.2. Micro ARN

El miARN es una molécula monocatenaria conformada por 21 a 25 nucleótidos, los cuales se generan a partir de precursores específicos codificados en el genoma. Estructuralmente al transcribirse se pliegan en horquillas (*hairpins*).

Una vez que se transcribe el miARN en el núcleo, este sufre un proceso de maduración de pri-miARN a pre-miARN mediante el complejo proteico DROSHA (enzima ARNasa III de clase 2). Una vez que se forma la molécula pre-miARN, esta se dirige al complejo del citoplasma DICER en el cual se elimina la horquilla, se mantienen los extremos 3' desemparejados y se hibridiza la cadena. Posteriormente, una de las hebras del miARN se incorpora al complejo RISC, el cual direcciona la molécula al ARN mensajero específico para inhibir la síntesis proteica. A diferencia del ARNsi, el miARN se inicia con la eliminación de la cola poli A del ARN mensajero. Lo mencionado anteriormente se detalla en la siguiente figura (Fire et al., 1998).

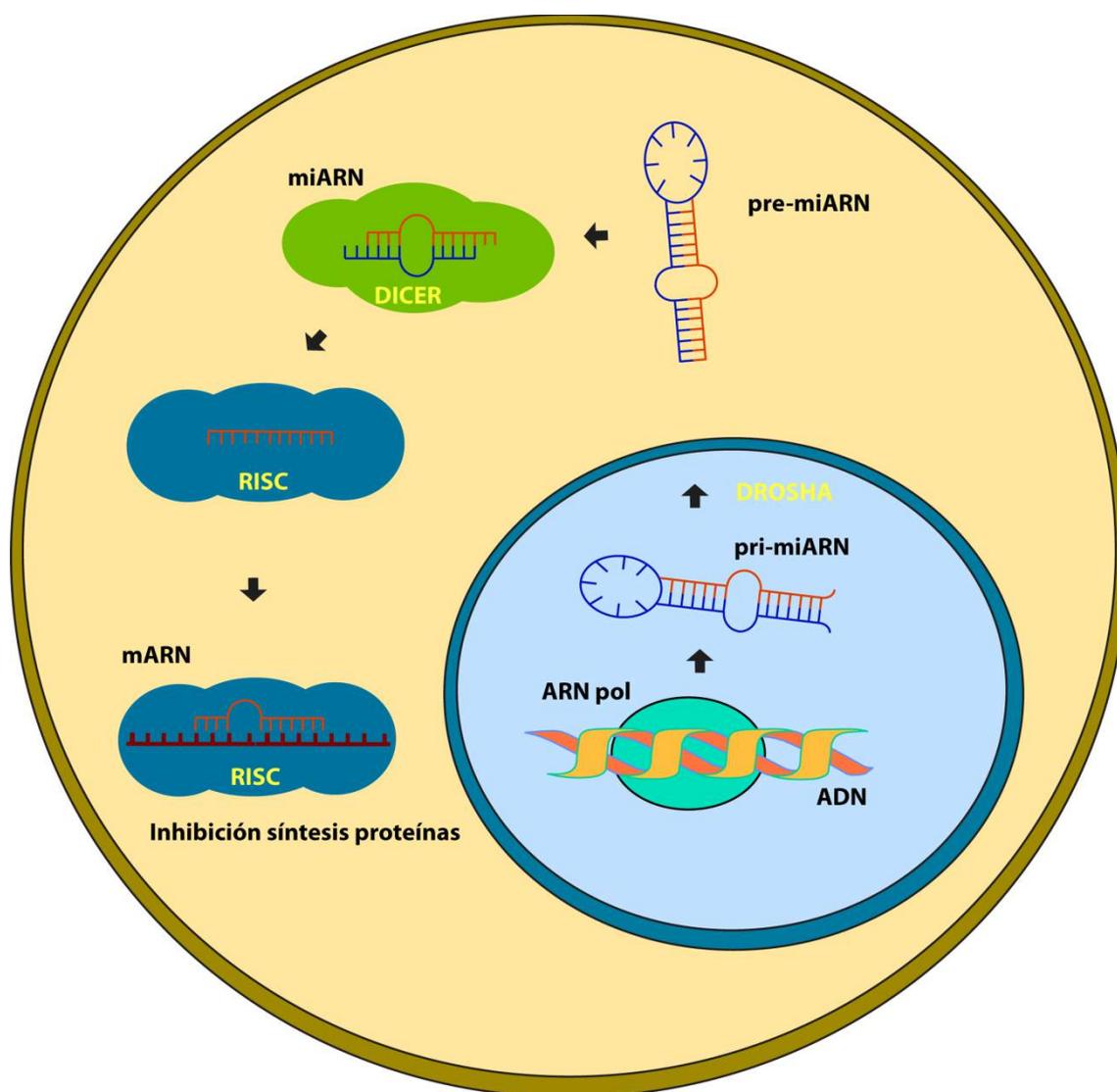


FIGURA VIII. 17. PROCESO DE FUNCIONAMIENTO DEL miARN. Consiste en la maduración del pri-miARN a pre-miARN y posterior inhibición de las moléculas de ARNm para controlar la cantidad de proteína en proceso de síntesis (IIB, 2014).

7.1.3. Piwi ARN

El ARN_{pi} es una clase de moléculas de ARN no codificante que se expresa en las células animales. El complejo ARN_{pi} interviene en el silenciamiento de retrotransposones y otros elementos genéticos en las células de la línea germinal, especialmente en la espermatogénesis. El avance en el mejor entendimiento de la estructura y función de los ARN_{pi} se debe gracias a la técnica de secuenciación de próxima generación (Klattenhoff & Theurkauf, 2008).

7.2. Importancia del descubrimiento de los ARNi

El descubrimiento de los ARNs de interferencia ha sido visto con una excepcional perspectiva futura por parte de la comunidad científica. Entre los aspectos más destacados con respecto a la aplicación de estas moléculas de ribointerferencia se pueden mencionar los siguientes:

7.3. Protección del ARNi contra infecciones virales

Las investigaciones de los científicos Fire y Mello, sobre la capacidad que tienen los ARNs de ser insertados en las células y de eliminar moléculas homólogas de ARN de cadena simple, sugirieron que los ARNi pueden constituir un mecanismo de defensa contra los ataques virales (Fire et al., 1998).

7.4. Silenciamiento de elementos móviles

Primero se propuso la idea de que, el ARNi en *Caenorhabditis elegans* y su molécula homóloga en plantas PTGS, tienen la capacidad de bloquear la acción de los transposones (elementos móviles en el genoma). Segundo, se pudo demostrar que los componentes de la maquinaria de ARNi en *C. elegans* mutaron, activando los transposones causando disturbios en la función del genoma (Ketting et al., 1999; Tabara et al., 1999). Se propuso que en las regiones contenedoras de transposones del genoma ambas cadenas del ADN se transcriben, los ARNs se forman y el proceso de ARNi se activa eliminando productos indeseables.

7.5. Síntesis proteica y regulación del desarrollo en organismos

Se descubrió que una molécula de ARN pequeño presentó el mismo tamaño en la lombriz, mosca, ratón y humano; a esta molécula se le denominó microARN (Lagos-Quintana et al., 2001; Lee & Ambros, 2001). Los precursores de los micro ARNs pequeños son moléculas largas en forma de horquillas (Murchison & Hannon, 2004; Zamore & Haley, 2005). Las moléculas de miARN pueden regular la expresión génica mediante complementariedad de bases con el ARNm, degradándolo o suprimiendo la traducción.

Actualmente se han encontrado más de 21200 miARNs y más del 30% de genes son regulados por estas endoribonucleasas. Se sabe que los miARNs juegan un papel importante en el desarrollo de las plantas, *C. elegans* y mamíferos. Por lo tanto, el control de la expresión génica dependiente de miARN representa un nuevo campo en la regulación génica (Fire et al., 1998).

7.6. ARNi mantiene la cromatina condensada y suprime la transcripción

Investigaciones en plantas han permitido conocer que el silenciamiento de genes puede tomar lugar a nivel transcripcional (TGS). Después del descubrimiento del ARNi, se observó que el TGS en plantas opera mediante el mecanismo del ARN de interferencia (Mette et al., 2000; Sijen et al., 2001). En la levadura *Schizosaccharomyces pombe* (Hall et al., 2002; Volpe et al., 2002), y después en la *Drosophila* y vertebrados, se encontró que procesos similares mantienen las regiones heterocromáticas condensadas y transcripcionalmente suprimidas. Además, la maquinaria de ARNi regula la actividad de los genes en las regiones aledañas de los bloques condensados de cromatina. Este fenómeno no se lo comprende totalmente a nivel molecular aunque las histonas, proteínas condensadores de proteínas (HP1) y la metilación del ADN juegan importantes roles (Sharp, 2006).

7.7. ARNi como herramienta para la terapia génica

La posibilidad de utilizar el ARN de interferencia como una herramienta para la regulación de genes en organismos transgénicos ha estimulado diversas investigaciones en la terapia médica (Dorsett & Tuschii, 2004; Hannon & Rose, 2004). Resultados alentadores han sido reportados en varios modelos animales (Soutschek, 2004; Morrissey, 2005; Palliser, 2006; Zimmermann, 2006), y el avance en la ciencia y la tecnología permitirá perfeccionar las técnicas de aplicación a pacientes con enfermedades genéticas que requieran del silenciamiento en la traducción de las proteínas que se sobreexpresan.

9

**INVESTIGACIONES
MOLECULARES
EN EL ECUADOR:
ENFERMEDADES
NEURODEGENERATIVAS**



ā [\ • { ^ ā æ [• ē ! *

CAPÍTULO IX

INVESTIGACIONES MOLECULARES EN EL ECUADOR: ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS

Las enfermedades neurodegenerativas empeoran algunas de las actividades corporales, incluyendo el equilibrio, el movimiento, el habla, la respiración y la función cardíaca. Muchas de estas enfermedades son genéticas, lo que significa que son hereditarias o que existe una mutación genética. Las enfermedades neurodegenerativas pueden ser serias o poner la vida en peligro. El estudio profundizado a nivel genético es muy importante para entender el desarrollo de las diferentes enfermedades y generar información para elaborar fármacos más específicos.

1. ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

La enfermedad de Alzheimer es la causa más común de demencia y representa un complejo problema de salud pública. Esta enfermedad es progresiva, neurodegenerativa, irreversible, poligénica y multifactorial, que se caracteriza por alteraciones y deterioro paulatino de la función cognitiva (Bird, 2008).

La *Alzheimer's Disease International (ADI)* calcula que 35 millones de personas en el mundo padecen de demencia, y cada año se reportan 4,6 millones de nuevos casos (Ferri et al., 2009; ADI, 2012). La frecuencia en Estados Unidos es alrededor del 8% a los 65 años y del 30% en individuos mayores a 90 años (Brookmeyer et al., 1998). En Latinoamérica la prevalencia de demencia varía del 2,6 al 6,5% en población mayor de 65 años (Selkoe 2001; Rodríguez et al., 2008). En el Ecuador, según el INEC, en el año 2007 hubo un total de 58016 defunciones, de las cuales 161 habitantes fallecieron de demencia y enfermedad de Alzheimer que corresponde al 0,27%. En el 2008 fallecieron 60023 personas de las cuales 177 presentaron demencia y Alzheimer, que corresponde al 0,29%. En el 2010 incrementó el total de fallecidos a 61,681, por lo tanto, existe un incremento tanto de la mortalidad general como de la mortalidad por demencia y Alzheimer (INEC, 2013).

Los cerebros afectados por esta enfermedad se caracterizan por presentar placas neuríticas y ovillos neurofibrilares localizados de forma difusa en la corteza cerebral e hipocampo; conjuntamente el depósito de amiloide suele encontrarse en arteriolas, vénulas y capilares de la corteza cerebral (Bales et al., 2002). Los cambios neuropatológicos y bioquímicos encontrados en esta enfermedad incluyen mayor producción de proteína amiloide; este proceso bloquea la sinapsis, altera la fisiología y provoca la muerte neuronal (García-Ruíz et al., 2006).

La proteína precursora amiloide es escindida normalmente por α secretasa, enzima que genera dos péptidos solubles, C83 y sAPP α , que se producen en respuesta a la actividad eléctrica y colinérgica. Pero, si APP es cortada por las proteasas BACE y Y secretasa, genera los péptidos C99 y β amiloide (Thomas & Fenech, 2007), estos depósitos insolubles junto con microglia, astrocitos, neuronas distróficas y proteoglicanos se denominan placas neuríticas, las cuales interrumpen la sinapsis nerviosa, alteran los canales iónicos, inducen respuesta inflamatoria y muerte neuronal

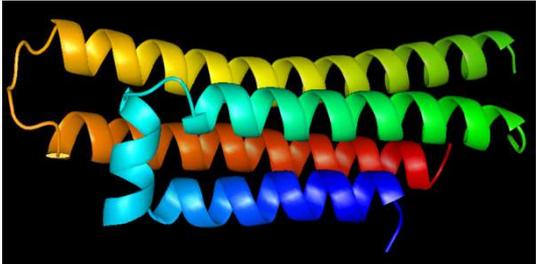
(Corder et al., 1993; Mattson, 2004; Reddy, 2006). La β amiloide puede causar estrés oxidativo mitocondrial, lo que altera la regulación del calcio (Paik et al., 1985), conduce a la disminución en la producción de ATP, altera el transporte de electrones y crea superóxido, este último es convertido en peróxido de hidrógeno que interactúa con óxido nitroso, hierro y cobre para generar peroxinitritos y radicales libres hidroxilo, que alteran tanto la homeostasis de la membrana celular como la membrana del retículo endoplasmático estimulando un alto flujo de calcio al interior de la célula, que junto con el daño de la membrana dejan a la neurona vulnerable (Huang et al., 2004).

En el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer varios genes interactúan con el ambiente modulando el riesgo de presentar la enfermedad (Corder et al., 1993), como son: APP, PS-1, PS-2 y Apo E (Hamanishi et al., 2004; Bird, 2010). Otros genes poco estudiados son: GPX-1, CTSD, CST3 y MnSOD.

1.1. Gen Apo E

El gen Apo E se ubica en el locus 19q13, está conformado por cuatro exones y presenta un polimorfismo común en su exón 3 caracterizado por 3 isoformas diferentes de la proteína: $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ y $\epsilon 4$, consistiendo en la sustitución de los aminoácidos cisteína y arginina en los codones 112 y 158 (Cisneros et al., 1997). Apo E codifica una glicoproteína (apolipoproteína E) de 36 KDa que se expresa en el hígado, cerebro, riñón, glándulas suprarrenales, ovarios y placenta (Cisneros et al., 1997; García-Ruíz et al., 2006; Power & Blumbergs 2009). Se libera al plasma, moviliza y redistribuye colesterol durante el crecimiento y regeneración neuronal (Sambrook et al., 1989; Casado et al., 2008; Power & Blumbergs, 2009), pero en altas concentraciones esta proteína resulta tóxica, fomentando la muerte neuronal (Casado et al., 2008).

Tabla IX.1. Características del gen Apo E

Características	Información	Estructura proteica
Símbolo oficial	Apo E	
Nombre	Apolipoproteína E	
Otros alias	-	
Cromosoma	19	
Localización	19q13,2	
# Acceso NCBI	NC_000019,9	
Gen ID	348	
Tamaño secuencia	3695 bases	
Tamaño proteína	317 aa; 36154 Da	
Localización subcelular	Secretado	

Apo E $\epsilon 4$ se une rápidamente al β amiloide y facilita la fibrilización para la formación de la placa neurítica, por lo que el número y tamaño de los depósitos amiloides son mayores en los portadores de este polimorfismo (García-Ruíz et al., 2006; Casado et al., 2008).

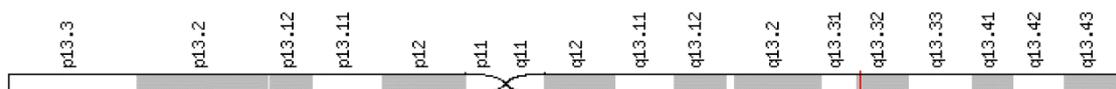


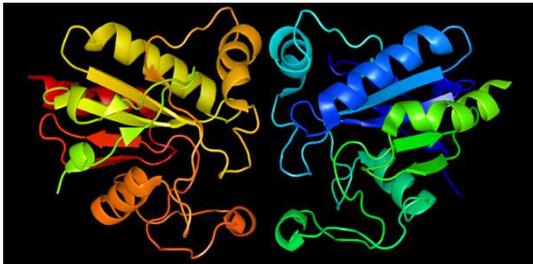
FIGURA IX.1. CROMOSOMA 19 HUMANO. Ubicación del gen APO E [GeneCards, 2014].

Apo E ε4 ha sido observado como gen de riesgo en varias poblaciones, por lo cual se considera el factor de mayor susceptibilidad para la enfermedad de Alzheimer. El riesgo de desarrollar esta enfermedad es del 30% en portadores del genotipo ε4ε4, el cual aumenta a los 70 años al 45% y 25%, en hombres y mujeres respectivamente (Sambrook et al., 1989).

1.2. Gen GPX-1

La familia glutatión peroxidasa (GPX) se encuentra conformada por seis isoenzimas (GPX-1, GPX-2, GPX-3, GPX-4, GPX-5, GPX-6). El gen GPX-1 se ubica en el locus 3p21,3 (Tabla IX.2) (Figura IX.2). El polimorfismo Pro198Leu implica el cambio de T por C, lo que da como resultado la sustitución de leucina por prolina, cuyo alelo recesivo leu/leu ha sido vinculado con la disminución del 40% de la actividad enzimática (Hamanishi et al., 2004).

Tabla IX.2. Características del gen GPX-1

Características	Información	Estructura proteica
Símbolo oficial	GPX-1	
Nombre	Glutatión peroxidasa	
Otros alias	GHSPX1	
Cromosoma	3	
Localización	3p21,3	
# Acceso NCBI	NC_000003,11	
Gen ID	2878	
Tamaño secuencia	1186 bases	
Tamaño proteína	201 aa; 21946 Da	
Localización subcelular	Citoplasma	

(Yang & Zhou, 2006)

El gen GPX-1 codifica una proteína tetramérica de 22 KDa denominada glutatión peroxidasa, que se expresa en los eritrocitos, hígado, riñón, cerebro (Cisneros et al., 1997; Power & Blumbergs 2009). Esta enzima es la reguladora final de la vía metabólica que degrada especies óxido reactivas y radicales peróxido, limitando su interacción con óxido nítrico, cobre o hierro, con lo cual se evita la formación de oxidantes celulares (Reddy 2006). La reacción química requiere de glutatión reducido; este sistema debe encontrarse intacto para la adecuada detoxificación de hidroxiperóxidos y por tanto cumplir la función de protector celular. Además, su actividad se encuentra fuertemente vinculada con señales de apoptosis y fosforilación de proteinquinasas (Lei et al., 2007).

Adicionalmente, se ha encontrado valores disminuidos de la enzima GPX-1 en pacientes con la enfermedad de Alzheimer, acompañados de niveles altos de malondialdehido, un indicador de estrés oxidativo (Casado et al., 2008).

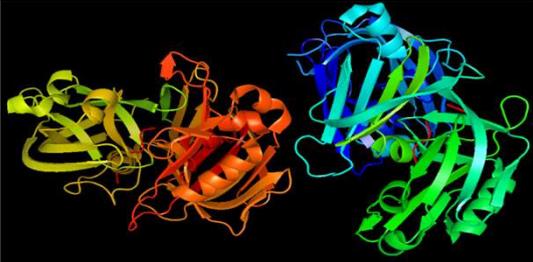


FIGURA IX.2. CROMOSOMA 3 HUMANO. Ubicación del gen GPX-1 [GeneCards, 2014].

1.3. Gen CTSD

El gen CTSD codifica a la enzima catepsina D (RCSB-PDB, 2013). Este gen se encuentra en el cromosoma 11, en la región 15,5 y el polimorfismo Ala224Val está en el exón 2 en la posición 224 (Tabla IX.3) (Figura IX.3).

Tabla IX.3. Características del gen CTSD

Características	Información	Estructura proteica
Símbolo oficial	CTSD	
Nombre	Catepsina D	
Otros alias	CPSD, CLN10	
Cromosoma	11	
Localización	11p15,5	
# Acceso NCBI	NC_000011,9	
Gen ID	1509	
Tamaño secuencia	11241 bases	
Tamaño proteína	412 aa; 44552 Da	
Localización subcelular	Lisosoma	

Esta variante genética resulta en el cambio de C por T, que consiste en una sustitución de un residuo de alanina por valina. Este polimorfismo causa un aumento de la secreción pro-CTSD y la maduración intracelular (Mariani et al., 2006). La expresión aberrante de este gen puede llevar a una neurodegeneración en modelos experimentales en animales como en humanos (Steinfeld et al., 2006). La catepsina D ha demostrado que presenta una función β -secretasa, por lo que podría romper la proteína precursora beta amiloide (A β) que genera las plaquetas seniles encontradas en la enfermedad de Alzheimer (Hamazaki, 1996; Chevallier et al., 1997).



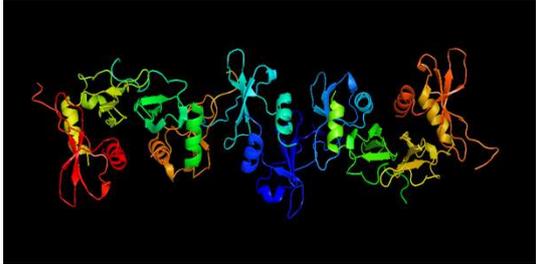
FIGURA IX.3. CROMOSOMA 11 HUMANO. Ubicación del gen CTSD (GeneCards, 2014).

1.4. Gen CST3

La cistatina es una familia de proteínas, conformada por tres grupos: cistatinas tipo 1, cistatinas tipo 2 y los quinínógenos. Las proteínas cistatinas de tipo 2 son una clase de inhibidores de la proteasa cisteína, encontrada en fluidos y secreciones donde parece tener función protectora. El gen CST3 se encuentra en el locus cistatina del cromosoma 20 y codifica la mayor parte de inhibidores extracelulares de las proteasas cisteínas (Tabla IX.4) (Figura IX.4). Una mutación en este gen ha sido relacionada con angiopatía amiloide. La expresión de esta proteína en las células vasculares del músculo liso de las paredes es muy reducida en lesiones ateroscleróticas y aneurisma aórtico, estableciendo su rol en la enfermedad vascular (NCBI, 2013). La aspartil proteasa lisosomal catepsina D está implicada en la patogénesis de varias enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer, Parkinson y Creutzfeldt-Jakob (NCBI, 2013). La catepsina D es una proteasa ácida intracelular que tiene relación con el desarrollo del Alzheimer, ya que genera fragmentos de beta-amiloide (A β) a partir de la división

de la proteína precursora amiloide APP y la degradación de la proteína TAU en varios fragmentos (Chevallier et al., 1997; RCSB-PDB, 2013).

Tabla IX.4. Características del gen CST3

Características	Información	Estructura proteica	
Símbolo oficial	CST3		
Nombre	Cistatina 3		
Otros alias	AEMD11		
Cromosoma	20		
Localización	20p11,21		
# Acceso NCBI	NC_000020		
Gen ID	1471		
Tamaño secuencia	10577 bases		
Tamaño proteína	146 aa; 15799 Da		
Localización subcelular	Secretado		
			[Janowski et al., 2001]

La variante Ile58Thr afecta la estabilidad de la interface de la proteína tetramérica y reduce la actividad biológica de MnSOD. En este polimorfismo se sustituye T por C, que produce un cambio de isoleucina por treonina, en el codón 58 del exón 6 (6q25) (Borgstahl et al., 1996). Ala9Val es una sustitución de T por C en el codón 9 del exón 2 (6q25), que da un cambio de valina por alanina. Esta sustitución induce cambios de conformación en la secuencia mitocondrial de orientación de la hoja plegada β a la hélice α , y por este cambio no se puede realizar bien el transporte a la mitocondria (Shimoda-Matsubayashi et al., 1996). Según Sutton, el transporte en la matriz mitocondrial baja y se asocia al decaimiento de la estabilidad del ARNm (Sutton et al., 2005).

Como la cistatina C es un inhibidor de la proteasa cisteína lisosomal, interviene en el envejecimiento neuronal o en la muerte celular de la enfermedad de Alzheimer. El polimorfismo que causa este proceso corresponde al gen CST3 localizado en la posición 73 del exón 1, resultando en un cambio de G por A, lo que lleva a una sustitución de alanina por treonina (Lin et al., 2003).

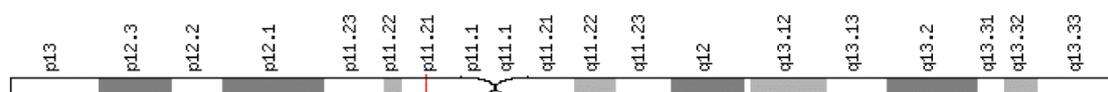
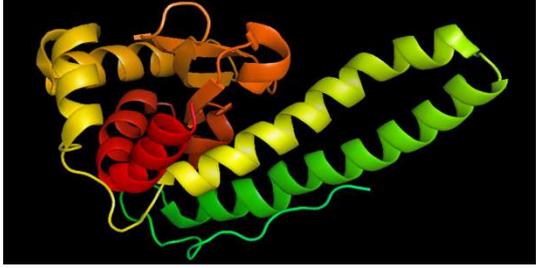


FIGURA IX.4. CROMOSOMA 20 HUMANO. Ubicación del gen CST3 [GeneCards, 2014].

1.5. Gen MnSOD

El gen MnSOD proviene de la familia hierro/manganeso superóxido dismutasa. Codifica una proteína mitocondrial que forma un homotetrámero y une un ion manganeso por cada subunidad. Esta proteína se une a los subproductos de superóxido de la fosforilación oxidativa y los convierte en peróxido de hidrógeno y oxígeno diatómico. Las mutaciones de este gen se han asociado con miocardiopatía idiopática, envejecimiento prematuro, enfermedades esporádicas de las neuronas motoras y cáncer (NCBI, 2013). Las características del gen MnSOD se detallan en la Tabla IX.5.

Tabla IX.5. Características del gen MnSOD

Características	Información	Estructura proteica
Símbolo oficial	MnSOD	
Nombre	Superóxido dismutasa Mn	
Otros alias	MVCD6	
Cromosoma	6	
Localización	6q25,3	
# Acceso NCBI	NC_000006,11	
Gen ID	6648	
Tamaño secuencia	83466 bases	
Tamaño proteína	222 aa; 24722 Da	
Localización subcelular	Matriz mitocondrial	

(Quint et al., 2006)

El gen MnSOD, ubicado en el cromosoma 6, codifica la única enzima antioxidante primaria que ha demostrado ser esencial para la sobrevivencia de organismos aeróbicos (Figura IX.5). Esta enzima convierte radicales superóxido a oxígeno molecular y H₂O₂, que puede ser luego neutralizado por la glutatión peroxidasa, peroxiredoxina reductasa y catalasa. Según evidencias mostradas anteriormente, MnSOD sugiere ser crítico para que las neuronas sobrevivan al daño oxidativo (Galecki et al., 2010). MnSOD codifica una enzima por el ADN nuclear pero su actividad biológica está localizada en la mitocondria donde luego es transportado después de un proceso de traslación (Church et al., 1992). Ya que SOD juega un papel importante entre las enzimas antioxidantes, protege al cerebro contra ROS y si es que existe un cambio en la actividad de esta enzima en la mitocondria, existirán disfunciones de los mecanismos que es responsable la misma (Visner et al., 1991).

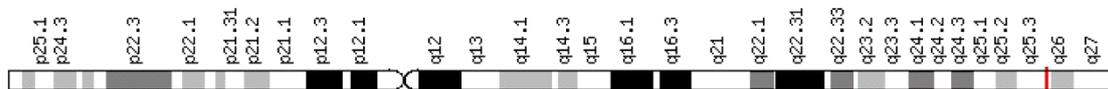


FIGURA IX.5. CROMOSOMA 6 HUMANO. Ubicación del gen MnSOD (GeneCards, 2014).

1.6. Resultados y discusión

Con respecto al estudio de los genes Apo E y GPX-1, se realizó el análisis a 78 individuos ecuatorianos; 39 de ellos presentaron Alzheimer y 39 personas sanas no presentaron antecedentes clínicos de demencia.

En la Tabla IX.6 se muestran las frecuencias genotípicas y alélicas de los genes Apo E y GPX-1. Con respecto a Apo E, el genotipo ε2ε3 se presentó en el 5,1% de los individuos sanos y el 2,6% de los individuos control; ε2ε4 solo se encontró en el 2,6% de los afectados. El genotipo ε3ε3 se presentó con mayor frecuencia en controles (79,5%) que en afectados (61,5%), seguido de ε3ε4 con 15,4% en controles y 25,6% en casos. La variable ε4ε4 se encontró en el 2,6% de sanos y 5,1% de afectados. En cuanto a las frecuencias alélicas del gen Apo E, el alelo ε3 fue el más común en afectados con el 76,9% y el 88,5% en controles. El alelo ε4 estuvo presente en el 17,94% de casos y 10,3% de controles; mientras que el alelo ε2 está en el 3,8% de pacientes y el 1,3% de controles. Con respecto al gen GPX-1, el 61,5% de los individuos control y 25,6% de

afectos presentaron el genotipo Pro/Pro; el 38,5% de casos y 25,6% de controles presentaron genotipo Pro/Leu; mientras que el 38,5% de afectos y el 12,8% de controles presentaron genotipo Leu/Leu. Las frecuencias alélicas correspondientes al gen GPX-1 mostraron que el 56,4% de afectos y 25,6% de sanos presentaron el alelo Leu; el 43,6% de casos y el 74,4% de controles presentaron el alelo Pro.

Tabla IX.6. Frecuencias genotípicas y alélicas de los genes Apo E y GPX-1

	Afectos (%)	Sanos (%)	χ^2	Valor de P	OR (95% IC)
Gen Apo E					
Frecuencias genotípicas					
$\epsilon 2\epsilon 3$	5,2	2,6		0,58	2,58 [0,2-76,8]
$\epsilon 2\epsilon 4$	2,6	0			
$\epsilon 3\epsilon 3$	61,5	79,5			Genotipo normal
$\epsilon 3\epsilon 4$	25,6	15,4	1,09	0,29	2,15 [0,6-7,9]
$\epsilon 4\epsilon 4$	5,1	2,6		0,58	2,58 [0,2-76,8]
Frecuencias alélicas					
$\epsilon 2$	3,8	1,3		0,34	3,45 [0,31-88,5]
$\epsilon 3$	76,9	88,5			Genotipo normal
$\epsilon 4$	17,9	10,3	1,57	0,21	2,01 [0,73-5,9]
Gen GPX-1					
Frecuencias genotípicas					
Leu/Leu	38,5	12,8	8,77	0,003	7,2 [1,8-31,1]
Pro/Leu	35,9	25,6	3,73	0,053	3,4 [0,9-11,7]
Pro/Pro	25,6	61,5			Genotipo normal
Frecuencias alélicas					
Leu	56,4	25,6	22,8	0,000	5,05 [2,5-10,3]
Pro	43,6	74,4	14,02	0,000	0,27 [0,1-0,6]

La enfermedad de Alzheimer es un problema de salud que con el aumento de la población de adultos mayores conllevará un incremento de la prevalencia en los siguientes años. En este proceso patológico intervienen múltiples eventos que incluyen anomalías en la fisiología del β amiloide, estrés oxidativo, inflamación y destrucción neuronal (Huang et al., 2004).

Apo E $\epsilon 4$ se considera el factor de riesgo genético más importante descrito hasta el momento, mientras que el alelo $\epsilon 2$ puede considerarse un factor protector (Rao, 2009).

El cerebro demanda alta cantidad de oxígeno y posee lípidos, lo que le convierte en un blanco de las especies oxígeno reactivas, las cuales interactúan con el ADN provocando mutaciones, por lo que una adecuada función de las enzimas detoxificadoras como GPX-1, es un punto clave para impedir la neurodegeneración y alteración en el ADN (Jiménez-Jiménez et al., 2006).

Ambos genes actúan directamente en el proceso de neurotoxicidad: Apo E actúa como agresor directo de la neurona cuando se presenta en altas concentraciones y modula el depósito amiloide también tóxico para la célula nerviosa, mientras que la errada actividad de GPX-1 deja vulnerable a la neurona y propensa a desencadenar la apoptosis (Farrer et al., 1997).

En el presente estudio, en el que se investigó genotipos asociados a la enfermedad de Alzheimer en Ecuador, el genotipo $\epsilon 3\epsilon 3$ fue el más frecuente tanto en pacientes como en controles, asemejándose a la distribución normal (Gamboa et al., 2000), mientras que el genotipo $\epsilon 2\epsilon 2$ no se presenta en ningún individuo, como ocurre en poblaciones indígenas y mestizas americanas en las que se ha reportado la ausencia de este genotipo (Jacquier et al., 2001). La distribución del alelo $\epsilon 3$ es similar a las reportadas en la población caucásica e hispana (Almeida, 1997; Helisalimi, 1998), con frecuencias alélicas entre 71% a 78% en pacientes y 85% en controles.

Las frecuencias del alelo $\epsilon 4$ son las más bajas en Latinoamérica y en poblaciones caucásicas, donde la frecuencia del alelo es 44% para el grupo de casos y 17% para el grupo de controles (Nunomura et al., 1996), inclusive el estudio de población española indica frecuencias del 19 al 42% y 10% para casos y controles, respectivamente (Ichimura et al., 2004). Este mismo alelo presenta frecuencias altas en poblaciones negras afectas (33-51%), versus el 17% en población sana; mientras en la población asiática se reporta, en afectos y sanos, frecuencias alélicas de 29-40% y 10%, respectivamente (Bucfill et al., 2009). Estos hallazgos pueden ser atribuibles a la contribución amerindia de la población ecuatoriana. Al analizar el alelo Apo E $\epsilon 4$ se pone de manifiesto la diferencia entre el grupo de pacientes y controles, pese a no presentar diferencia significativa, probablemente por la muestra pequeña de estudio. El riesgo de desarrollar Alzheimer es 2,58 veces mayor en presencia del genotipo $\epsilon 4\epsilon 4$, 2,01 veces mayor en presencia del $\epsilon 4$ y 2,29 mayor en presencia de $\epsilon 4$. Los hallazgos encontrados son similares a otras poblaciones analizadas como caucásicas, hispanas, africanas y españolas (Paz-y-Miño et al., 1998).

Con respecto a los genotipos encontrados del gen GPX-1, se encontró diferencia significativa a nivel estadístico y un fuerte vínculo entre la presencia del alelo Leu como factor de riesgo para desarrollar Alzheimer. El genotipo Leu/Leu provee 7,2 y Pro/Leu 5 veces más riesgo en el desarrollo de esta enfermedad. El alelo Pro presentó un OR significativo de 0,27, siendo este un factor protector de la enfermedad.

Cada genotipo modula el funcionamiento, metabolismo y acción de la enzima glutatión peroxidasa, así el genotipo Leu/Leu ha demostrado disminuir en un 70% la actividad enzimática (Cisneros et al., 1997), y limita la capacidad detoxificadora, lo que favorece la muerte neuronal temprana y podría intervenir en el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer.

Para mayor información, el estudio denominado *Genetic Polymorphisms in Apolipoprotein E and Glutathione Peroxidase 1 Genes in the Ecuadorian Population Affected with Alzheimer's Disease*, se publicó en 2010, en la revista científica *The American Journal of the Medical Sciences* (Paz-y-Miño et al., 2010b).

Con respecto a otro estudio genético realizado en la enfermedad de Alzheimer, se analizaron los genes CST3, CTSD y MnSOD en 111 individuos ecuatorianos. De ellos, 56 presentaron la enfermedad y 55 no presentaron antecedentes clínicos de demencia.

En la Tabla IX.7 se detallan las frecuencias genotípicas y alélicas de los genes MnSOD, CST3 y CTSD. Con respecto al gen MnSOD, el genotipo C/C presentó una frecuencia genotípica de 0,34 y alélica de 0,55 en afectos y una frecuencia genotípica de

0,38 y alélica de 0,62 en sanos. Referente al gen CST3, el genotipo A/A presentó una frecuencia genotípica de 0,14 en afectados y 0,07 en controles. Por último, el genotipo T/T del gen CTSD presentó una frecuencia genotípica de 0,07 en enfermos y 0,02 en individuos sanos de la población ecuatoriana.

Tabla IX.7. Frecuencias genotípicas y alélicas de los genes MnSOD, CST3 y CTSD

	Afectos (%)	Sanos (%)	Valor de P	OR (95% IC)
Gen MnSOD				
Frecuencias genotípicas				
T/T	23	15		Referencia
T/C	43	47	0,42	0,6 [0,2-1,6]
C/C	34	38	0,42	0,6 [0,2-1,6]
T/C + C/C	-	-	0,36	0,6 [0,2-1,5]
Frecuencias alélicas				
T	45	38	-	-
C	55	62	-	-
Gen CST3				
Frecuencias genotípicas				
G/G	75	87		Referencia
G/A	11	05	0,43	2,3 [0,5-9,7]
A/A	14	07	0,32	2,3 [0,6-8,1]
G/A + A/A	-	-	0,16	2,3 [0,8-6,2]
Frecuencias alélicas				
G	80	90	-	-
A	20	10	-	-
Gen CTSD				
Frecuencias genotípicas				
C/C	36	82		Referencia
C/T	57	16	0,0001	8 [3,2-19,8]
T/T	07	02	0,08	9 [0,9-85,7]
C/T + T/T	-	-	0,0001	8,1 [3,4-19,5]
Frecuencias alélicas				
C	64	90	-	-
T	36	10	-	-

La superóxido dismutasa es una importante enzima antioxidante que interviene en la desintoxicación de los radicales superóxidos. El daño de los radicales de oxígeno libre puede afectar a neuronas a través de la vía de peroxidación lipídica del ADN mitocondrial, la cadena respiratoria y la proteína de reticulación de los neurofilamentos. De igual forma, se ha encontrado la presencia del polimorfismo Ala9Val en desórdenes neurodegenerativos; así como del polimorfismo Ile58Thr, debido a que desestabiliza la interface tetramérica de MnSOD y reduce su actividad enzimática, además de posibles relaciones con enfermedades neurodegenerativas (Chistyakov et al., 2001). Estudios realizados en la enfermedad de Parkinson y en desórdenes depresivos, demuestran posible asociación con la variante Ala9Val y ninguna asociación con la variante Ile58Thr (Galecki et al., 2010; Wang et al., 2010). En nuestro estudio no se observó relación estadísticamente significativa entre las variantes Ile58Thr y Ala9Val, y la enfermedad de Alzheimer.

Varios estudios realizados en Italia (Nacmias et al., 2006), Japón (Maruyama et al., 2003), Alemania (Dodel et al., 2002), y Holanda (Roks et al., 2001) no han

encontrado asociación significativa entre la variante Ala73Val, del gen CST3, y esta enfermedad. En nuestro estudio se observó una mayor frecuencia del genotipo normal GG, por ende, también se concluye que en la población ecuatoriana el gen CST3 no influye con esta enfermedad.

En pacientes fallecidos por la enfermedad de Alzheimer se ha visto que poseen una gran acumulación de placas seniles, conformadas por la proteína β -amiloide. El gen CTSD sintetiza a la proteína catepsina D, la cual interviene en la síntesis, depósito y eliminación de β -amiloide. Esta proteína se ha visto implicada en el proceso de degradación de la proteína precursora amiloide APP y la proteína TAU. Por esta razón, la presencia de polimorfismos en el gen CTSD puede intervenir en la acumulación de la proteína TAU y de los ovillos neurofibrilares, generando así la enfermedad de Alzheimer (Mariani et al., 2006). En una publicación realizada en demencia vascular, se determinó que el gen CTSD de la población coreana no tenía relación con esta enfermedad (Jeong et al., 2011).

Para mayor información, la investigación denominada *Estudio de variantes genéticas de genes asociados a la enfermedad de Alzheimer en población ecuatoriana* se publicó en la *Revista Ecuatoriana Médica Eugenio Espejo* el año 2012 (Rodríguez et al., 2012).

2. ENFERMEDAD DE HUNTINGTON

Un ejemplo de herencia autosómica dominante es la enfermedad de Huntington, también denominada corea de Huntington (CH), que ayuda a entender algunos detalles expuestos. La CH fue descrita por primera vez en 1872 por el médico estadounidense George Huntington (Huntington et al., 1993). Se trata de una enfermedad de herencia autosómica dominante con penetrancia completa, que afecta a 1/10000 individuos. Produce degeneración progresiva del sistema nervioso central (SNC), cuyas manifestaciones clínicas inician generalmente en edad adulta (40 a 50 años), aunque pueden identificarse casos en más jóvenes (Gudesblatt et al., 2011).

Su gen, HTT, fue descrito a inicios de la década de los noventa; se encuentra en el brazo corto del cromosoma 4 (4p16,3). Es responsable de la codificación de una proteína intraneuronal de 340 KDa, la huntingtina, la cual participa en la recaptación de neurotransmisores postsinápticos manteniendo la integridad y fisiología neuronal (Mattson, 2002).

El defecto genético que produce la enfermedad es una repetición en tándem de tripletes CAG en el exón 1 del gen HTT. Las repeticiones normales de estas islas CAG en individuos sanos están entre 6 y 29, mientras que en enfermos, entre 39 en adelante. Individuos con 30 a 38 repeticiones podrían presentar fenotipos truncados pero con alta probabilidad de que su progeñe gane repeticiones aumentando la posibilidad de presentar la enfermedad (Nopoulos et al., 2011). Se ha visto que la edad de aparición de la enfermedad está relacionada al número de repeticiones de tripletes; así, mientras mayores repeticiones menor edad de aparición, llegando a darse casos infantiles cuando existen más de 50 repeticiones (Tabla IX.8) (Ersoy, 2007).

Tabla IX.8. Rangos de repeticiones CAG en el gen HTT

Número de CAG	Fenotipo	Penetrancia
6-28	Normal. El paciente no desarrolla CH.	0%
29-35	Normal. El paciente no desarrolla CH. Su siguiente generación está en riesgo.	≤ 25%
36-39	El paciente puede presentar CH. Su progenie está en riesgo.	25-90%
40 y más	Paciente con CH. Siguietes generaciones con 50% de probabilidad de herencia	100%
40-50	Corea en adultos.	
≥ 50	Corea juvenil [Westphal 10%] → Manifestación más rápida y agresiva.	

Las características clínicas de la enfermedad inician con deterioro intelectual, demencia progresiva, alteraciones psiquiátricas como paranoia, psicosis y alucinaciones y posteriormente se manifiestan los desórdenes motores, movimientos involuntarios o coreicos. Los pacientes terminan perdiendo el juicio y la memoria a corto y largo plazo; el fallecimiento se produce al cabo de 10 a 20 años después del inicio de los síntomas (Gudesblatt et al., 2011).

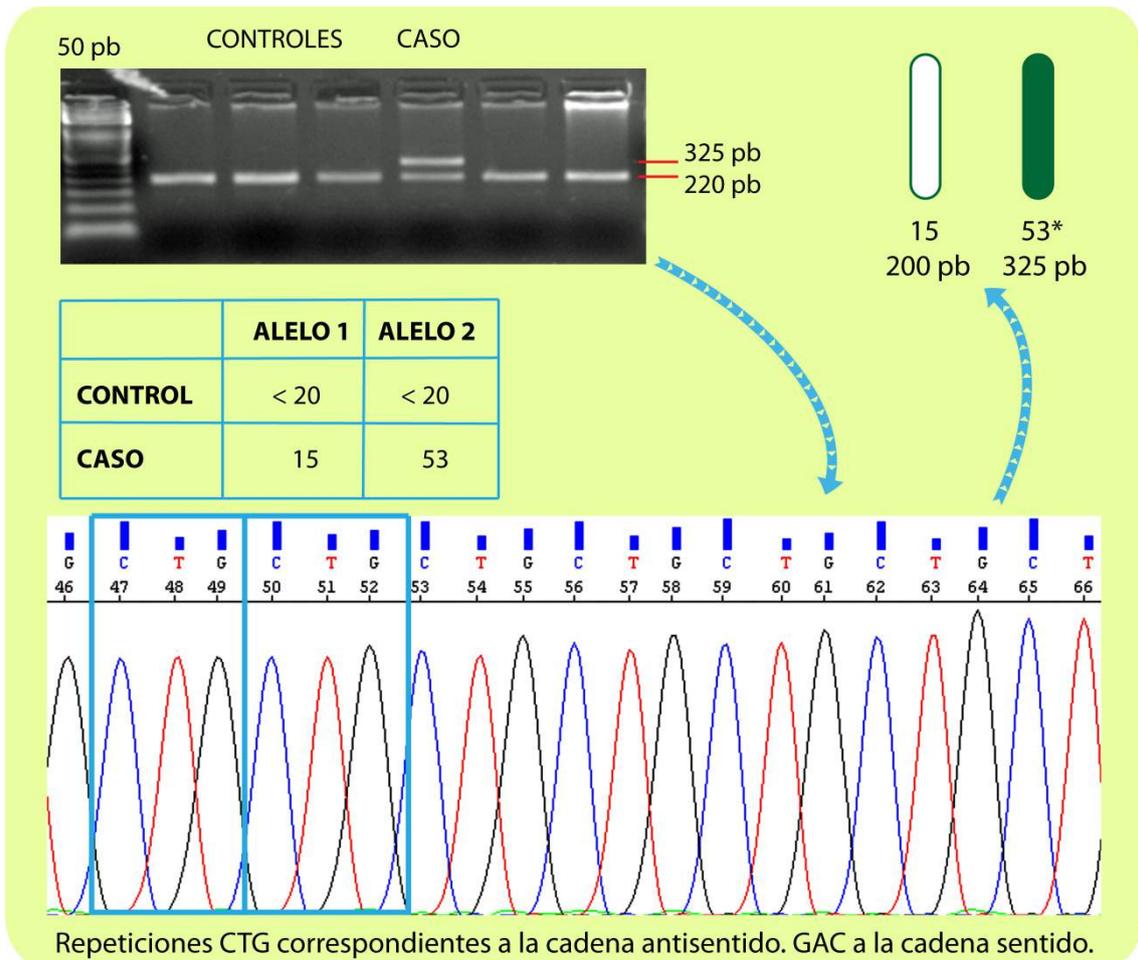


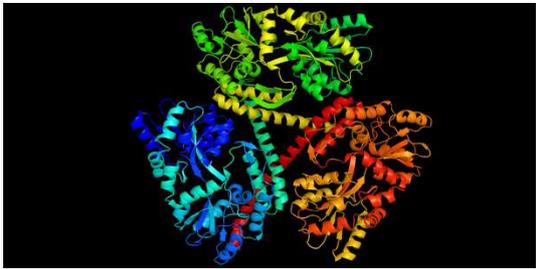
FIGURA IX.6. DIAGNÓSTICO GENÉTICO MEDIANTE PCR Y SECUENCIACIÓN DEL GEN HTT. La correcta amplificación y análisis de secuencias del gen HTT permiten determinar el número de repeticiones del triplete CTG en el genoma (IIB, 2014).

El daño neurológico se produce por muerte de las células nerviosas, especialmente en el núcleo caudado y el putamen. Los síntomas suelen aparecer luego de la edad reproductiva, por eso el gen tiene mucha posibilidad de extenderse. Muchos casos aparecen más temprano que los de los padres que transmitieron la enfermedad (fenómeno de anticipación), y presentan el fenómeno de impresión génica con tendencia de apareamiento más temprano cuando el padre es quien transmite el alelo alterado. Se ha observado también que este gen, al ser inestable en los gametos, provocaría amplificaciones que podrían explicar la anticipación (inestabilidad del gen). El diagnóstico de la enfermedad generalmente se lo hace a partir de sus características clínicas y casi siempre cuando la enfermedad está en etapas avanzadas (O’Keeffe et al., 2009). En la mayoría de los casos la confirmación diagnóstica se realiza por PCR y electroforesis, donde se determina la amplificación de un alelo frente al normal. La secuenciación genética es una herramienta útil en la cual se puede contar con mucho más eficacia el número de repeticiones.

2.1. Gen HTT

El gen HTT, ubicado en el brazo corto del cromosoma 4 (4p16,3) desde la posición 3076408 a 3245687, está formado por 67 exones los cuales codifican la proteína Huntingtina de 340 KDa y cuya disfunción causa la enfermedad de Huntington (Figura IX.7) (Tabla IX.9) (The Huntington's Disease Collaborative Research Group, 1993; RCSB-PDB, 2013).

Tabla IX.9. Características del gen HTT

Características	Información	Estructura proteica
Símbolo oficial	HTT	
Nombre	Huntingtina	
Otros alias	IT15, HD	
Cromosoma	4	
Localización	4p16,3	
# Acceso NCBI	NC_000004.11	
Gen ID	3064	
Tamaño secuencia	169280 pb	
Tamaño proteína	3142 aa; 347603 Da	
Localización subcelular	Citoplasma, núcleo	

(Kim, 2013)

Hacia el extremo 5’ del gen, en el exón 1, existe una región formada por el triplete CAG, el cual, en estado normal, se encuentra repetido varias veces para producir una cadena de poliglutamato en la proteína funcional.



FIGURA IX.7. CROMOSOMA 4 HUMANO. Ubicación del gen HTT (GeneCards, 2014).

Los pacientes con CH poseen una ampliación anómala de triplete donde las repeticiones alteradas producen una proteína disfuncional que contiene una secuencia

expandida de glutamatos, los cuales se pliegan sobre sí mismos provocando aglomerados ubiquitinados de proteína que se acumulan tanto en el núcleo como en el citoplasma neuronal (Figura IX.8) (Sawa, 2001).

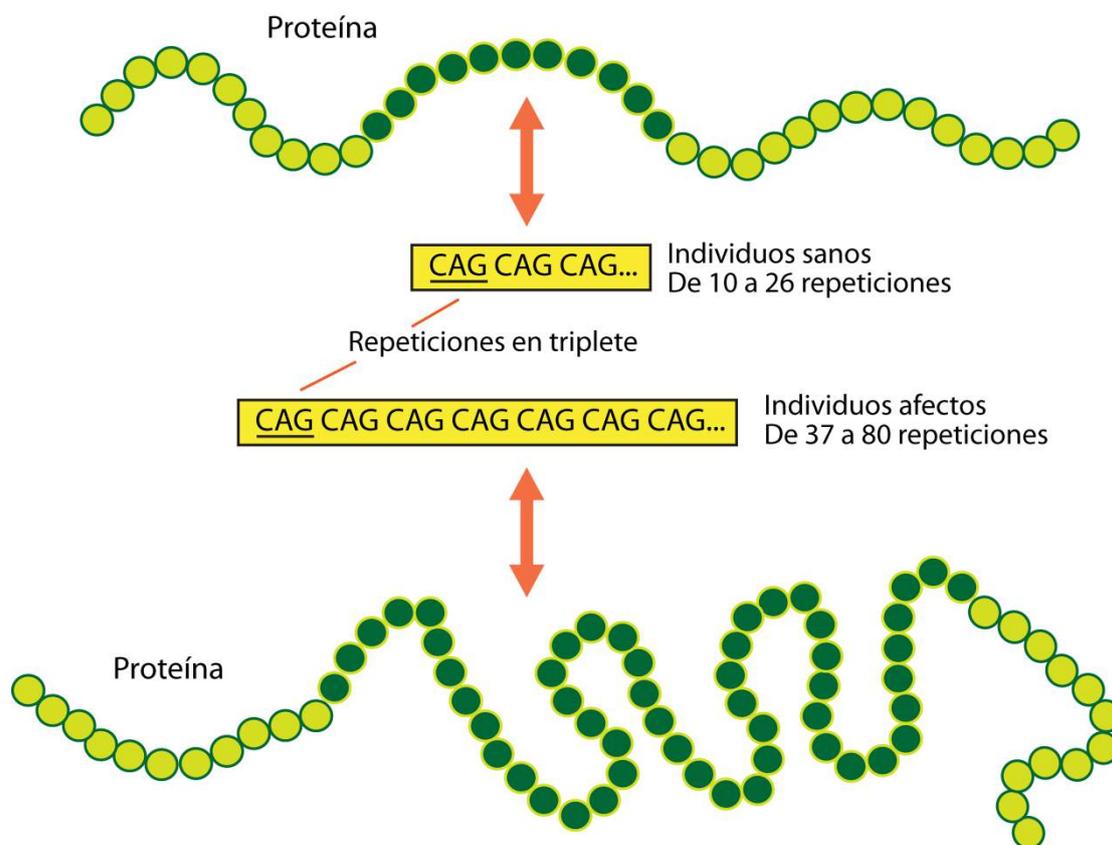


FIGURA IX.8. CADENA DE POLIGLUTAMATO EN LA PROTEÍNA HUNTINGTINA. Número de aminoácidos glutamato entre individuos sanos y afectados con la enfermedad de Huntington [Modificado de Sawa, 2001; IIB, 2014].

La huntingtina normal estimula la expresión del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), el cual es un integrante del grupo de las neurotrofinas asociadas al factor de crecimiento neuronal, cuya función es la manutención de la integridad nerviosa (Zuccato et al., 2001). Además, se conoce más de 100 proteínas con las cuales la huntingtina interactúa, las proteínas HIP (*Huntingting interaction proteins*), las proteínas HAP (*Huntingting associated proteins*), entre otras. Algunas de estas proteínas son factores de transcripción, otras son moléculas de señalización con posible capacidad de integración para apertura de los canales de recaptación de neurotransmisores a nivel neuronal (Mattson, 2002).

El mecanismo mediante el cual la huntingtina promueve la neurodegeneración no está claro. Se cree que al encontrarse expandida, la huntingtina pierde la capacidad de acoplamiento normal a sus proteínas y parece activar la vía de la apoptosis por medio de la caspasa-8, una proteína de la familia de las proteasas encargadas en llevar a cabo la muerte celular programada (Gervais et al., 2002).

También se ha postulado otra forma en la cual la huntingtina promueve la apoptosis, el estrés oxidativo. La disminución del paso normal de protones en la

mitocondria estimula la vía de las caspasas (Browne & Beal, 2006). Al verse disminuida la actividad de los complejos mitocondriales, habrá un menor paso de protones a la matriz y por ende una acumulación de radicales de oxígeno. Este hecho oxidará las proteínas y lípidos de membrana disminuyendo la permeabilidad membranal y provocando un desequilibrio electrolítico, gliosis por acumulación de interleuquinas, daño en el ADN y estrés oxidativo, el cual activará la vía de las caspasas (Figura IX.9) (Pérez & Arancibia, 2007), sin embargo, las hipótesis no han sido esclarecidas completamente.

ESPACIO INTERMEMBRANAL

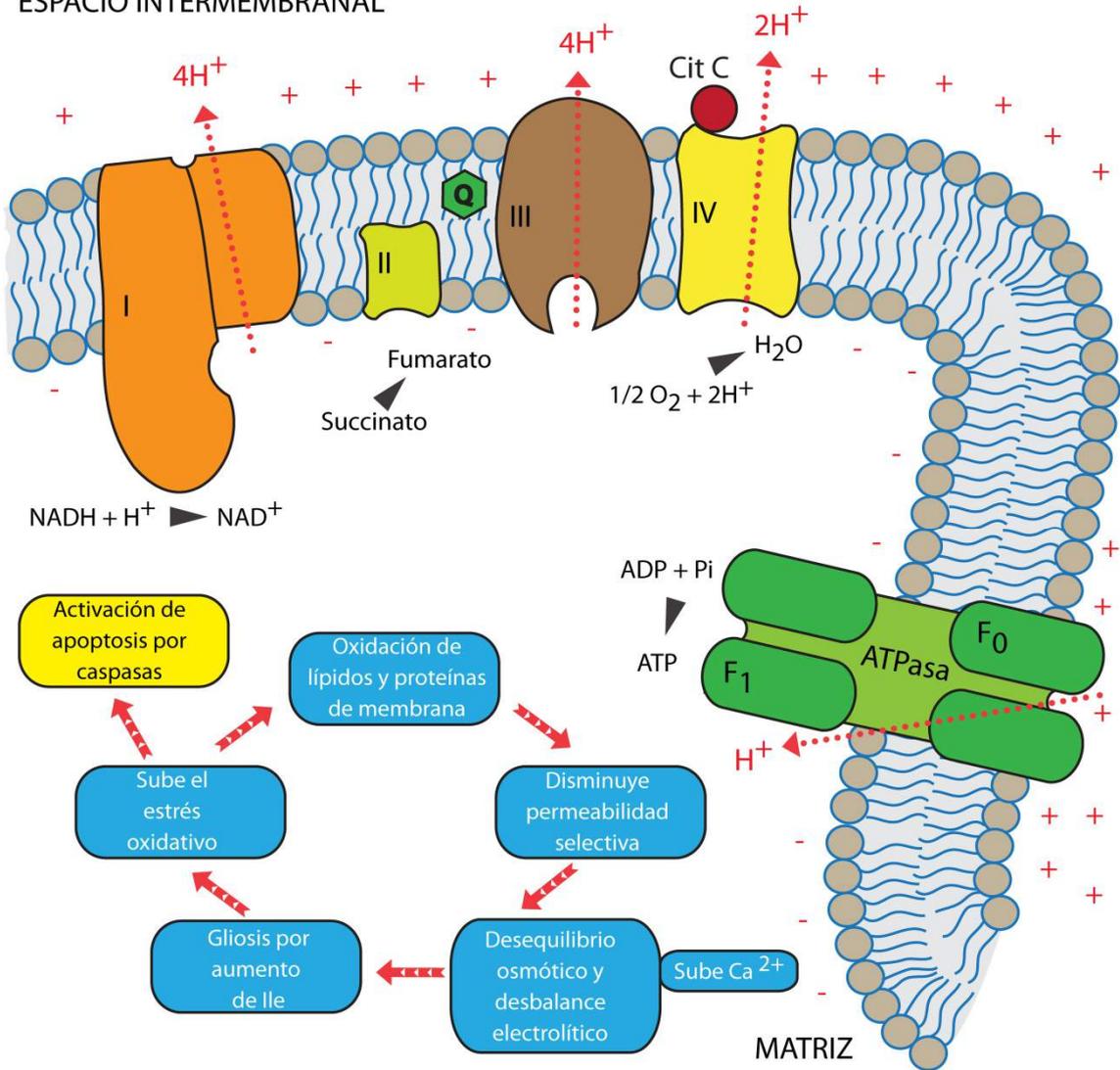


FIGURA IX.9. EFECTO DEL ESTRÉS OXIDATIVO EN LA ENFERMEDAD DE HUNTINGTON. La oxidación de lípidos y proteínas disminuye la actividad selectiva generando un equilibrio osmótico y desbalance electrónico, el cual desencadena en la activación del estrés oxidativo y activación de la apoptosis (IIB, 2014).

2.2. Tratamiento

No existe tratamiento curativo para la CH, en general se tratan los síntomas mas no la enfermedad. Se han utilizado antipsicóticos bloqueadores dopaminérgicos, como

el Haloperidol; ansiolíticos inhibidores de la recaptación de serotonina como la Fluoxetina; benzodiazepinas bloqueadores GABA como el Clonazepan. Sin embargo, ninguno ha demostrado tener resultados reversibles para el efecto neurodegenerativo, solamente la Fluoxetina, al parecer, estimula el transporte de iones en la mitocondria y posiblemente tenga un efecto neuroprotector (Mostert et al., 2013).

Muchas moléculas han sido probadas con el fin de detener la apoptosis y degeneración neuronal, sin embargo los resultados no han sido concluyentes. Se ha observado un leve bloqueo en el proceso neurodegenerativo al utilizar coenzima Q más Remacemida, al igual que ácido etileicosa pentanoico (AEP), pero solo la Tetrabenazine disminuye considerablemente la corea y es la única droga aprobada por la FDA para el tratamiento de la enfermedad (Tabla IX.10) (Mestre et al., 2009).

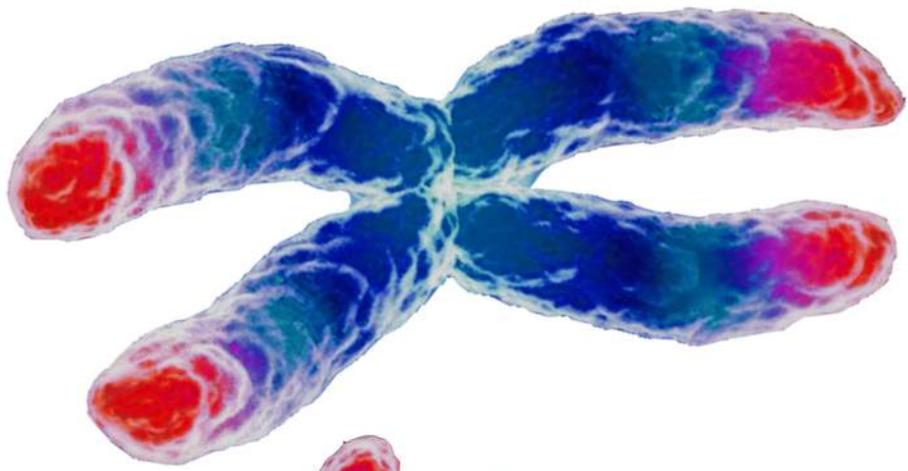
Tabla IX.10. Medicamentos probados para la enfermedad de Huntington

Droga	Dosis	Casos	Resultados	Referencia
Baclofen	60 mg/día	60	No significativo	Shoulson et al., 1989
Vitamina E	3000 UI/día	81	No significativo	Peyser et al., 1995
Lamotrigina	400 mg/día	64	No significativo	Kremer et al., 1999
Creatina	5 g/día	42	No significativo	Verbessem et al., 2003
Coenzima Q + Remacemida	300-600 mg/día + 400-600 mg/día	347	Baja velocidad de degradación	The Huntington Study Group, 2001
Ácido etileicosa pantoténico	2 g/día	135	Baja velocidad de degradación α número de CAG	Puri et al., 2005
Riluzone	100 mg/día	537	No significativo	
Tetrabenazina	100 mg/día	84	Baja corea en un 50% por hasta 8 horas	The Huntington Study Group, 2006

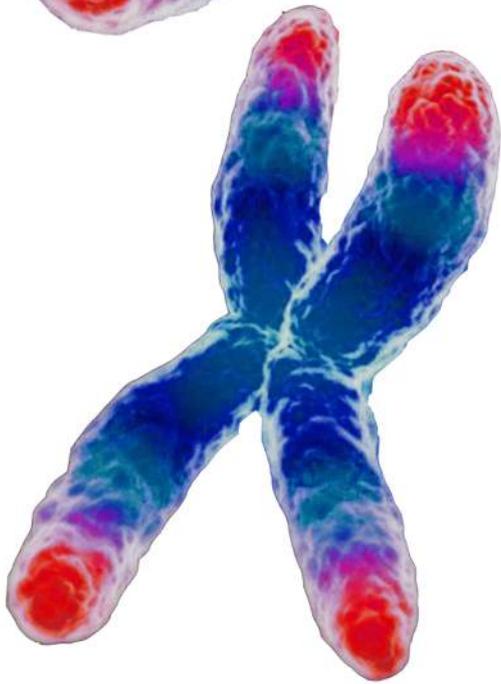
(Mestre et al., 2009)

La terapia genética podría ser una alternativa para el tratamiento de personas con enfermedad de Huntington (Zhang & Friedlander, 2011). En los últimos años se ha desarrollado fármacos denominados *Zn finger*, los cuales tienen la capacidad de incrustarse en la doble cadena del ADN relacionada al gen HTT. Al complementarse la molécula de *Zn finger* con los tripletes CAG, se evita la transcripción del ARNm y, por ende, la sobreexpresión de la proteína huntingtina. Por otro lado, se ha observado que el litio es capaz de proteger las neuronas de la muerte celular y, posiblemente, de estimular su regeneración.

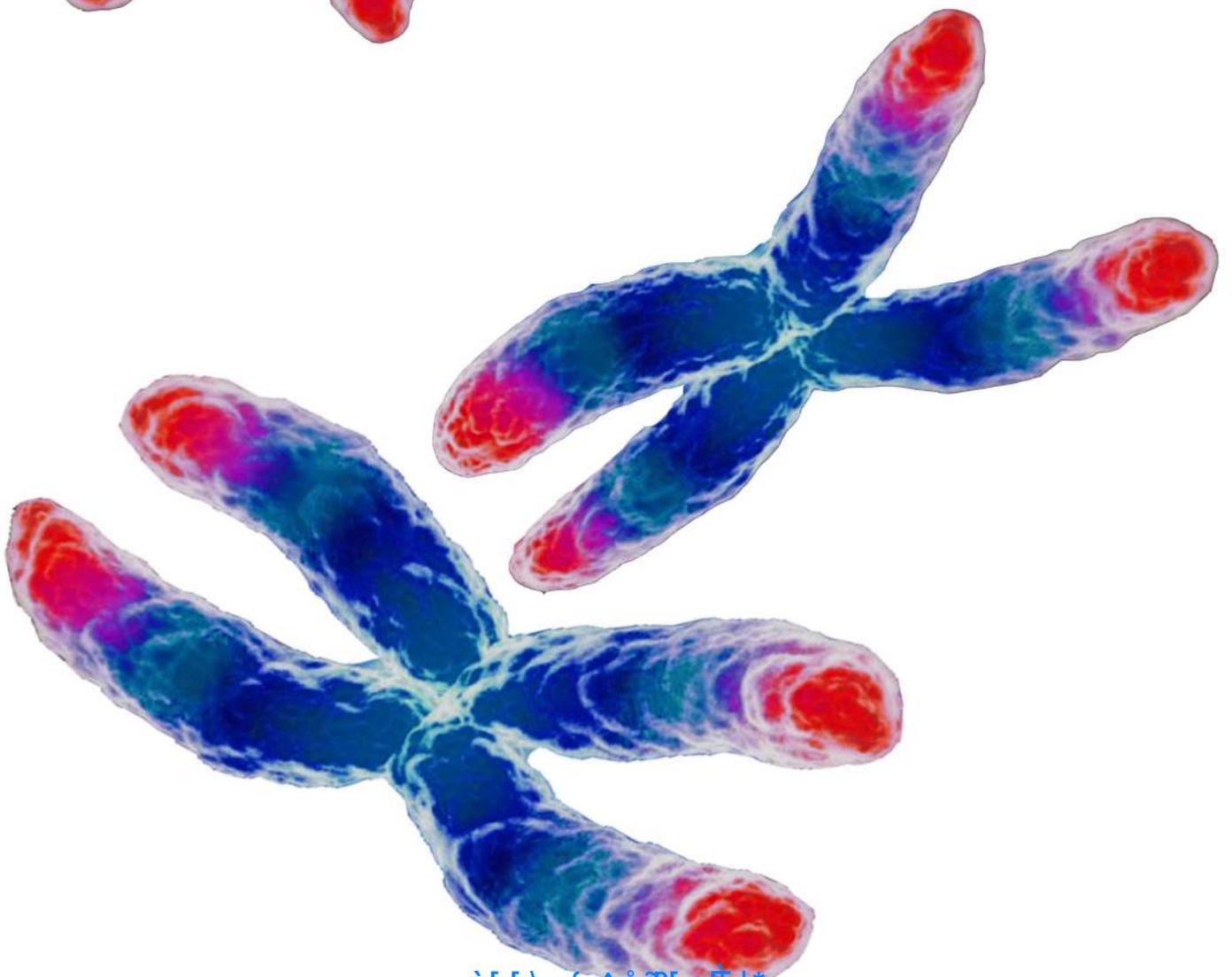
Con todo lo mencionado anteriormente, es importante el consejo genético y el diagnóstico de posibles portadores de la amplificación de tripletes (familiares). Se tiene opción de diagnóstico prenatal a través de pruebas de ADN. Los conflictos éticos del diagnóstico se los debe considerar al momento del asesoramiento genético.

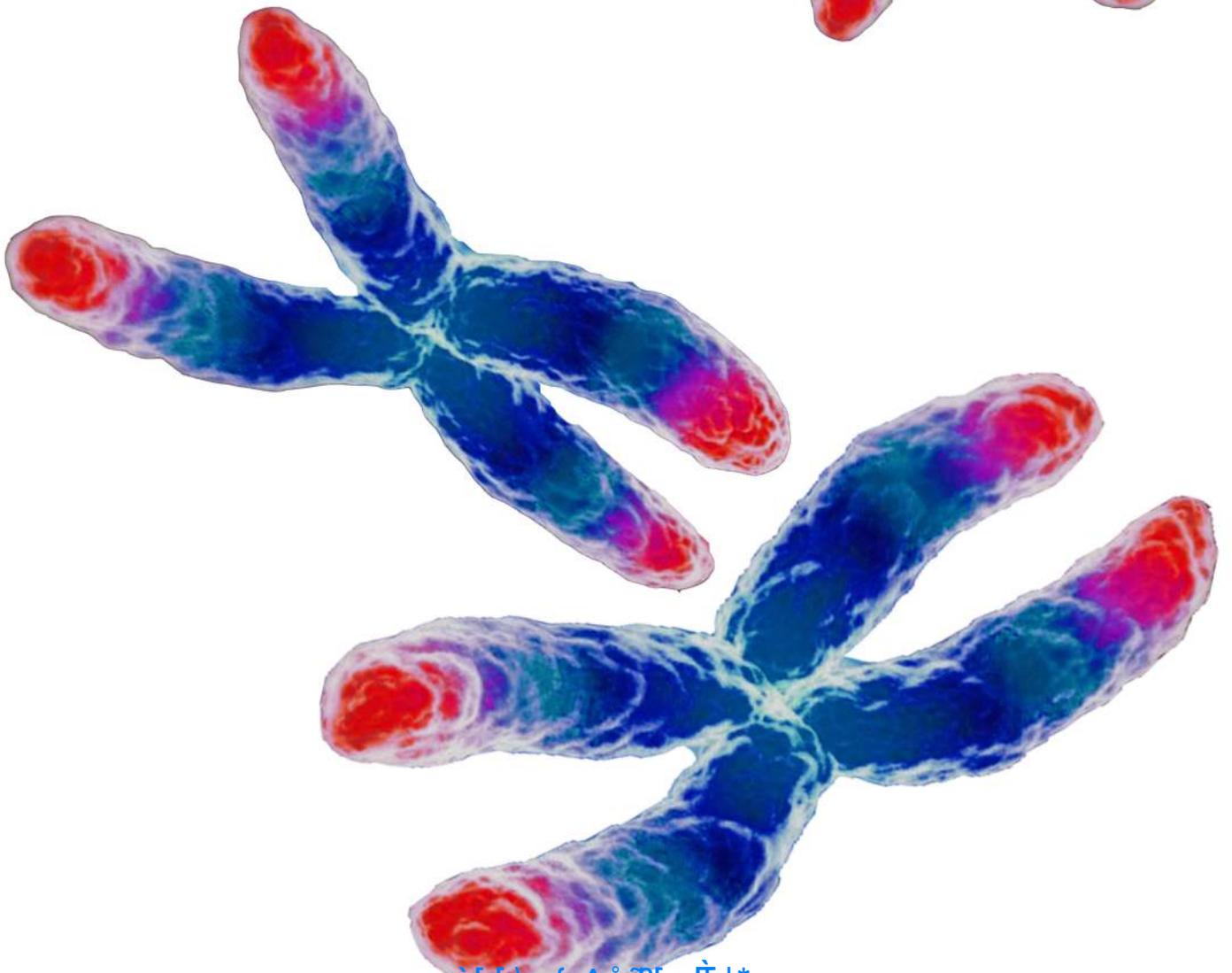
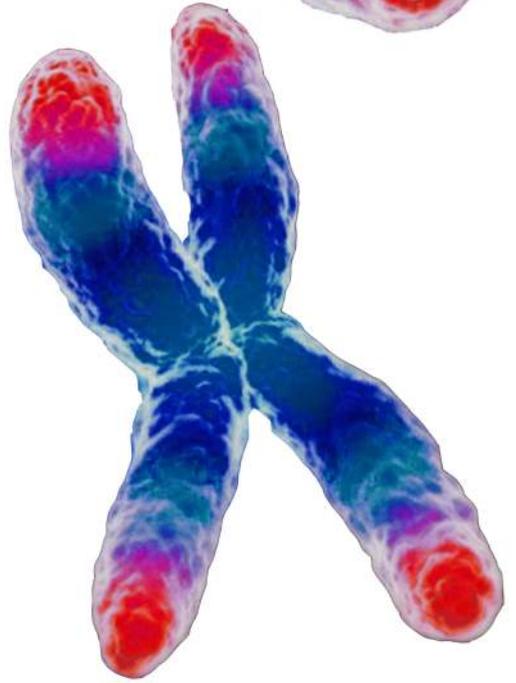
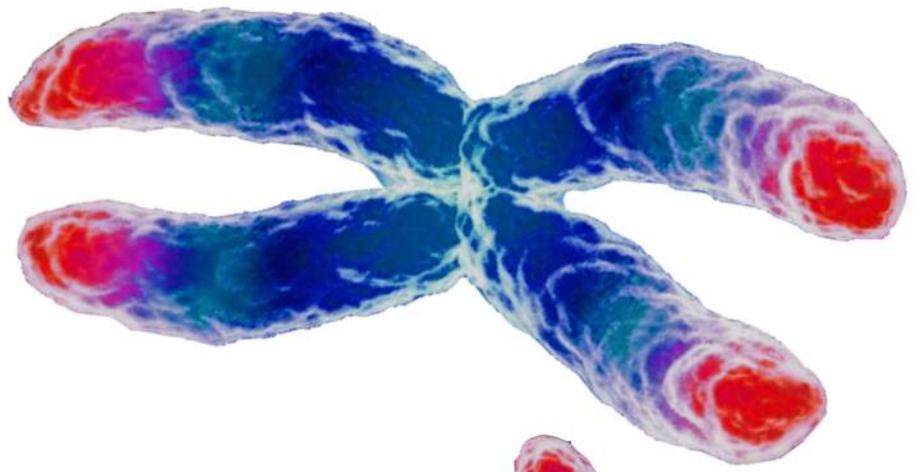


10



INVESTIGACIONES MOLECULARES EN EL ECUADOR: ENFERMEDADES CONGÉNITAS





CAPÍTULO X

INVESTIGACIONES MOLECULARES EN EL ECUADOR: ENFERMEDADES CONGÉNITAS

Las anomalías congénitas son defectos que ocurren mientras un individuo se desarrolla dentro del cuerpo de su madre. La mayoría de defectos congénitos se presentan en los primeros meses de embarazo. Estos defectos pueden alterar el aspecto corporal, su funcionamiento o ambos. Nuestro grupo de investigación ha realizado varios estudios relacionados con diferentes patologías congénitas, como la enfermedad de Hirschsprung, la fibrosis quística del páncreas, la distrofia muscular de Duchenne y la hemocromatosis.

1. ENFERMEDAD DE HIRSCHSPRUNG

La enfermedad de Hirschsprung (HSCR) presenta un patrón de herencia autosómica recesiva. La HSCR es una anomalía congénita del sistema nervioso entérico, caracterizada por la aganglioneosis (ausencia o falta de células ganglionares), en el plexo mientérico de Auerbach y submucoso de Meissner, en una porción variable del tracto gastrointestinal, que da como resultado una obstrucción intestinal funcional (Amiel et al., 2001; McInerney et al., 2011). HSCR corresponde a un 33% de los casos de obstrucción neonatal del colon (Moore & Persaud, 2008).

Se estima que la incidencia global es de 1 por cada 5000 recién nacidos vivos, sin embargo, la incidencia por cada 10000 individuos varía en los distintos grupos étnicos: 2,8 en asiáticos, 2,1 en afroamericanos, 1,5 en caucásicos y 1,0 en hispanos. En hermanos la incidencia es de aproximadamente 3,5%, aumentando según la longitud del segmento del colon afectado hasta un 20% (Torfs, 1998; Haricharan & Georgeson, 2008).

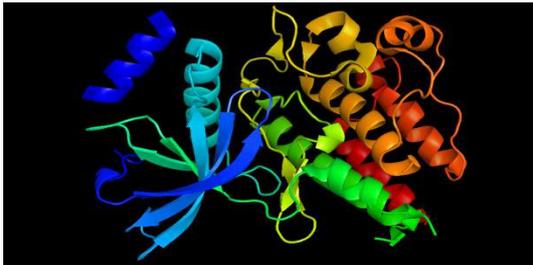
Según el segmento agangliónico afectado, esta enfermedad se clasifica en: HSCR de segmento corto (S-HSCR 74-80% de los casos), que es la forma clásica de la enfermedad, en la que se ve afectada una región por debajo del sigmoide superior; HSCR de segmento largo (L-HSCR 12-22% de los casos), en la que la aganglioneosis se extiende por encima del plexo esplénico (Chakravarti & Lyonnet, 2002), y hay una tercera forma, que es a la vez rara y asociada con alta morbilidad y mortalidad: la aganglioneosis total de colon (ATC 4-13%), con ausencia de células ganglionares en todo el colon (Haricharan & Georgeson, 2008; Kenny et al., 2010). El 80% de los casos con HSCR son esporádicos, el 20% restante puede ser de origen familiar con patrones de herencia autosómica dominante y recesiva, penetrancia incompleta y expresión variable (Lantieri et al., 2006a). La enfermedad se presenta con predominio en el sexo masculino, siendo el ratio de hombres y mujeres de 4 a 1. Sin embargo, este valor es significativamente más alto para S-HSCR (hombre-mujer de 5 a 1), que para la forma más severa L-HSCR (aproximadamente hombre-mujer de 1 a 1) (Torfs, 1998). El diagnóstico se realiza en la mayoría de los casos en el período neonatal (Teitelbaum et al., 2000), pero en algunos casos, se realiza más tarde en la infancia o incluso en la edad adulta (Parc et al., 1984).

La etiología se basa en un fallo en la migración, proliferación, diferenciación y supervivencia de las células de la cresta neural durante el desarrollo embrionario del sistema nervioso entérico. Hasta la fecha, el análisis molecular de pacientes con HSCR ha permitido identificar mutaciones en nueve genes que pueden estar relacionados con la enfermedad: RET, GDNF, NRTN, PHOX2B, EDNRB, EDN3, ECE1, SOX10 y ZFH1B; la mayor parte de estos genes codifican proteínas, relacionadas entre sí, para elementos de las vías de señalización más importantes en la formación del sistema nervioso entérico (Fernández, 2004; Tam & García-Barceló, 2009).

1.1. Gen RET

Actualmente, se sabe que el proto-oncogén RET es el principal gen de susceptibilidad para HSCR (Lyonnet et al., 1993), pero a pesar del papel central que juega RET en HSCR y la extensa búsqueda de mutaciones que han llevado a cabo diferentes grupos durante los últimos años, la tasa de mutación todavía resulta demasiado baja, alrededor del 50% en los casos familiares y 7-35% en los casos esporádicos (Tabla X.1).

Tabla X.1. Características del gen RET

Características	Información	Estructura proteica
Símbolo oficial	RET	
Nombre	Proto-oncogén RET	
Otros alias	MEN2A	
Cromosoma	10	
Localización	10q11,2	
# Acceso NCBI	NC_000010,10	
Gen ID	5979	
Tamaño secuencia	53325 bases	
Tamaño proteína	1114 aa; 124319 Da	
Localización subcelular	Membrana celular	

[Knowles et al., 2006]

En la Figura X.1 se señala la ubicación del gen RET presente en el cromosoma 10.



FIGURA X.1. CROMOSOMA 10 HUMANO. Ubicación del gen RET [GeneCards, 2014].

Nuestro grupo de investigación realizó un estudio para determinar la frecuencia de los polimorfismos presentes en los exones 2, 7 y 15 e intrón 1 del gen RET (Figura X.2), en niños ecuatorianos afectados con la enfermedad de Hirschsprung.

En el estudio retrospectivo caso-control se analizaron 41 pacientes diagnosticados con HSCR, basados en la ausencia de plexos entéricos en el examen histológico de la biopsia o material quirúrgico, y 41 individuos sanos, sin evidencia de problemas entéricos presentes y pasados.

CÉLULA DE LA CRESTA NEURAL

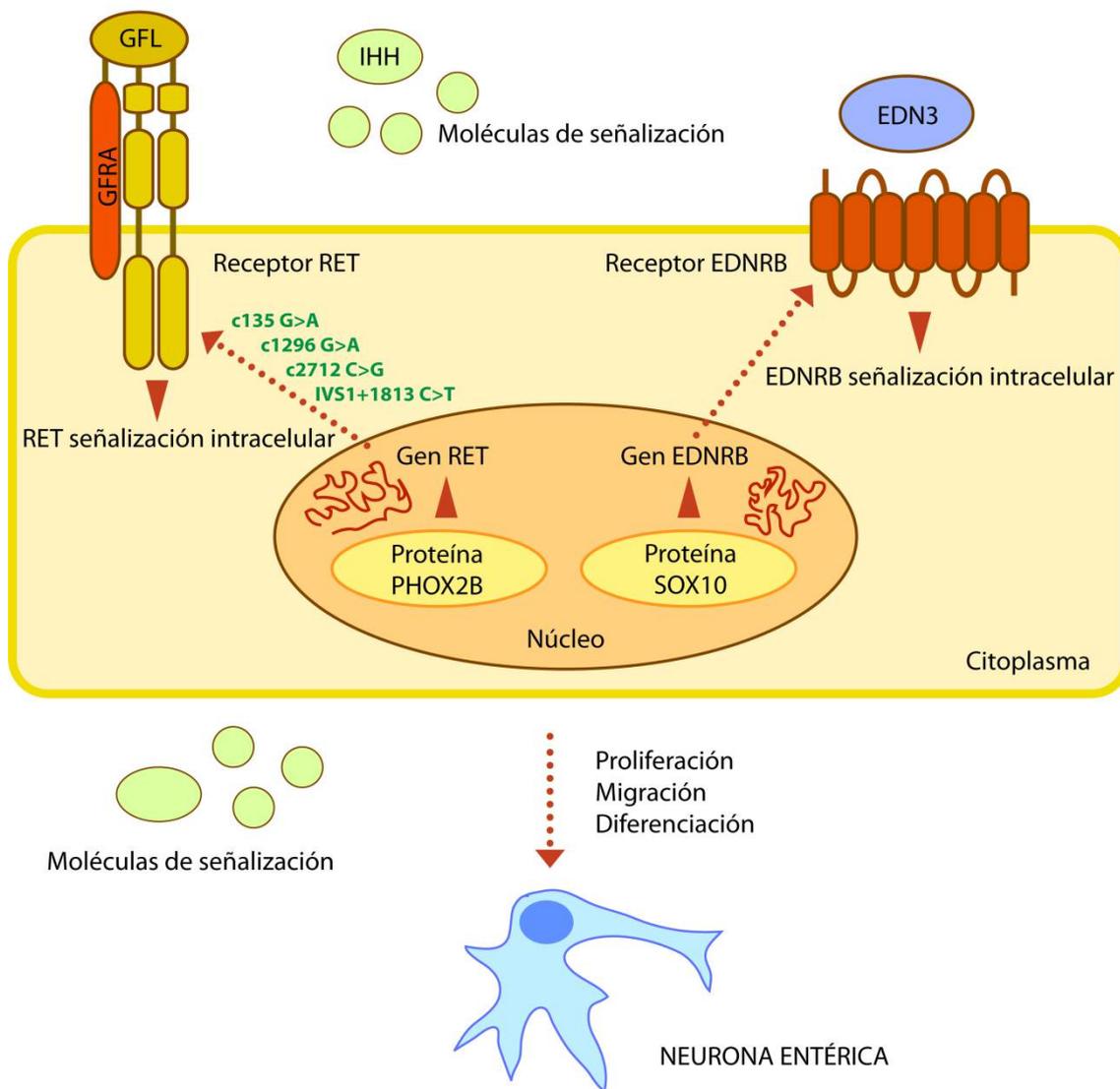


FIGURA X.2. MICROAMBIENTE INTESTINAL Y VARIANTES GENÉTICAS. Polimorfismos genéticos del receptor membranar RET en las células de la cresta neural [Modificado de Tam & García-Barceló, 2009; IIB, 2014].

1.2. Resultados y discusión

Los polimorfismos analizados del gen RET fueron: c135 G>A en el exón 2, c1296 G>A en el exón 7, c2712 C>G en el exón 15 y IVS1+1813 C>T, en el intrón 1. De los 41 casos investigados con HSCR, la frecuencia de afectos hombre-mujer fue de 28 a 13 con edad promedio de 2,8 años. La frecuencia en Ecuador de los alelos A 135G>A y T en IVS1+1813C>T fue superior en afectos (55% y 77%), que en los controles (37% y 57%, respectivamente); mientras que la frecuencia de los alelos A en c1296 G>A y G en c2712 C>G fue menor en afectos (23% y 4%), que en el grupo control (59% y 29%), mostrando un comportamiento similar a los datos de investigaciones en países de Europa y Asia (Borrego et al., 1999; Fitze et al., 1999; Lantieri et al., 2006b; Sancandi et al., 2003). Realizando el análisis de χ^2 , con dos grados de libertad para los genotipos encontrados de cada polimorfismo estudiado c135

G>A, c1296 G>A, c2712 C>G e IVS1+1813 C>T, se obtuvieron valores de 12,54, 20,21, 20,44 y 8,35 respectivamente. Los valores altos implica que existen diferencias significativas entre los grupos afecto y control. El marcador 135 G>A se asocia con el riesgo once veces mayor de desarrollar la enfermedad de HSCR. No se observaron diferencias significativas en el polimorfismo IVS1+1813 C>T; mientras que 1296 G>A y 2712 C>G, parecen jugar un papel protector en la patogénesis de HSCR.

Tabla X.2. Frecuencias genotípicas y alélicas del gen RET

Gen RET	Afectos (%)	Sanos (%)	Valor de P	OR (95% IC)
Polimorfismo c135 G>A				
Frecuencias genotípicas				
G/G	05	37		Referencia
G/A	80	53	0,001	11,3 [2,3-54,1]
A/A	15	10	0,027	11,3 [1,6-78,6]
Frecuencias alélicas				
G	45	63	-	-
A	55	37	-	-
Polimorfismo c1296 G>A				
Frecuencias genotípicas				
G/G	61	14		Referencia
G/A	32	54	0,001	0,14 [0,05-0,4]
A/A	07	32	0,00001	0,06 [0,01-0,3]
Frecuencias alélicas				
G	77	41	-	-
A	23	59	-	-
Polimorfismo c2712 C>G				
Frecuencias genotípicas				
C/C	95	51		Referencia
C/G	2,5	39	0,0001	0,03 [0,0-0,3]
G/G	2,5	10	0,131	0,14 [0,0-1,2]
Frecuencias alélicas				
C	96	71	-	-
G	04	29	-	-
Polimorfismo IVS1+1813 C>T				
Frecuencias genotípicas				
C/C	07	15		Referencia
T/C	32	56	1	0,03 [0,0-0,3]
T/T	61	29	0,13	0,14 [0,0-1,3]
Frecuencias alélicas				
C	23	43	-	-
T	77	57	-	-

El proto-oncogén RET es el principal gen de susceptibilidad para HSCR, ya que se encuentra implicado en el desarrollo del sistema nervioso entérico durante la embriogénesis (Lyonnet et al., 1993). Desde 1994, se han asociado mutaciones sinónimas e intrónicas del gen RET con la patogénesis de HSCR (Lantieri et al., 2006a), las cuales provocan una pérdida de función por un mal plegamiento de proteína, falta de transporte en la superficie celular o supresión de su actividad biológica (Carlomagno et al., 1996; Martucciello et al 2007). Datos del Ecuador indican similitud con respecto a datos descritos en otras poblaciones: española, alemana, italiana, china, polaca y estadounidense (Borrego et al., 1999; Fitze et al., 1999; Emison et al., 2005; Liu et al.,

2010), el alelo A del polimorfismo c135 G>A, está más representado en los enfermos HSCR, y los individuos que portan los genotipos GA/AA tendrían un riesgo once veces mayor de padecer la enfermedad de Hirschsprung. Se propuso que la variante A45A podría estar en desequilibrio de ligamiento con algún locus funcional desconocido en aquel momento (Fitze et al., 2003), aunque se desconoce el mecanismo exacto por el cual la sustitución silenciosa del codón 45 actúa en el origen de HSCR. Se muestra que la variante c135A está asociada fuertemente con el fenotipo de HSCR. Los polimorfismos c1296 G>A y c2712 C>G parecen ser factores significativamente protectores en la patogénesis de HSCR, aunque el mecanismo que habría detrás de un posible efecto protector aún no se ha esclarecido (Liu et al., 2010). Por otra parte, en la población ecuatoriana no se encontró asociación entre esta enfermedad y el polimorfismo IVS1+1813 C>T, a diferencia de la investigación realizada en China (Liu et al., 2008).

En la Figura X.3 se observa el análisis de secuencias de los polimorfismos c1296 G>A y IVS1+1813 C>T para la obtención de los genotipos respectivos. G/G, G/A y A/A para la variante genética c1296 G>A; y, C/C, C/T y T/T para la variante genética IVS1+1813 C>T.

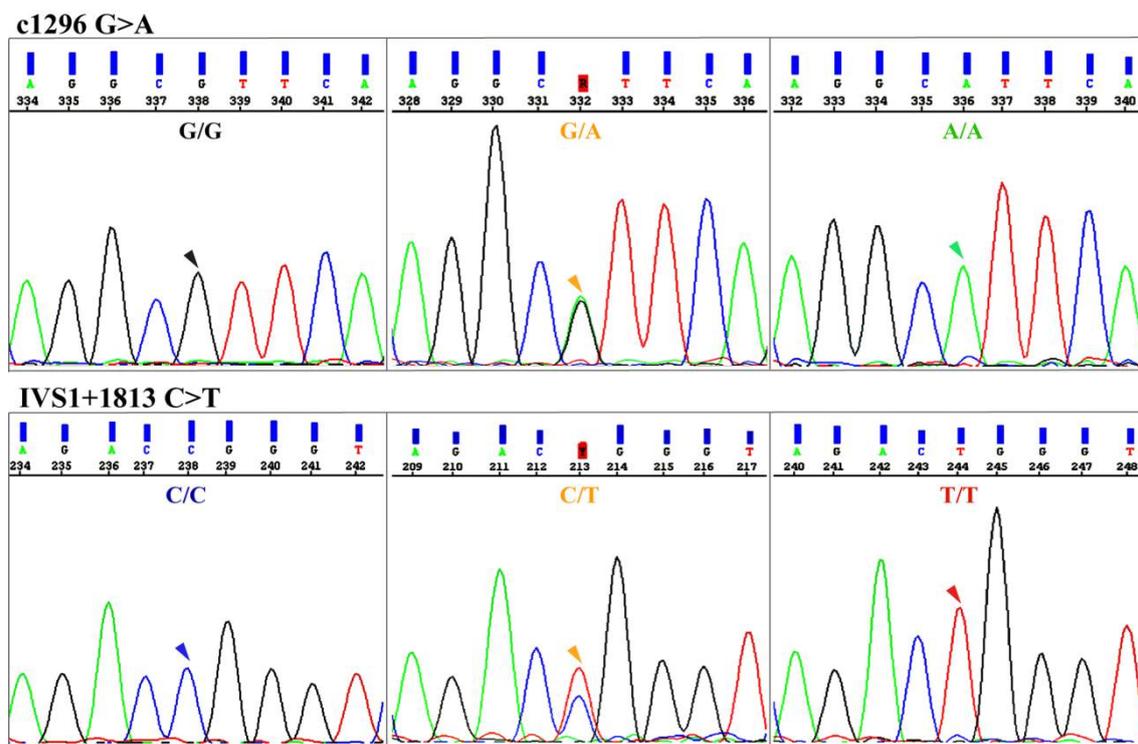


FIGURA X.3. ANÁLISIS DE SECUENCIAS DEL GEN RET. Electroferograma de los polimorfismos genéticos c1296 G > A y IVS1+1813 C > T [Modificado de Guevara et al., 2012; IIB, 2014].

En la Figura X.4 se observa la digestión de los amplicones mediante la PCR-RFLP para obtener el genotipo de los polimorfismos c135 G>A y c2712 C>G del gen RET. Del polimorfismo c135 G>A, los individuos G/G presentan fragmentos de 134 pb y 104 pb; los individuos heterocigotos A/G presentan fragmentos de 238 pb, 134 pb y 104 pb; y, los individuos A/A presentan un fragmento de 238 pb. Con respecto al polimorfismo c2712 C>G, los individuos con genotipo G/C presentan fragmentos de

323 pb, 197 pb y 126 pb; los individuos C/C presentan un fragmento de 323 pb; y, los individuos con el genotipo G/G presentan fragmentos de 197 pb y 126 pb. Estos resultados se obtuvieron a partir de la digestión con enzimas de restricción específicas para el análisis de ambos polimorfismos.

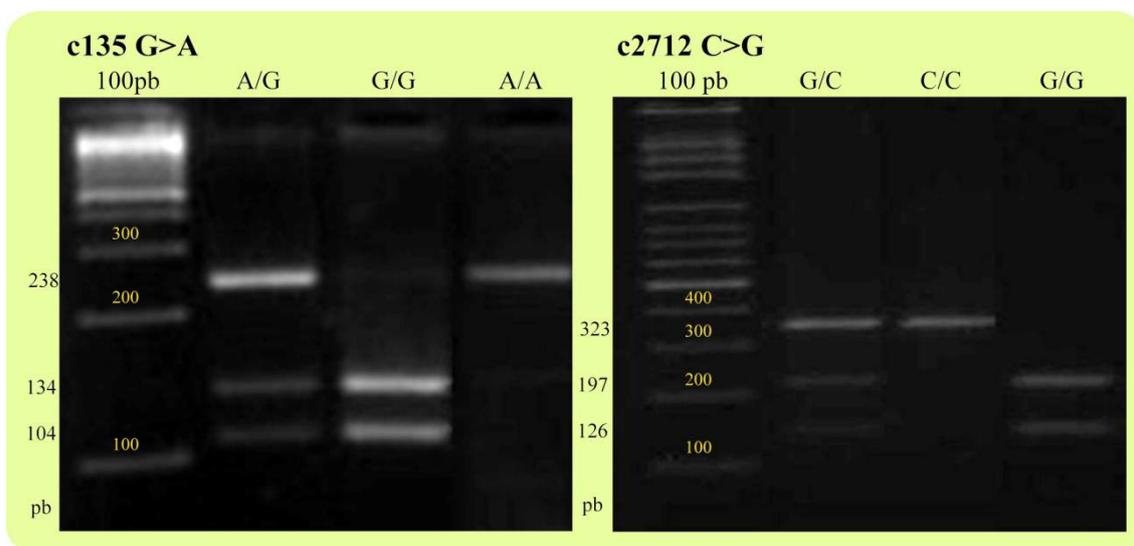


FIGURA X.4. DIGESTIÓN CON ENZIMAS DE RESTRICCIÓN DEL GEN RET. Los fragmentos obtenidos después de la digestión enzimática se observan en un gel de agarosa al 5% con bromuro de etidio y bajo luz UV [Modificado de Guevara et al., 2012; IIB, 2014].

Para mayor información el artículo titulado *Polimorfismos genéticos del proto-oncogén RET asociados con la enfermedad de Hirschsprung en niños ecuatorianos*, se publicó en la *Revista Médica Vozandes*, en el año 2012 (Guevara et al., 2012).

2. FIBROSIS QUÍSTICA DEL PÁNCREAS

La fibrosis quística del páncreas (FQ) es una enfermedad autosómica recesiva y presenta mayor frecuencia en el grupo étnico caucasoide (1/2000 nv); en el grupo negroide su incidencia es baja (1/15000 nv), y en la población asiática es aún más baja (1/50000 nv). En el Ecuador, se estima que el número de afectados llega a 150, por lo tanto existe una baja incidencia (Estivill et al., 1997).

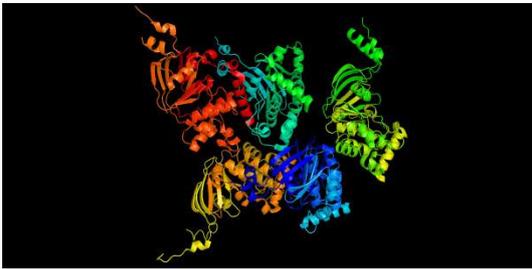
2.1. Gen CFTR

El gen CFTR codifica la proteína reguladora transmembranal de la fibrosis quística, la cual está involucrada en el transporte del cloro a la membrana celular, mediada por la molécula adenosín monofosfato cíclico (AMPC) (Tabla X.3).

El gen CFTR se ubica en el brazo largo del cromosoma 7 (7q31,2) (Figura X.5). Una alteración o delección de la CFTR altera las funciones fisiológicas de los epitelios glandulares. La mala función del transporte de cloro se asocia a daño en las glándulas exocrinas, que se obstruyen por material eosinófilo viscoso o sólido, y secretan moco, Cl y Na exageradamente. Suele haber infertilidad. Los síntomas se desarrollan a partir

de estas obstrucciones y afectan al área gastrointestinal y pulmonar, aunque es una enfermedad generalizada. En la forma intestinal, se inicia con íleo meconial en los recién nacidos, atresia, vólvulo, perforaciones o prolapso rectal; se presentan problemas de vías biliares e hígado, y puede desarrollarse diabetes. Existe un marcado retraso en la ganancia de peso. En la forma pulmonar, se presenta con tos e infecciones bronquiales recurrentes (*Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeuroginosa*), que evolucionan a neumotórax, hemoptisis, hipertensión pulmonar. La mayoría de pacientes presentan insuficiencia pancreática y déficit de vitaminas liposolubles. Es usual realizar una prueba de sudor, en la cual se hace evidente la pérdida de cloro. La supervivencia media es de 31 años (Paz-y-Miño et al., 1999a).

Tabla X.3. Características del gen CFTR

Características	Información	Estructura proteica
Símbolo oficial	CFTR	
Nombre	Regulador membranaral FQ	
Otros alias	CF	
Cromosoma	7	
Localización	7q31,2	
# Acceso NCBI	NC_000007,13	
Gen ID	1080	
Tamaño secuencia	202882 bases	
Tamaño proteína	1480 aa; 168142 Da	
Localización subcelular	Membrana endosomal	

[Lewis et al., 2005]

La variedad de presentación clínica de la FQ involucra el peculiar concepto de heterogeneidad clínica, que se relaciona con el diferente exón mutado de los enfermos. Los síntomas pulmonares se presentan con mayor agudeza en los afectos de la mutación delta F508 ($\Delta F508$), mientras que la prevalencia de otros síntomas se relaciona con mutaciones de otros exones. Un mismo individuo puede tener la enfermedad, pero con mutaciones de dos diversos exones heredados por sus respectivos padres, lo que se denomina heterogeneidad alélica (Paz-y-Miño et al., 1999a).



FIGURA X.5. CROMOSOMA 7 HUMANO. Ubicación del gen CFTR [GeneCards, 2014].

2.2. Resultados y discusión

El análisis del gen responsable de la enfermedad se hace mediante la técnica PCR. Esta prueba ha permitido detectar más de 800 mutaciones en el gen CFTR. Este gen tiene 27 exones y la mutación $\Delta F508$ es la más frecuente. En grupos humanos diferentes al caucásico, la incidencia tanto de la FQ como de la mutación $\Delta F508$ es variable. Se ha estimado que la incidencia de la FQ entre los hispanos es de aproximadamente 1/10000 nv, aunque en la mayor parte de países de la región no

existen estadísticas. En Latinoamérica se han reportado datos sobre la frecuencia de $\Delta F508$ únicamente en México, Brasil y Argentina. En el Ecuador realizamos el estudio genético de 14 afectados ecuatorianos de FQ. En todos estos se realizó la detección de la mutación $\Delta F508$ mediante la PCR y en 6 de ellos se efectuó adicionalmente el análisis de otras siete mutaciones frecuentes en la población europea (G542X, N1303K, 1717-1, W1282X, G551D, R553X, $\Delta 1507$), mediante un test de hibridación INNO-Lipa. La frecuencia encontrada de la mutación $\Delta F508$ fue 26,92% y ninguna de las otras 7 fue detectada, lo cual indica que al menos el 46,15% de las mutaciones en la población estudiada son diferentes a las más comunes de Europa. Una incidencia baja de la mutación $\Delta F508$, así como un alto porcentaje de mutaciones diferentes a las más comunes en Europa, han sido reportados también en la población de México, país con población similar a la ecuatoriana. Por lo tanto, es válido pensar que la FQ en el Ecuador y en Latinoamérica, tiene una etiología diferente a la europea; esto puede deberse a que los grupos étnicos son marcadamente diferentes entre estas dos regiones. Los resultados encontrados plantean la necesidad de estudiar todo el gen CFTR para identificar las mutaciones causantes de la FQ en el Ecuador, las cuales podrían ser poco frecuentes o aún no reportadas. Se ha postulado que la frecuencia alta en la población, del alelo mutado, podría deberse a una ventaja evolutiva, mediante la cual existiría una mejor protección contra enfermedades diarreicas, infecciosas, bacterianas intestinales, como el cólera.

Los productos resultantes de la amplificación por PCR del exón 10 del gen CFTR para la detección de la mutación $\Delta F508$, tienen un tamaño de 98 pares de bases si el alelo no tiene la mutación y de 95 pb si el alelo tiene la delección de 3 nucleótidos (mutación $\Delta F508$). Los resultados en algunos de los grupos familiares estudiados se presentan en la siguiente figura (Paz-y-Miño et al., 1999a).

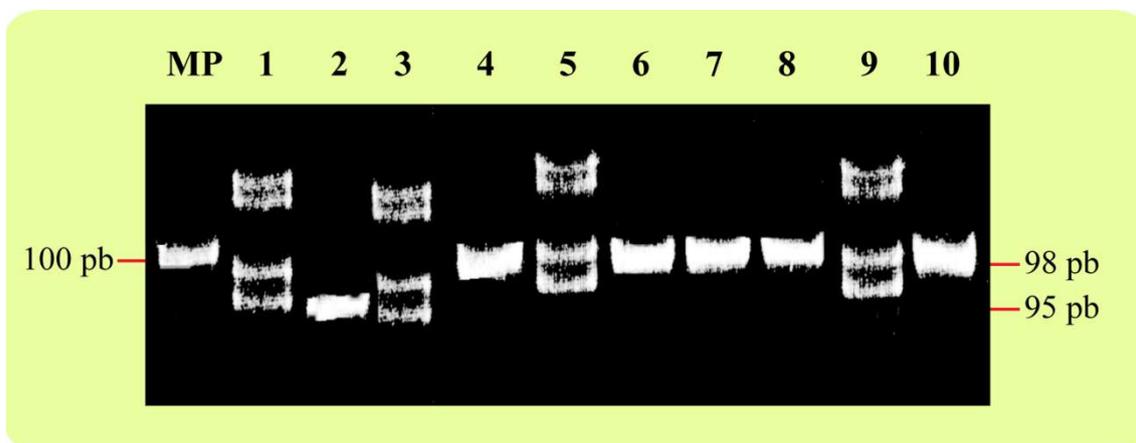


FIGURA X.6. AMPLIFICACIÓN DEL EXÓN 10 DEL GEN CFTR MEDIANTE PCR. CROMOSOMA 7 HUMANO. Electroforesis del exón 10 del gen CFTR. MW = Marcador de peso molecular conocido $\Delta F508$. Columna 1 y 3: heterocigotos, padres del caso 2. Columna 2: homocigoto para el alelo $\Delta F508$. Columna 4: madre del caso 5, portadora de un alelo mutado desconocido. Columna 5 y 9: Enfermos con alelo $\Delta F508$ y otro alelo mutado desconocido. Columna 6, 7, 8: hermanos del caso 5, sanos homocigotos. Columna 10 padre del caso 9, portador de alelo desconocido [Modificado de Paz-y-Miño et al., 1999a; IIB, 2014].

De los catorce afectos de FQ analizados, se encontró que dos (14,29%) tenían los dos alelos $\Delta F508$ ($\Delta F508/\Delta F508$); tres (21,43%) presentaron un solo alelo $\Delta F508$ ($\Delta F508/x$); y los restantes nueve (64,29%) no presentaron ningún alelo $\Delta F508$ (x/x) (Tabla X.4).

Tabla X.4. Genotipos FQ $\Delta F508$ encontrados en población ecuatoriana

	X/X	$\Delta F508/X$	$\Delta F508/\Delta F508$
Número	9	3	2
Porcentaje [%]	64,29	21,43	14,29

La FQ es una de las enfermedades que en la actualidad cuenta con terapia genética, dirigida a los síntomas pulmonares. Se ha logrado introducir el gen normal en adenovirus defectivos, los cuales son inoculados (autoinoculación) en aerosoles. Los virus infectan la mucosa pulmonar e introducen su ADN con el gen FQ integrado. Las células pulmonares funcionan normalmente por varios años y los pacientes tienen mejorías importantes. El problema básico de esta terapia es la respuesta inmune y el rechazo a nuevas infecciones virales. Es importante anotar que cualquier tipo de terapia genética, debe partir del conocimiento preciso de los tipos de mutaciones existentes en una población, para justamente realizar los preparados terapéuticos con genes específicos. Los tratamientos clínicos van orientados a mantener un estado adecuado de nutrición, dietas, reemplazo enzimático, la prevención o tratamiento agresivo de las complicaciones pulmonares o cualquier otra; el uso de corticoides, antibióticos, antiinflamatorios, cirugías pulmonares, así como un apoyo psicológico y familiar. El asesoramiento genético y reproductivo es importante para la familia. En la actualidad se cuenta con pruebas de diagnóstico prenatal genético, para las parejas con riesgo (Paz-y-Miño et al., 1999a).

Para mayor información, el artículo titulado *The $\Delta F508$ mutation in Ecuador, South America* se publicó en la revista científica *Human Mutation*, en el año 1999 (Paz-y-Miño et al., 1999a).

3. DISTROFIA MUSCULAR DE DUCHENNE Y BECKER

Las distrofias musculares de Duchenne (DMD) y Becker (DMB) constituyen dos formas alélicas de una enfermedad letal recesiva ligada al cromosoma X, caracterizada por una degeneración progresiva de los músculos con debilidad y atrofia. Afecta a 1/3000 varones nv (DMD) y a 1/18500 varones nv (DMB). La DMD fue la primera enfermedad genética humana en la cual se determinó su base molecular en una región cromosómica específica, utilizando marcadores de ADN.

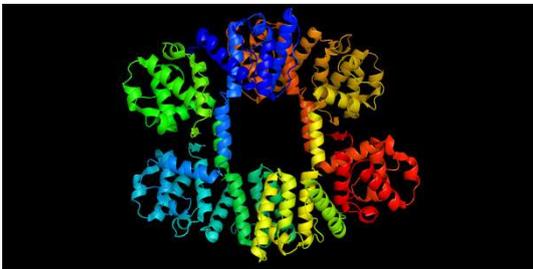
La variedad Duchenne es la más grave y típica; su sintomatología ocurre a los 2 ó 7 años de edad. La variedad más tardía, la de Becker, inicia los síntomas en la segunda o tercera década de la vida. La DMD inicia con dificultad progresiva en la marcha, caídas, lordosis, pseudohipertrofia muscular (reemplazo por tejido fibrótico y grasa); los problemas musculares estriados son progresivos, afección cardiaca, deficiencia intelectual; se afecta inclusive al sistema respiratorio, el cual es el principal causante de la muerte de los pacientes. La DMB inicia en la edad adulta; los pacientes presentan

pérdida progresiva de la fuerza muscular y sobreviven hasta los 30 ó 40 años (Paz-y-Miño et al., 1999b).

3.1. Gen DMD

Esta enfermedad, en todas sus variedades, se debe a mutaciones en el gen DMD, las cuales constituyen principalmente deleciones (60% de todos los casos) que comprometen a los exones 2-20 y más frecuentemente a los exones 44-53 y las duplicaciones (6% de todos los casos) constituyen la mayoría de mutaciones detectables, localizadas en dos regiones específicas del gen a una distancia de 0,5 y 1,2 Kb del promotor. El DMD es uno de los genes más largos caracterizado y representa cerca del 0,1% de todo el genoma humano. Está constituido por 79 exones, repartidos en 2200 Kb de ADN (Tabla X.5) (Paz-y-Miño et al., 1999b).

Tabla X.5. Características del gen DMD

Características	Información	Estructura proteica
Símbolo oficial	DMD	
Nombre	Distrofina	
Otros alias	BMD	
Cromosoma	X	
Localización	Xq21,2	
# Acceso NCBI	NC_000023,1	
Gen ID	1756	
Tamaño secuencia	2224919 bases	
Tamaño proteína	3685 aa; 426750 Da	
Localización subcelular	Membrana celular	

El gen DMD se encuentra localizado en el cromosoma X, en la región Xq21,2 del humano, como se observa en la Figura X.7.

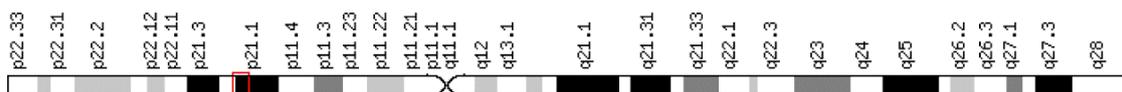


FIGURA X.7. CROMOSOMA X HUMANO. Ubicación del gen DMD [GeneCards, 2014].

El ARNm mide 14 Kb, por lo cual la mayor parte del gen distrofina está ocupada por largos intrones. El gen codifica la proteína distrofina, de 3685 aminoácidos con un peso molecular de 427 KDa, que normalmente está asociada al sarcolema de las células musculares estriadas, esqueléticas y cardíacas. Se expresa en un número limitado de tejidos que incluyen: músculo esquelético, cardíaco, liso y en bajos niveles en cerebro. En la DMD la proteína falta totalmente (< 3% de las proteínas musculares) y en la DMB hay formas mutantes de la proteína que son disfuncionales (Paz-y-Miño et al., 1999b).

Las pruebas moleculares han mostrado que las mutaciones detectadas en este gen son principalmente deleciones grandes, miles de bases implicadas, seguidas de duplicaciones. Usualmente, las deleciones son detectadas por medio de hibridización con sondas de ADNc o por amplificación por PCR de las regiones calientes (*hot spots*).

Debido al tamaño grande del gen que codifica la proteína distrofina (79 exones), se lo analiza con la técnica modificada PCR múltiplex, la cual evalúa simultáneamente muchos exones. La eficiencia de la detección es de 98%. La PCR múltiplex para DMD y DMB, evalúa simultáneamente 18 exones. Como se evalúan relativamente pocos exones, 18 de los 79 que son los más implicados en el origen de la enfermedad, en ciertos casos es necesario el análisis de exones extras (Paz-y-Miño et al., 1999b).

3.2. Resultados y discusión

En el laboratorio se analizaron muestras de sangre periférica de 10 individuos: 8 con DMD (7 casos corresponden a DMD esporádicos y 1 caso corresponde a DMD familiar), 2 posibles portadoras, la primera, madre de uno de los casos esporádicos y la otra, madre de los 2 enfermos diagnosticados clínicamente y con otro hijo que aún no presentaba síntomas. Una vez extraído el ADN, según protocolo estándar, con PCR múltiplex, analizamos 18 exones en solo 2 reacciones separadas de PCR, encontrando deleciones entre los exones 45 y 51 en 3 pacientes y deleción de los exones 3 y 45 en 2 pacientes, sin detectar alteraciones en los exones estudiados en un varón recién nacido, en dos casos con sospecha clínica y en dos portadoras (Paz-y-Miño et al., 1999b).

Las mutaciones detectadas en este gen corresponden a las deleciones típicamente descritas en la zona distal del gen (exones 44 a 52), Colombia presenta datos similares (Colombia 79%, Ecuador 80%). Hay que anotar que el estudio de deleciones de los exones del gen no proporciona un diagnóstico en la totalidad de casos, ya que existen mutaciones puntuales y algunas detectadas en intrones. Así, los datos de otros laboratorios muestran un diagnóstico bajo en la detección de deleciones (Colombia 37%, Argentina 27% y Ecuador 71%) (Paz-y-Miño et al., 1999b).

Tabla X.6. Cebadores para la PCR múltiplex del gen DMD

Primer FW	Secuencia (5´-3´)	Primer RV	Secuencia (5´-3´)	Peso (pb)
PmF	GAAGATCTAGACAGTGGATACATAACAAA	PmR	TTCTCCGAAGGTAATTGCCTCCAGATCTG	535
3F	TCATCCATCATCTTCGGCAGATTAA	3R	CAGGCGGTAGAGTATGCCAAATGAAAATC	410
4F	TTGTCGGTCTCCTCGGTCAGTG	4R	CAAAGCCCTCACTCAAACATGAAGC	196
6F	CCACATGTAGGTCAAAAATGTAATGAA	6R	GTCTCAGTAATCTTCTACCTATGACTATGG	202
8F	GTCCTTTACACACTTTACCTGTTGAG	8R	GGCCTCATTTCTCATGTTCTAATTAG	360
12F	GATAGTGGGCTTTACTTACATCCTTC	12R	GAAAGCAGCAACATAAGATTACACCT	331
13F	AATAGGAGTACCTGAGATGTAGCAGAAAT	13R	CTGACCTTAAGTTGTTCTTCCAAAGCAG	238
17F	GACTTTCGATGTTGAGATTACTTTCCC	17R	AAGCTTGAGATGCTCTCACCTTTTCC	416
19F	TTCTACCACATCCCATTTTCTTCCA	19R	GATGGCAAAAAGTGTGAGAAAAAGTC	459
43F	GAACATGTCAAAGTCACTGGACTTCATGG	43R	ATATATGTGTTACCTACCCTTGTGCGGTC	357
44F	CTTGATCCATATGCTTTTACCTGCA	44R	TCCATCACCTTCAGAACCTGATCT	268
45F	AAACATGGAACATCCTTGTGGGGAC	45R	CATTCTATTAGATCTGTCGCCCTAC	547
47F	CGTTGTTGCATTTGTCTGTTTCAGTTAC	47R	GTCTAACCTTTATCCACTGGAGATTTG	181
48F	TTGAATACATTGGTTAAATCCCAACATG	48R	CCTGAATAAAGTCTTCTTACCACAC	506
50F	CACCAAAATGGATTAAGATGTTTCATGAAT	50R	TCTCTCTCACCCAGTCATCACTTCATAG	271
51F	GAAATGGCTCTTTAGCTTGTGTTTC	51R	GGAGAGTAAAGTATTGGTGGAAAATC	388
52F	AATGCAGGATTTGGAACAGAGGCGTCC	52R	TTCCGATCCGTAATGATTGTTCTAGCCTC	113
60F	AGGAGAAATTGCGCCTCTGAAAGAGAACG	60R	CTGCAGAAGCTTCCATCTGGTGTTCAGG	139

Aparte del diagnóstico molecular de la DMD y DMB, la creatina fosfoquinasa (CK) elevada, 50 a 100 veces (normal 160 U/L), es un dato importante de la inflamación y destrucción del tejido muscular. Existen también alteraciones en el electromiograma. La inmunohistoquímica revela la distrofina alterada en las biopsias musculares. Se puede identificar los portadores y realizar diagnóstico prenatal. La presencia del segundo cromosoma X en las mujeres, por medio de la aplicación de la PCR múltiplex, dificulta el evidenciar si son o no portadoras de la mutación, requiriéndose diferentes técnicas (análisis de microsatélites). No existe un tratamiento

específico, pero se ha observado que el uso de prednisona mejora el pronóstico a largo plazo. Es clave el consejo genético. Se ha intentado el reemplazo de genes y el trasplante de mioblastos (Paz-y-Miño et al., 1999b).

En la Figura X.8 se observa la amplificación del gen DMD y la detección de las deleciones encontradas en los diferentes exones.

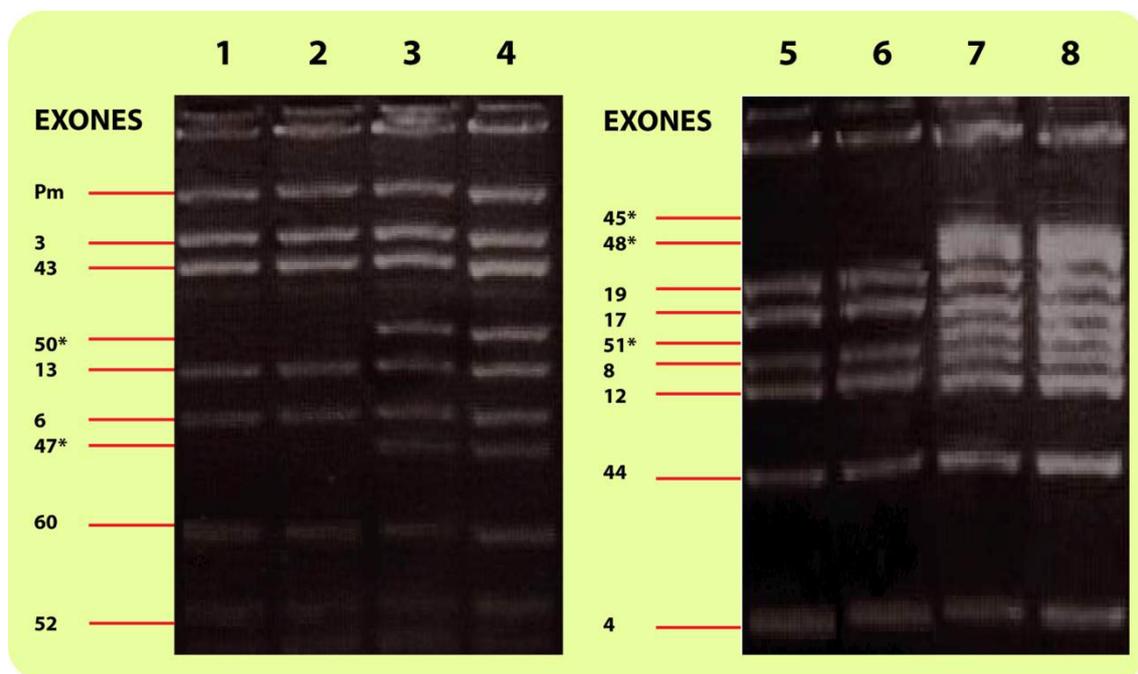


FIGURA X.8. DETECCIÓN DE DELECIONES DEL GEN DMD. Columnas 1-4 para juego 1 de exones: Pm, 3, 43, 50, 13, 6, 47, 60 y 52. Columnas 5-8 para juego 2 de exones: 45, 48, 19, 17, 51, 8, 12, 44 y 4. Las columnas 1-2 y 5-6 corresponden a dos de los tres enfermos con DMD que muestran deleciones de los exones 50 y 47 (líneas 1-2) y 45, 48 y 51 (líneas 5-6), las columnas 3 y 7 corresponden al hermano varón de un enfermo y las columnas 4 y 8 al control negativo [Modificado de Paz-y-Miño et al., 1999b; IIB, 2014].

Para mayor información, el artículo titulado *Distrofia muscular de Duchenne: Detección de mutaciones del gen de la distrofina a través de la utilización de la PCR-múltiple* se encuentra publicado en la revista científica *MetroCiencia*, en el año 1999 (Paz-y-Miño et al., 1999b).

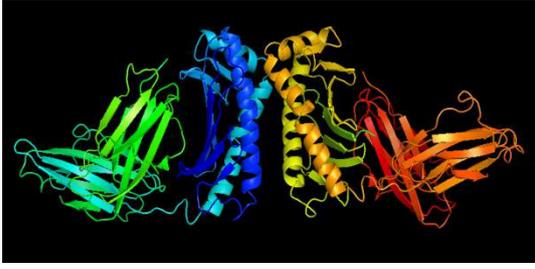
4. HEMOCROMATOSIS

La hemocromatosis de tipo 1 es una enfermedad autosómica recesiva relacionada con una excesiva absorción intestinal de hierro. Esta falla en el metabolismo del hierro desencadena una diversidad de enfermedades como la diabetes mellitus, cardiomiopatía y falla hepática debido a la progresiva acumulación de hierro en las células parenquimales de varios órganos (Milman et al., 2005).

4.1. Gen HFE

En 1996 se encontró un gen candidato para la hemocromatosis, denominado HFE, el cual se encuentra localizado en el cromosoma 6 humano (Tabla X.7) (Figura X.9) (Feder et al., 1996).

Tabla X.7. Características del gen HFE

Características	Información	Estructura proteica	
Símbolo oficial	HFE		
Nombre	Hemocromatosis		
Otros alias	HLA-H		
Cromosoma	6		
Localización	6p21,3		
# Acceso NCBI	NC_000006,11		
Gen ID	3077		
Tamaño secuencia	11124 bases		
Tamaño proteína	348 aa; 40108 Da		
Localización subcelular	Membrana celular		
			(Lebron et al., 1998)

Se ha observado que este gen presenta dos mutaciones en los pacientes con hemocromatosis: C282Y (c845G>A/p. C282Y) y H63D (c187C>G/p. H63D) (Lyon & Frank, 2001). La mutación C282Y ha sido encontrada en el 60-100% de individuos homocigotos descendientes de europeos que presentaron hemocromatosis de tipo 1. Mientras que la mutación H63D está presente en el 16% de la población europea (Feder et al., 1996; Lyon & Frank, 2001). Una tercera mutación en el gen HFE ha sido reportada tanto en pacientes como en controles. La mutación S65C (c193A>T/p. S65C) es responsable de una forma menos agresiva de este desorden genético (Barton et al., 1999; Mura et al., 1999; Holmström et al., 2002).

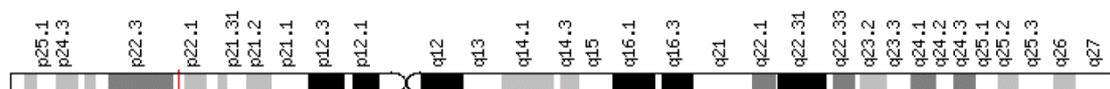


FIGURA X.9. CROMOSOMA 6 HUMANO. Ubicación del gen HFE [GeneCards, 2014].

Sin embargo, está reportado que en algunos casos la hemocromatosis no está solamente relacionada a las mutaciones del gen HFE. Estos interesantes descubrimientos nacen de la observación de que dentro de grandes familias que demuestran alta incidencia de desórdenes por acumulación de hierro, los miembros no afectados pueden compartir el mismo haplotipo del gen HFE con los individuos afectados. Esto confirma la hipótesis de que por lo menos dos genes pueden estar envueltos en el desarrollo de hemocromatosis (Pietrangelo et al., 1999). Entre los posibles genes asociados a las características heterogéneas de la enfermedad están: HJV, HAMP y Tfr2 (Pietrangelo et al., 2004).

Nuestro grupo de investigación realizó un estudio de las mutaciones C282Y, H63D y S65C del gen HFE en población ecuatoriana. Se estudió un total de 112 individuos, 100 sanos y 12 clínicamente diagnosticados con hemocromatosis. La técnica realizada fue la PCR.

4.2. Resultados y discusión

Las frecuencias alélicas de las mutaciones encontradas en el grupo de casos y de controles se detallan en la Tabla X.8. La frecuencia de las mutaciones C282Y y S65C no demostró diferencias estadísticamente significativas entre pacientes con hemocromatosis y personas sanas. Por el contrario, la frecuencia de la mutación H63D sí demostró diferencia significativa mediante la prueba estadística chi-cuadrado. Por ende, se concluyó que la mutación H63D presenta una elevada influencia en la hemocromatosis hereditaria en Ecuador.

Tabla X.8. Frecuencias alélicas del gen HFE en casos y controles

Mutaciones	Alelos	Individuos			Frecuencias alélicas (Casos)	Valor de p
		N/N	N/M	M/M		
C282Y						
Control	200	100	0	0	0	
Caso	24	24	0	0	0	NS
H63D						
Control	200	93	7	0	0,035	
Caso	24	9	2	1	0,167	< 0,01
S65C						
Control	200	93	6	1	0,040	
Caso	24	11	1	0	0,042	NS

(N) Alelo normal; (M) Alelo mutante

Se ha reportado que la frecuencia alélica de la mutación C282Y es elevada en personas de Angola (Olynyk et al., 1999; Hanson et al., 2001; Milman et al., 2005). Esta mutación es menos frecuente en la región sur de Europa y está prácticamente ausente en poblaciones de África, Asia y América del Sur (Chang et al., 1997; Cullen et al., 1998; Monaghan et al., 1998; Sánchez et al., 1998; Agostinho et al., 1999; Sohda et al., 1999; Mariani et al., 2003). En el Ecuador no se ha reportado la presencia de esta variante. La frecuencia de la mutación H63D en el Ecuador es considerablemente baja con relación a la reportada en Estados Unidos y Europa. Por otro lado, se encontró que la frecuencia de la mutación S65C es mayor que la frecuencia reportada en población caucásica (Mura et al., 1999; Holmström et al., 2002; Mariani et al., 2003; Remacha et al., 2000). Estos resultados podrían también explicar la baja incidencia de hemocromatosis en Ecuador, como se ha reportado sobre las mutaciones H63D y S65C y sus efectos clínicos débiles en los individuos (Lyon & Frank, 2001). Este estudio sugiere que la hemocromatosis en Ecuador no está influenciada solamente por las mutaciones del gen HFE analizadas, sino que también intervienen otras mutaciones del mismo gen y de otros genes.

Para mayor información, la investigación denominada *Analysis of HFE Gene Mutations (C282Y, H63D, and S65C) in the Ecuadorian Population*, se publicó en la revista científica *Annals of Hematology* en el año 2005 (Leone et al., 2005).

5. HIPOACUSIA NO SINDRÓMICA RECESIVA

La hipoacusia es considerada la deficiencia sensorial más frecuente a nivel mundial (Marlin et al., 2005). Cada año, 1 de cada 1000 niños nace con discapacidad auditiva prelingual (Yasunaga 1999; Del Castillo et al., 2002; Kenneson et al., 2002;

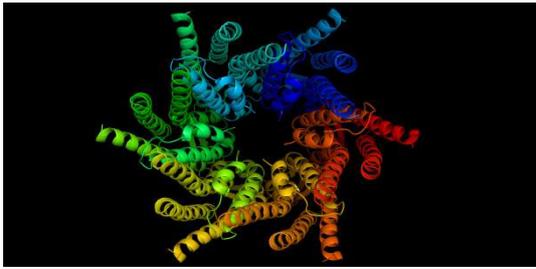
Cordeiro-Silva et al., 2010). Se estima que alrededor del 60% de los casos se desarrolla por factores genéticos, mientras que el 40% restante se origina por causas ambientales (Farpón & Bañales, 2011). Entre los individuos afectados por causas genéticas, el 70% presenta la forma no sindrómica de la enfermedad, esto quiere decir que no se presentan síntomas médicos junto con la hipoacusia; sin embargo, dentro de los individuos no sindrómicos el 80% sigue un patrón autosómico recesivo (Farpón & Bañales, 2011), por lo que la hipoacusia no sindrómica recesiva es la forma más común de hipoacusia hereditaria. Debido a que la hipoacusia no sindrómica recesiva es la forma más común de sordera auditiva, se realizó un análisis polimórfico en muestras de ADN de once familias afectadas, proveniente de doce diferentes provincias del Ecuador.

Actualmente, se han descrito alrededor de treinta genes relacionados con la hipoacusia congénita no sindrómica recesiva (Farpón & Bañales, 2011). A pesar de esta gran variedad de genes (heterogeneidad genética), la mayoría de las mutaciones ocurre en un solo locus denominado DFNB1, donde se han encontrado dos genes, GJB2 (DFNB1A) y GJB6 (DFNB1B). El locus DFNB1 por sí solo es responsable del 50% de las deficiencias auditivas recesivas (Wu et al., 2002; Del Castillo et al., 2005; Tamayo et al., 2009; Zoidl & Dermietzel, 2010; Farpón & Bañales, 2011). El locus DFNB1A representa la herencia autosómica recesiva del gen GJB2 y DFNB1B representa la herencia autosómica recesiva del gen GJB6.

5.1. Genes GJB2 y GJB6

El gen GJB2 codifica la conexina 26, una proteína de 226 aminoácidos (Tabla X.9) (Petit et al., 2001), mientras que el gen GJB6 codifica la conexina 30, una proteína de 261 aminoácidos (Tabla X.10) (Grifa et al., 1999; RCSB-PDB, 2013).

Tabla X.9. Características del gen GJB2

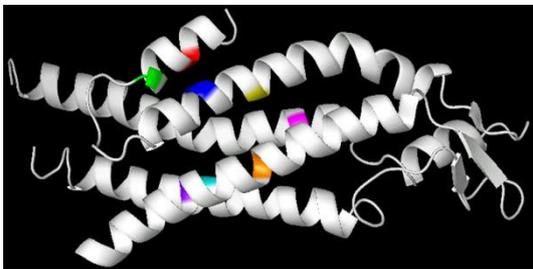
Características	Información	Estructura proteica
Símbolo oficial	GJB2	
Nombre	Proteína de unión gap, conexina 26	
Otros alias	DFNB1	
Cromosoma	13	
Localización	13q11	
# Acceso NCBI	NC_000013.10	
Gen ID	2706	
Tamaño secuencia	5513 bases	
Tamaño proteína	226 aa; 26215 Da	
Localización subcelular	Membrana celular	

[Maeda et al., 2009]

De todas las mutaciones que afectan al gen GJB2, la más conocida y caracterizada es la delección 35delG; es tan importante esta delección que está incluida en el *screening* genético en niños (Farpón & Bañales, 2011). El gran número de estudios genéticos relacionados con el gen que codifica la conexina 26 permitió la identificación de mutaciones relacionadas con la etnicidad y el origen de diversas poblaciones; por ejemplo, 167delT es la mutación más común en la población judía asquenazí, 35delG en caucásicos de ascendencia europea, 235delC en la población japonesa (Rabionet et al., 2000), W24X (G71A) en la población india (Mani et al., 2009), V27I (G79A) en poblaciones hispanas y asiáticas (Pandya et al., 2003; Tang et al., 2006; Samanich et al., 2007), y S199F (C596T) en la población colombiana (Tamayo et al., 2009). Por otro

lado, la delección del(GJB6-D13S1830) en el gen GJB6, es la segunda causa más frecuente en población española (Farpón & Bañales, 2011). La ubicación de las diferentes mutaciones se puede observar en la Figura X.10.

Tabla X.10. Características del gen GJB6

Características	Información	Estructura conexina 26*
Símbolo oficial	GJB6	
Nombre	Proteína de unión gap, conexina 30	
Otros alias	DFNA3	
Cromosoma	13	
Localización	13q12	
# Acceso NCBI	NC_000013.10	
Gen ID	10804	
Tamaño secuencia	10434 bases	
Tamaño proteína	261 aa; 30387 Da	
Localización subcelular	Membrana celular	

[Maeda et al., 2009]

[*] Conexina 26 asociada estructuralmente a la conexina 30.

En el Ecuador, los problemas a nivel auditivo representan el tercer tipo de discapacidad más común, sin tomar en cuenta las discapacidades intelectuales. Está presente en alrededor de 33,828 habitantes, con una tasa de prevalencia de 2,3 por cada 1000 individuos (MSME, 2013). Sin embargo, este dato no diferencia entre individuos afectados por factores ambientales y hereditarios. Esto significa que, en nuestro país, las principales mutaciones causantes de la hipoacusia hereditaria no sindrómica recesiva y sus frecuencias continúan sin ser conocidas. Con los resultados obtenidos en nuestra investigación se espera tener una visión más clara sobre el efecto de las mutaciones de los genes GJB2 y GJB6, relacionadas con el desarrollo de la hipoacusia no sindrómica recesiva en Ecuador y Latinoamérica.

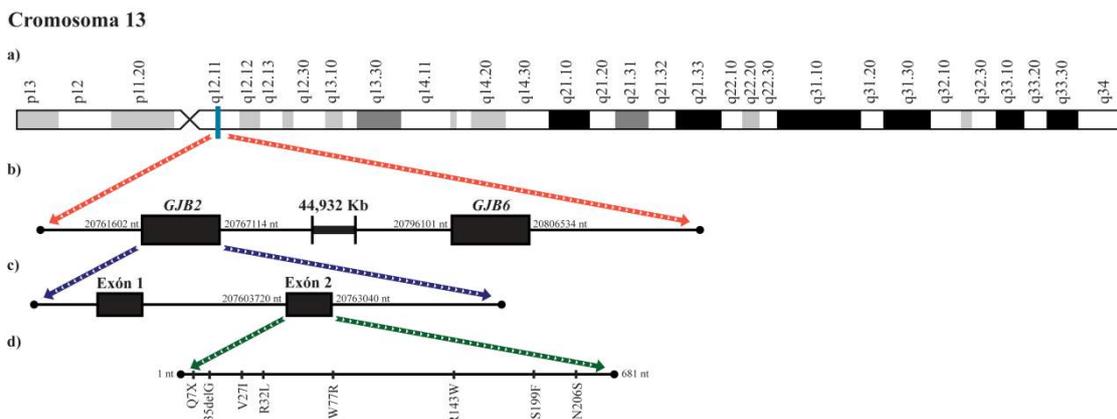


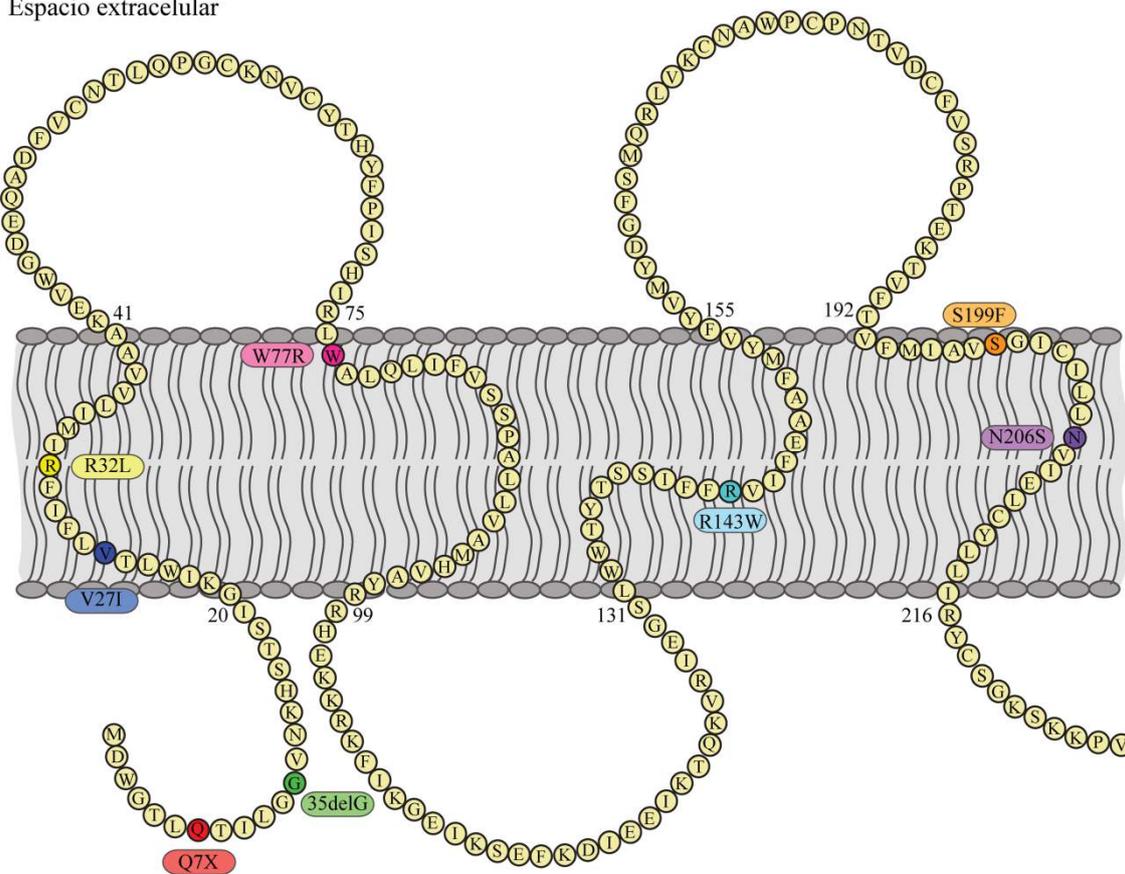
FIGURA X.10. CROMOSOMA 13 HUMANO. Ubicación de los genes GJB2 y GJB6 [GeneCards, 2014; IIB, 2014].

Con el fin de identificar las mutaciones más comunes en el Ecuador, se realizó secuenciación genómica del exón 2 del gen GJB2 (DFNB1A) en 111 individuos. De estas 111 personas en estudio, 26 fueron diagnosticados con hipoacusia y considerados afectados (20 con hipoacusia no sindrómica neurosensorial y 6 parientes de los afectados autocalificados como hipoacúsicos). Junto a este grupo se incluyó a otros dos grupos:

uno denominado sanos, que consta de 57 individuos sin antecedentes familiares con hipoacusia; y el otro grupo de 28 individuos, por ser parientes del grupo de afectados sin hipoacusia fueron denominados familiares. Estos 3 grupos comprendieron la totalidad de la población bajo estudio. Por otro lado, para identificar a la delección del(GJB6-D13S1830) del gen GJB6 (DFNB1B) en esta misma población, se realizó una PCR múltiplex (Cordeiro-Silva et al., 2010).

En la población total de estudio se encontraron 104 alelos mutados en el exón 2 del gen GJB2. De los 104 alelos, 43 fueron patogénicos (29 alelos patogénicos en afectados). En el locus DFNB1A, se encontraron 16 afectados (61,1%), pertenecientes a siete familias, con al menos un alelo patogénico: 13 individuos con dos alelos (50%) y 3 con uno solo (11,5%), varios de estos en heterocigosis compuesta con el polimorfismo no benigno V27I. En los 10 afectados restantes (38,5%), 9 pertenecieron a tres familias donde se halló únicamente el polimorfismo V27I, mientras que 1 individuo perteneció a la única familia sin mutación en el gen GJB2. Cabe mencionar que ningún individuo de la población presentó la delección del(GJB6-D13S1830), siendo ésta tan frecuente en la población española (Farpón & Bañales, 2011). Las siete mutaciones patogénicas halladas en este estudio fueron: Q7X (C19T), 35delG, V27I (G79A), R32L (G95T), W77R (T229C), R143W (C427T), S199F (C596T) y N206S (A617G); además de éstas también se identificó al polimorfismo no patogénico V27I (Figura X.11).

Espacio extracelular



Espacio intracelular

FIGURA X.11. MUTACIONES DE LA CONEXINA MEMBRANAL. Las variantes genéticas presentes en la conexina 26 se encuentran unificadas en la membrana plasmática, espacio intracelular y espacio extracelular (IIB, 2014).

La variante genética más común fue el polimorfismo V27I, del cual se encontraron 61 alelos, equivalente al 58,9% del total, con una distribución homogénea entre los tres grupos: afectados, sanos y familiares; ninguna otra variante fue encontrada entre los sanos. En el aspecto poblacional, la presencia de V27I es relevante comparado a estudios previos en los que se ha visto altas frecuencias de esta mutación en etnias asiáticas e hispanas (Pandya et al., 2003; Tang et al., 2013; Samanich et al., 2007).

La segunda mutación más común fue Q7X, presente en 19 alelos y con una frecuencia del 18,3%. Al considerar solamente las mutaciones patogénicas, ésta viene a ser la más común y la única con individuos en estado homocigoto; se la encontró en estado heterocigoto en siete individuos mientras que tres la tuvieron en estado homocigoto, lo cual corresponde al 38,5% de los afectados. La variación Q7X (C19T) en una mutación sin sentido que ocurre en el codón siete de la secuencia proteica (dominio IC1), produciendo el intercambio de una glicina (CAG) por un codón de parada (UAG), lo cual termina la producción de la proteína prematuramente. Hasta ahora la única referencia de esta mutación fue presentada por Pandya, donde se encontró un solo individuo con esta mutación en heterocigosis, curiosamente este individuo es de origen ecuatoriano (Pandya et al., 2003).

La tercera mutación más común fue R32L, de esta se encontraron 7 alelos totales, equivalente al 6,7%. Viene a ser la segunda mutación patogénica más común; se la encontró en estado heterocigoto en seis individuos afectados distintos (23,1%). Las otras variaciones: 35delG, W77R, R143W, S199F y N206S se encontraron en frecuencias del 2,9% (tres alelos), 4,7% (cinco alelos), 3,8% (cuatro alelos), 2,8% (tres alelos) y 1,9% (dos alelos) de los alelos totales respectivamente.

Tabla X.11. Porcentaje de alelos encontrados en las ocho mutaciones genéticas

Nucleótido	Aminoácido	Mutación	Dominio	No. alelos / alelos totales (%)
C19T	Q7X	Sin sentido	Intracelular 1	19/104 [18,3]
35delG	G12V	Cambio de lectura	Intracelular 1	3/104 [2,8]
G79A	V27I	Cambio de sentido	Transmembranal 1	61/104 [58,9]
G95T	R32H	Cambio de sentido	Transmembranal 1	7/104 [6,7]
T229C	W77R	Cambio de sentido	Transmembranal 2	5/104 [4,8]
C427T	R143W	Cambio de sentido	Transmembranal 3	4/104 [3,8]
C596T	S199F	Cambio de sentido	Transmembranal 4	3/104 [2,8]
G617A	N206S	Cambio de sentido	Transmembranal 4	2/104 [1,9]

Los efectos de las mutaciones se observaron cuando se expresaba una variación patogénica en homocigosis recesiva o en heterocigosis compuesta con otra mutación patogénica. En algunos individuos con mutaciones en estado heterocigoto compuesto con el polimorfismo benigno se presentó hipoacusia, mientras que en otros individuos con la misma variación patogénica en heterocigosis simple no se expresó la enfermedad; para estos casos se encuentra involucrada la penetrancia incompleta.

Los 16 genotipos fueron hallados entre los tres grupos de estudio. Sin embargo, en el grupo sanos se encontraron solamente los genotipos V27I/V27I y V27I/wt (*wild type*), esto refleja su carácter benigno. En cambio, en el grupo familiares se encontraron únicamente genotipos heterocigotos para una sola mutación patogénica o una mutación patogénica en heterocigosis compuesta con el polimorfismo benigno V27I; estos individuos vienen a ser portadores. En el grupo afectados se encontraron 13 individuos en

heterocigosis compuesta con 2 mutaciones patogénicas; la mayoría de estos individuos presentaron hipoacusia profunda. El genotipo Q7X/V27I/R32L, el más común, se encontró en cuatro individuos (Tabla X.12).

Tabla X.12. Número de afectados, sanos y familiares con cada genotipo

Genotipo (n = 16)	Afectos (n = 26)	Sanos (n = 57)	Familiares (n = 28)	Total
Q7X/Q7X	3	-	-	3
Q7X/V27I/R32L	4	-	-	4
Q7X/S199F	3	-	-	3
35delG/W77R	1	-	-	1
W77R/R143W	2	-	-	2
Q7X/V27I	-	-	3	3
V27I/V27I	1	3	5	9
V27I/V27I/R32L	2	-	1	3
V27I/35delG	-	-	1	1
V27I/N206S	-	-	1	1
Q7X/wt	-	-	3	3
V27I/wt	5	19	4	28
35delG/wt	-	-	1	1
W77R/wt	-	-	2	2
R143W/wt	-	-	2	2
N206S/wt	1	-	-	1
Total	22	22	23	67

(WT) Wild type

Este análisis genético permitió la identificación de 8 variaciones alélicas del gen GJB2 y, posteriormente, relacionar la clínica de 13 de los 26 individuos diagnosticados con genotipos homocigotos recesivos o heterocigoto compuestos con 2 mutaciones patogénicas. En cuanto a los individuos que no se logró identificar una causa para su hipoacusia, se cree que hay algún otro gen involucrado relacionado con la heterogeneidad genética.

Es necesario tomar en cuenta el análisis genético como resultado fundamental para pacientes con hipoacusia neurosensorial no sindrómica, ya que provee de información relevante para el consejo genético. Se ha demostrado que individuos con mutaciones ocasionadas en el gen GJB2 y GJB6 se benefician más de los implantes cocleares que los pacientes con hipoacusia hereditarias sin mutaciones en estos genes (Farpón & Bañales, 2011).

11

**INVESTIGACIONES
MOLECULARES
EN EL ECUADOR:
INMUNOLOGÍA**



ā [\ • { ^ ā æ [• ē ! *

CAPÍTULO XI

INVESTIGACIONES MOLECULARES EN EL ECUADOR: INMUNOLOGÍA

La inmunología es el estudio de la defensa del cuerpo ante diversos agentes infecciosos. El ser humano vive rodeado de microorganismos, muchos de ellos causantes de enfermedades. La inmunología es relativamente una ciencia moderna, y su origen se lo atribuye a Edward Jenner (Murphy et al., 2008). La respuesta que generamos contra una infección provocada por un agente infeccioso es conocida como la respuesta inmune. Una respuesta inmune específica, como la producción de anticuerpos contra un patógeno determinado, es conocida como la respuesta inmune adaptativa porque se desarrolla durante el tiempo de vida de un individuo como respuesta a la infección de un patógeno desconocido. En muchos casos, una respuesta inmune adaptativa también resulta en el fenómeno conocido como memoria inmunológica, el cual confiere protección ante una reinfección para toda la vida. Esta es una de las características que distingue a la respuesta inmune adaptativa de la respuesta inmune innata. La inmunidad innata provee protección inmediata ante un amplio rango de patógenos pero no es específica hacia alguno de ellos (Murphy et al., 2008).

En el Ecuador se han realizado diversos estudios relacionados con la caracterización genética de la población. Las investigaciones más relevantes de nuestro grupo son los análisis moleculares de receptores bacterianos en población infectada con *Helicobacter pylori* y los análisis poblaciones de resistencia al virus de la inmunodeficiencia humana.

1. RECEPTORES BACTERIANOS

La bacteria *Helicobacter pylori* es un bacilo Gram negativo, multiflagelado y microaerófilo que coloniza fácilmente el estómago humano (Kusters et al., 2006). Su presencia está relacionada con enfermedades gástricas como úlcera péptica, úlceras duodenales, gastritis; y es considerado como factor de riesgo para el desarrollo de cáncer gástrico. La probabilidad de infección es igual en cualquier estrato social, etnia, sexo o grupo etario, aunque se observa mayor incidencia en países con niveles socio-económicos bajos (Chávez et al., 1998; Castro & Coehlo, 1998; Sempértegui et al., 2007). Estudios realizados en Ecuador demuestran que su frecuencia fluctúa entre el 42,2% y 77% (Cabrera et al., 2002; Debets-Ossenkopp et al., 2003; Gómez et al., 2004).

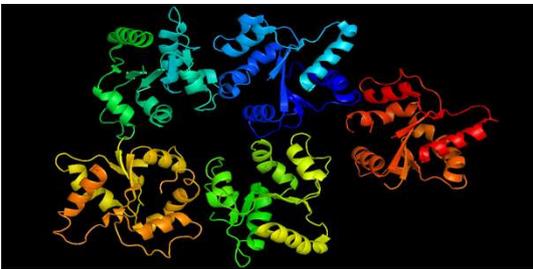
Una respuesta inmune rápida y específica del hospedero es importante para erradicar microorganismos patógenos. Esta respuesta se inicia reconociendo antígenos por medio de receptores presentes en las membranas de células hematopoyéticas especializadas. Las proteínas de membrana son estructuras que ayudan a identificar agentes patógenos y son detonadores de la respuesta inmune. Se reconocen a estos agentes por medio de moléculas llamadas patrones moleculares asociados a patógenos (PMAP). Al producirse una interacción entre estos PMAPs y las proteínas de membrana, se promueve una proliferación y diferenciación de células especializadas en la defensa del hospedero. Entre los receptores más conservados y principales iniciadores de una respuesta inmune innata se destacan los receptores similares a toll (*toll-like*

receptors) (TLR) y los receptores de lectina tipo C (RLC) (Kraehenbuhl & Corbett, 2004; Achyut et al., 2007; Moura et al., 2008).

1.1. Genes TLR

Los TLR son una familia de receptores que se expresan en una gran variedad de tipos celulares y reconocen arreglos específicos de membrana de bacterias Gram negativas. Dentro de esta familia, TLR2 puede reconocer una amplia variedad de PMAPs y su especificidad hacia *H. pylori* se genera cuando interactúa con otros receptores de la familia TLR como TLR1, TLR6; y TLR4, que tienen una alta afinidad por los lipopolisacaridos de bacterias Gram negativas (Tabla XI.1) (Takeuchi et al., 1999; Kawahara et al., 2001; Takeda & Akira, 2003; Gay & Gangloff, 2007).

Tabla XI.1. Características del gen TLR2

Características	Información	Estructura proteica
Símbolo oficial	TLR2	
Nombre	Receptores Toll	
Otros alias	TIL4	
Cromosoma	4	
Localización	4q32	
# Acceso NCBI	NC_000004,11	
Gen ID	7079	
Tamaño secuencia	21803 pb	
Tamaño proteína	784 aa; 89838 Da	
Localización subcelular	Membrana celular	

[Xu et al., 2000; Tao et al., 2002]

En la siguiente figura se determina la ubicación del gen TLR2 en el genoma humano.

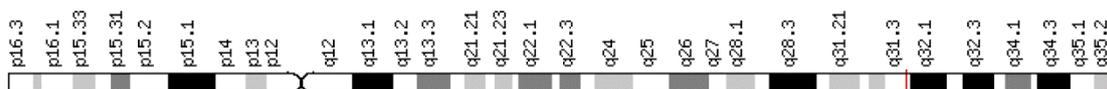
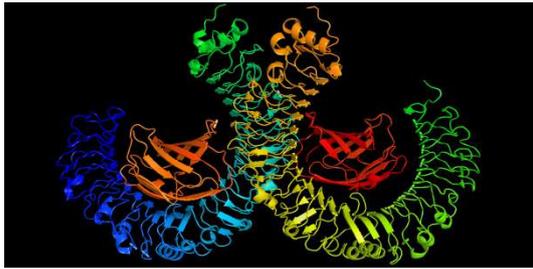


FIGURA XI.1. CROMOSOMA 4 HUMANO. Ubicación del gen TLR2 [GeneCards, 2014].

En la siguiente tabla se detalla información acerca de las principales características del gen TLR4.

Tabla XI.2. Características del gen TLR4

Características	Información	Estructura proteica
Símbolo oficial	TLR4	
Nombre	Receptor Toll	
Otros alias	CD284	
Cromosoma	9	
Localización	9q33	
# Acceso NCBI	NC_000009,11	
Gen ID	7099	
Tamaño secuencia	13309 pb	
Tamaño proteína	839 aa; 95680 Da	
Localización subcelular	Membrana celular	

[Kim et al., 2007; Ohto et al., 2012]

En la siguiente figura se determina la ubicación del gen TLR4 en el genoma humano.

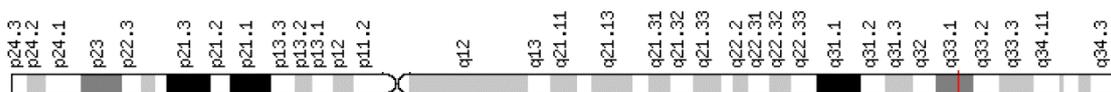
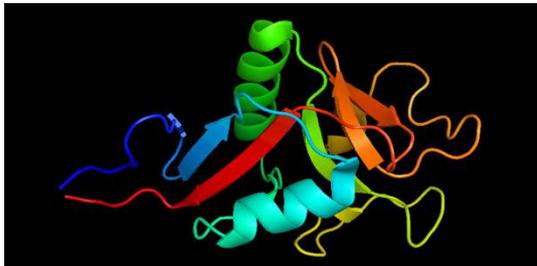


FIGURA XI.2. CROMOSOMA 4 HUMANO. Ubicación del gen TLR4 [GeneCards, 2014].

1.2. Gen CD209

Los RLC son una familia de receptores que reconocen a PMAPs asociados con hidratos de carbono y se caracterizan por ser dependientes de Ca⁺. CD209 es una proteína perteneciente a esta familia y juega un rol importante en la internalización y presentación de antígenos, activación de células T y migración de las células dendríticas (CDs) para la iniciación de una respuesta inmune adaptativa. CD209 actúa como receptor de patógenos para virus, parásitos y bacterias, incluyendo *Helicobacter pylori* (Tabla XI.3) (Zhou et al., 2006; Ryan et al., 2010).

Tabla XI.3. Características del gen CD209

Características	Información	Estructura proteica
Símbolo oficial	CD209	 <p>[Feinberg et al., 2001; 2007]</p>
Nombre	Cluster de diferenciación 209	
Otros alias	DC-SIGN	
Cromosoma	19	
Localización	19p13	
# Acceso NCBI	NC_000019.9	
Gen ID	30835	
Tamaño secuencia	7586 pb	
Tamaño proteína	404 aa; 45775 Da	
Localización subcelular	Membrana celular	

Se han descrito variantes genéticas que disminuyen la interacción entre los receptores y sus antígenos asociados a patógenos. Los polimorfismos en estas proteínas que reducen la capacidad de reconocimiento de moléculas antígenas bacterianas promueven una disminución en la iniciación de la defensa inmune del hospedero. Además, se aumenta la susceptibilidad hacia infecciones y enfermedades relacionadas con la presencia de *H. pylori* tales como inflamaciones gástricas, úlceras y cáncer gástrico (Kraehenbuhl & Corbett, 2004; Texereau et al., 2005; Achyut et al., 2007; Moura et al., 2008).

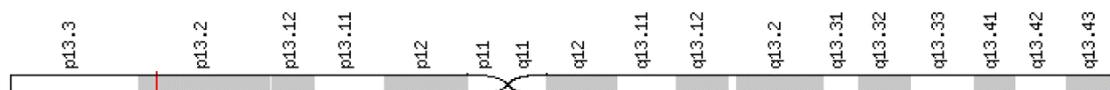


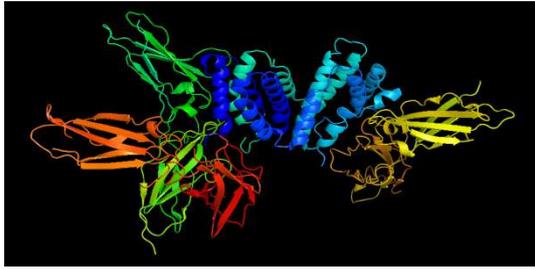
FIGURA XI.3. CROMOSOMA 19 HUMANO. Ubicación del gen CD209 [GeneCards, 2014].

Si la interacción entre el receptor y su ligando (antígeno) se da en forma adecuada, se promueve la producción de citocinas pro-inflamatorias que inician la respuesta celular del hospedero hacia el patógeno y se aumenta la especificidad en el ataque. La activación de la respuesta inmune iniciada por patógenos, y específicamente la causada por *H. pylori*, es modulada principalmente por las citocinas IFN- γ , TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 e IL-18. Todas estas citocinas son conocidas como potentes inductores de linfocitos durante inflamaciones crónicas causadas por esta bacteria (Bodger & Crabtree, 1998; Rad et al., 2002). El IFN- γ aumenta la actividad de las células asesinas (NK), regula la producción de inmunoglobulinas incidiendo sobre los linfocitos B (Carnaud et al., 1999), y ayuda en la activación de las células presentadoras de antígenos (Harris et al., 2000; Frucht et al., 2001), por lo que es una de las principales moléculas reguladoras del sistema inmune al actuar en contra de esta bacteria.

1.3. Gen IFNGR1

Variaciones en el gen que codifica este interferón y su receptor (IFNGR1) han sido asociadas con la susceptibilidad a infecciones bacterianas y con el aumento en el riesgo a desarrollar patologías gastro-duodenales y cáncer gástrico (Tabla XI.4) (Figura XI.12) (Koch et al., 2002; Cheong et al., 2006; Salih et al., 2007; Canedo et al., 2008).

Tabla XI.4. Características del gen IFNGR1

Características	Información	Estructura proteica
Símbolo oficial	IFNGR1	
Nombre	Receptor interferón gamma	
Otros alias	CD119	
Cromosoma	6	
Localización	6q23	
# Acceso NCBI	NC_000006.11	
Gen ID	3459	
Tamaño secuencia	21966 pb	
Tamaño proteína	489 aa; 54405 Da	
Localización subcelular	Membrana celular	

Nuestro grupo de investigación analizó los polimorfismos TLR2 2029C/T, TLR4 896A/G, CD209 -336A/G y IFNGR1 -56C/T, todos ellos relacionados con susceptibilidad a infección bacteriana, hipo-sensibilidad a los lipopolisacaridos de bacterias Gram negativas, disminución en el reconocimiento de PMAPs bacterianos, y aumento en el riesgo de cáncer gástrico, respectivamente (Koch et al., 2002; Martin et al., 2004; Texereau et al., 2005; Barreiro et al., 2006; Cheong et al., 2006; Achyut et al., 2007; Salih et al., 2007; Canedo et al., 2008), y su asociación con la infección a *H. pylori* en un grupo de individuos ecuatorianos.

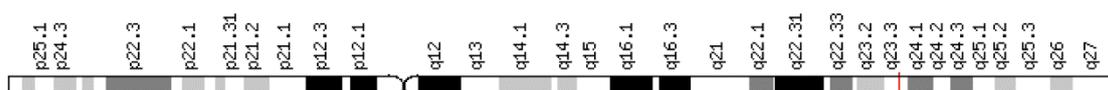


FIGURA XI.4. CROMOSOMA 6 HUMANO. Ubicación del gen IFNGR1 [GeneCards, 2014].

El estudio fue de tipo caso-control, el cual involucró a 258 individuos ecuatorianos de sexo masculino y femenino. Las muestras fueron obtenidas a partir de una población sintomática con diagnóstico clínico de gastritis: dolor crónico y recurrente en la mitad del abdomen, náusea, distensión abdominal o hinchazón, especialmente después de la ingesta de comida. Fueron aisladas del estudio las muestras de personas sin la sintomatología antes mencionada. Todas las biopsias estudiadas fueron obtenidas por medio de endoscopías. Para determinar la presencia de *Helicobacter pylori* en cada paciente se realizó una PCR del gen bacteriano 16S ARNr. Se obtuvieron 70 hombres y 75 mujeres, con una edad media de 45 años \pm desviación estándar (DE) 13,8. El grupo control estuvo conformado por 55 hombres y 58 mujeres, con edad media de 50 años \pm DE 16,9. Todos los individuos pertenecieron al mismo grupo étnico (mestizos).

Las muestras biológicas fueron agrupadas de acuerdo a la lesión gástrica y clasificadas según el resultado histopatológico. Las observaciones histopatológicas fueron determinadas conforme al taller internacional que evaluó y revisó la clasificación del Sistema de Sidney para el reporte de gastritis (Dixon et al., 1997). Fueron determinados 5 estadios dependiendo de la levedad o gravedad del daño observado (del más leve al más grave): gastritis crónica no atrófica con presencia de úlcera, gastritis crónica atrófica, metaplasia intestinal, displasia y cáncer gástrico.

1.4. Resultados y discusión

Se obtuvo un producto de PCR de 522 pb en 145 biopsias gástricas de las 258 analizadas; 133 muestras dieron resultados negativos en la PCR y fueron determinadas como el grupo control en este estudio. Las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos para TLR2, TLR4, CD209 e IFNGR1 se muestran en la Tabla XI.5.

Tabla XI.5. Frecuencias alélicas y genotípicas de TLR2, TLR4, CD209 e IFNGR1

Gen	Genotipo	Frecuencias genotípicas			Frecuencias alélicas			
		Hp +	Hp -	Total	Hp +	Hp -	Total	
TLR2	C/C	0,02	0,06	0,04	0,33	0,35	0,34	
	C/T	0,63	0,57	0,60				
	2029C/T	T/T	0,35	0,37				0,36
TLR4	A/A	0,20	0,21	0,21	0,48	0,47	0,48	
	896A/G	A/G	0,56	0,52				0,54
	G/G	0,24	0,27	0,25				0,52
CD209 -336A/G	A/A	0,45	0,47	0,46	0,72	0,73	0,72	
	A/G	0,54	0,51	0,53				
	G/G	0,01	0,02	0,01				0,28
IFNGR1 -56C/T	C/C	0,09	0,17	0,12	0,32	0,44	0,37	
	C/T	0,46	0,54	0,49				
	T/T	0,45	0,29	0,38				0,68

La edad media de los individuos control fue de 50 años, con un rango de entre 17 y 86 años; la mediana en este grupo fue de 50,5. En el grupo infectado se obtuvo una edad media más baja que en los controles, 45 años; y una mediana de 43. El rango de

edad entre afectados es de 15 hasta 88 años. Se determinó la edad media dependiendo del tipo de gastritis presente en los individuos estudiados y se encontró que los individuos infectados presentan menor edad media que los controles. Cabe mencionar que los factores epigenéticos son muy relevantes en la calidad de vida de las personas y en su capacidad de protegerse ante los agentes patológicos externos (Tabla XI.6).

Tabla XI.6. Edad media en individuos infectados y sanos según su histopatología

	Gastritis crónica		Metaplasia intestinal
	Atrófica	No atrófica	
Hp +	42,3	45,2	53,6
Hp -	46,5	54,5	63,1

Se determinaron las diferencias estadísticas entre los grupos sanos y afectados para cada una de las variantes utilizando las pruebas de χ^2 y OR para determinar riesgo de infección (Tabla XI.7).

Tabla XI.7. Análisis de la prueba estadística chi-cuadrado

Genotipo		Hp+ n (frecuencia)	Hp- n (frecuencia)	χ^2 , valor de p
TLR2 2029C/T	CC	3 (0,02)	7 (0,06)	$\chi^2=3,255$; $p=0,195^{NS}$
	CT	91 (0,63)	64 (0,57)	
	TT	51 (0,35)	42 (0,37)	
TLR4 896A/G	AA	29 (0,20)	24 (0,21)	$\chi^2=0,350$; $p=0,840^{NS}$
	AG	81 (0,56)	59 (0,52)	
	GG	35 (0,24)	30 (0,27)	
CD209 -336A/G	AA	65 (0,45)	52 (0,47)	$\chi^2=0,787$; $p=0,675^{NS}$
	AG	78 (0,54)	57 (0,51)	
	GG	1 (0,01)	2 (0,02)	
IFNGR1 -56C/T	CC	13 (0,09)	19 (0,17)	$\chi^2=8$; $p=0,018^*$
	CT	67 (0,46)	61 (0,54)	
	TT	65 (0,45)	33 (0,29)	

(NS) No significativo; (*) Significativo

La variante TLR2 2029C/T no mostró diferencias estadísticas por lo que los alelos C y T estuvieron presentes en la misma frecuencia en los individuos afectados y controles. A pesar que la prueba del OR muestra riesgo del polimorfismo 2029C/T para infección, no existieron diferencias estadísticas entre los grupos. Con respecto al SNP TLR4 896A/G, no se encontraron diferencias estadísticas entre los grupos ni tampoco riesgo de infección. Se observó una baja frecuencia del alelo polimórfico G (1%) de la variante CD209 -336A/G en la población estudiada, por lo que de igual forma no se obtuvieron diferencias estadísticas al correlacionar la distribución genotípica entre afectados y controles. Además, no existió riesgo de infección con los portadores del alelo G.

Al comparar los grupos estudiados y el polimorfismo -56 C/T se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Al realizar la prueba del OR se determinó riesgo de infección entre los individuos heterocigotos portadores del alelo T y homocigotos (Tabla XI.8).

Tabla XI.8. Análisis de odds ratio y polimorfismos genéticos

Polimorfismo	Genotipo	Hp + (n=145)	Hp - (n=113)	OR	95% IC	Valor de p
TLR2 2029C/T	C/C	3	7			
	C/T	91	64	3,3	0,8 - 13,3	0,076 ^{NS}
	T/T	51	42	2,2	0,7 - 11,6	0,135 ^{NS}
	C/T+T/T	142	106	3,1	0,8 - 12,4	0,088 ^{NS}
TLR4 896A/G	A/A	29	24			
	A/G	81	59	1,1	0,6 - 2,2	0,408 ^{NS}
	G/G	35	30	0,9	0,5 - 2,0	0,537 ^{NS}
	A/G+G/G	116	89	1,1	0,6 - 1,9	0,463 ^{NS}
CD209 -336A/G	G/G	1	2			
	G/A	78	57	2,7	0,2 - 30,9	0,79 ^{NS}
	A/A	65	52	2,5	0,2 - 28,3	0,86 ^{NS}
	G/A+A/A	143	109	2,6	0,2 - 29,3	0,82 ^{NS}
IFNGR1 -56C/T	C/C	13	19			
	C/T	67	61	1,6	0,7 - 3,5	0,32 ^{NS}
	T/T	65	33	2,9	1,3 - 6,5	0,018*
	C/T+T/T	132	94	2,1	0,9 - 4,4	0,08 ^{NS}

Para determinar la relación de -56 C/T en presencia de *H. pylori* y el daño gástrico se aplicó el OR en cada uno de los grupos histopatológicos dados por el grado de daño gástrico diagnosticados. Existe un incremento en el riesgo en individuos con genotipos TT más que en los heterocigotos, aunque no son valores significativos. Solo los individuos homocigotos presentaron un riesgo de 8,3 veces a desarrollar gastritis crónica atrófica y la presencia de la bacteria (Tabla XI.9).

Tabla XI.9. Análisis de odds ratio y patologías gástricas

IFNGR1 -56	Gastritis crónica (%)			Control n (%)	Atrófica n (%)	OR (95% IC)	Control n (%)	Metaplasia intestinal n (%)	OR (95% IC)
	Control n (%)	No atrófica n (%)	OR (95% IC)						
C/C	13 (16)	7 (9)	Referencia	5 (31)	6 (12)	Referencia	1 (7)	0	Referencia
C/T	43 (54)	37 (47)	1,6 (0,6-4,5) p = 0,258	9 (56)	20 (44)	1,8 (0,4-7,7) p = 0,31	6 (43)	10 (47,6)	2,6 (1,4-5) p = 0,412
T/T	24 (30)	34 (44)	2,6 (0,9-7,5) p = 0,059	2 (13)	20 (44)	8,3 (1,2-54,4) p = 0,027	7 (50)	11 (52,4)	2,5 (1,4-4,5) p = 0,421
Total	80	78		16	46		14	21	

Varios receptores de membrana están involucrados en el reconocimiento de ligandos exógenos asociados con microorganismos patógenos. Esta interacción ligando-receptor es clave dentro de la iniciación y progresión de una respuesta inmune porque se inicia una respuesta innata inespecífica hacia el patógeno y, dependiendo de la afinidad de estos receptores con su ligando, se progresa a una adaptación específica (Geijtenbeek et al., 2002; Takeda & Akira, 2003; Mogensen, 2009).

La familia TLR reconoce arreglos conservados en patógenos, inicia producción de citocinas en respuesta a una infección y aumenta la especificidad de la respuesta junto con receptores específicos en células dendríticas. TLR2 y TLR4 son receptores de membrana que han sido descritos como identificadores de arreglos bacterianos, ambos compitiendo para interactuar con compuestos específicos de la membrana de *H. pylori*

(Takeuchi et al., 1999; Gay & Gangloff, 2007; Kawahara et al., 2001). TLR2 reconoce una amplia gama de PMAPs, principalmente lipoproteínas de las membranas bacterianas. Esta identificación se especifica cuando TLR2 forma dímeros con TLR1 o con TLR6, haciéndolo muy versátil para interactuar con compuestos bacterianos característicos, pero poco específico para determinadas especies de bacterias (Abreu et al., 2005; Fukata & Abreu, 2008). 2029C/T es una variante genética que se localiza en el dominio intracelular TIR del receptor TLR2, el cual inicia comunicación celular y activa vías específicas para empezar una inflamación. Este polimorfismo reduce la formación de dímeros de TLR2 con TLR1 o TLR6, disminuyendo así la activación del factor de transcripción NF- κ B y, consecuentemente, la producción de citocinas proinflamatorias IL-12, IL-23 y la vía mediada por IFN- γ (Kang & Chae, 2001; Texereau et al., 2005; Mogensen, 2009).

Los portadores de este polimorfismo han sido asociados con susceptibilidad a infección bacteriana pero en este estudio no se encontró relación entre la variante alélica T y el aumento en la susceptibilidad a la infección de *H. pylori*, ni tampoco relación con riesgo de infección. La presencia del alelo T atenúa la cantidad de NF- κ B por lo que se afecta la producción de IL-12 e IFN- γ y se reduce la iniciación de una respuesta inmune innata hacia infecciones bacterianas (Kang & Chae, 2001; Bochud et al., 2003; Texereau et al., 2005). Se esperaría que este alelo disminuya el evento inflamatorio ya que no se producirían las citocinas necesarias para esto, y que el sistema inmune no se active en contra de *H. pylori*, pero los valores aquí obtenidos no son significativos para esta hipótesis. Como se mencionó anteriormente, TLR2 reconoce una amplia gama de arreglos bacterianos conservados pero esto limita a este receptor en su especificidad, por lo que se sugiere que otros receptores están involucrados en una activación de respuesta inmune hacia esta bacteria y la variante 2029C/T de TLR2 no disminuye la producción de citocinas proinflamatorias en presencia de *H. pylori*.

La proteína codificada por TLR4 tiene una mayor afinidad con los LPS de bacterias Gram negativas y las variantes genéticas en este receptor son asociadas con el aumento de susceptibilidad a la infección bacteriana (Schröder & Schumann, 2005; Achyut et al., 2007; El-Omar et al., 2008). El polimorfismo 896A/G altera el dominio extracelular del receptor en la región rica en leucinas. Este cambio de aminoácidos disminuye la interacción entre el dominio extra celular de TLR4 y los LPS, reduciendo la iniciación de la respuesta inmune innata por falta de interacción entre ligando y receptor (Arbour et al., 2000; Schmitt et al., 2002; Moura et al., 2008). De la misma forma que con el polimorfismo 2029C/T de TLR2, 896A/G no presentó valores estadísticos significativos al confrontar los grupos de portadores de *H. pylori* y controles.

A pesar que ambos polimorfismos estudiados están relacionados directa (2029C/T de TLR2) e indirectamente (896A/G de TLR4) con una reducción en la iniciación de las vías pro-inflamatorias, su falta de relación estadística en los individuos ecuatorianos estudiados sugiere, al igual que otros autores (Fukata & Abreu, 2008), que estos receptores no son los únicos en iniciar una respuesta inmune hacia *H. pylori*, y que su amplio rango de reconocimiento a PMAPs disminuye su especificidad al momento de relacionarnos con una especie bacteriana. El reconocimiento de *H. pylori* por receptores del sistema inmune no está en función de uno o varios TLRs, sino que también otros receptores intervienen en reconocer, iniciar y dar una progresión correcta hacia la infección (Algood & Cover, 2006; Andres et al., 2011).

Las células dendríticas son conocidas como las principales presentadoras de antígenos, y constituyen un puente entre la respuesta innata del sistema inmune y una respuesta adaptativa específica hacia los antígenos que ingresan al hospedero (Rossi & Young, 2005). Entre los receptores que interactúan con antígenos bacterianos e inducen esta adaptación, CD209 es conocido por tener una alta afinidad con los lipopolisacáridos de bacterias Gram negativas, internalizar estos arreglos moleculares y presentarlos al complejo MHC para iniciar una respuesta inmune (Zhou et al., 2006). Variantes polimórficas en la región promotora CD209 -336 afectan la unión de factores de transcripción Sp1 y posiblemente otros factores que modulan la actividad de regulación transcripcional de este gen (Liu et al., 2003). El alelo G en esta secuencia influirá negativamente en el nivel de expresión de la proteína con respecto al alelo A, dando como resultado un fenotipo con menor cantidad de receptores en su membrana celular (Sakuntabhai et al., 2005). La frecuencia del alelo G en los individuos ecuatorianos analizados no excede el 1,2% del total.

Los valores no significativos encontrados son el resultado de un número reducido de individuos con este genotipo, y a pesar de que este polimorfismo no pudo ser asociado con la infección de esta bacteria en una población tan reducida, la baja frecuencia del alelo G sugiere que la expresión de CD209 en todos los grupos no es baja, y que la presencia de *H. pylori* no se debe a que el sistema inmune no es capaz de reconocerlo para erradicarlo, sino que otros factores están envueltos con su presencia en el hospedero. La falta de relación estadística encontrada entre las variantes genéticas de receptores de reconocimiento a *H. pylori* y la población bajo estudio demuestra que estos polimorfismos no interfieren con el reconocimiento de los antígenos bacterianos, lo que indica que se da una iniciación adecuada de la respuesta inmune si la bacteria interactúa con el epitelio.

En esta iniciación de la respuesta inmune en contra de *H. pylori* se producen citocinas inflamatorias como IL-1, IL-2, IL-6, IL e IFN- γ , que ayudan a la activación, diferenciación y proliferación de macrófagos, neutrófilos y linfocitos Th1 (Suerbaum & Michetti, 2002; Rad et al., 2004). Variantes alélicas a nivel de regiones promotoras en citocinas han sido relacionadas con susceptibilidad y severidad de varias enfermedades infecciosas (Hurme et al., 1998; Koch et al., 2002). La variante -56 C/T de la región promotora de IFNGR1 afecta al sitio de iniciación transcripcional, relacionándose al alelo T con una mayor expresión del gen IFNGR1 en comparación con el alelo G (Merlin et al., 1997; Rosenzweig et al., 2004; Canedo et al., 2008). Los resultados obtenidos para IFNGR1 -56 C/T demuestran una mayor frecuencia del genotipo TT en individuos infectados que en individuos sanos (45% y 29%, respectivamente) dando diferencias significativas al momento de confrontar los datos entre grupos. *Helicobacter pylori* inicia una respuesta inmune mediada por linfocitos Th1 en donde IFN- γ se produce para un crecimiento celular apropiado (Ernst & Gold, 2000).

Por otro lado, la infección inicia una respuesta mediada por neutrófilos que induce fagocitosis, activa la capacidad microbicida y ayuda en la infiltración de neutrófilos en el área afectada. La activación de neutrófilos y macrófagos durante la respuesta inmune resulta en la producción de moléculas altamente reactivas que dañan a la célula debido a la peroxidación lipídica, así como también a la oxidación de proteínas y ADN (Bodger & Crabtree, 1998; Rad et al., 2002). Se ha propuesto que el daño a nivel de tejido es una consecuencia de esta acción ya que la extensión de la lesión de la mucosa se relaciona con el grado de infiltración de neutrófilos (Pearl-Yafe et al., 2007).

El riesgo de infección obtenido para los individuos homocigotos TT (OR = 2,9) puede relacionarse con la alta expresión de esta citocina: teniendo en cuenta que un alto grado de infiltración neutrofílica y aislamiento de macrófagos son estimulados por una mayor cantidad de esta molécula con el fin de evitar infección, el daño celular causado por este proceso puede afectar la eficacia del sistema inmune para erradicar la invasión bacteriana, y una respuesta mediada por esta citosina, y relacionada con el genotipo TT, puede no ser eficiente para evitar la colonización. El alelo T y la sobre-expresión de este receptor no solo han sido relacionados con la infección de *Helicobacter pylori* (Thye et al., 2003), su presencia también se asocia con infección a *Plasmodium falciparum* (Jülicher et al., 2003), y con protección a la malaria (Koch et al., 2002).

La continua interacción de la bacteria con la mucosa gástrica promueve el desarrollo de condiciones adversas que pueden terminar en cáncer (Takeuchi et al., 1999; Kawahara et al., 2001; Gay & Gangloff, 2007; Moura et al., 2008). La alta frecuencia del alelo T en individuos infectados indica que el IFN- γ promueve una sobre-expresión de los linfocitos Th1 y neutrófilos en las áreas en donde la bacteria se encuentra, y por lo tanto se induce al daño celular (El-Omar et al., 2003; Rad et al., 2004). Partiendo de esta hipótesis, se aplicó una prueba de riesgo para determinar si los portadores del alelo T tienen riesgo a desarrollar patologías gástricas debido al daño celular causado por la alta expresión de IFN- γ . A pesar de que en el momento de subdividir, por diagnóstico histopatológico, se obtuvieron grupos pequeños, los individuos con el genotipo TT mostraron un riesgo de 8,3 veces para desarrollar gastritis crónica atrófica (OR = 8,3). Se ha demostrado que este SNP se asocia con un incremento en el riesgo a desarrollar carcinoma gástrico (Canedo et al., 2008), por lo que la presencia del polimorfismo -56C/T sugiere que el daño inducido como consecuencia del alelo T y la presencia de *Helicobacter pylori* se relaciona con etapas previas del evento de carcinogénesis en los individuos ecuatorianos estudiados.

En conclusión, los polimorfismos genéticos analizados para los receptores que reconocen PMAPs bacterianos no fueron significativos en este estudio, por lo que *H. pylori* es una bacteria reconocida en forma adecuada y su presencia en el hospedero no se asocia con estas variantes. El polimorfismo proinflamatorio IFNGR1 -56C/T se asoció con susceptibilidad a la infección de *H. pylori*, ya que se promueve daño celular y se reduce la eficiencia de erradicación del sistema inmune.

Para mayor información, la investigación denominada *Asociación de variantes genéticas en receptores de membrana relacionados con respuesta inmunitaria por Helicobacter pylori en individuos ecuatorianos* se publicó en la *Revista Metro Ciencia* en el año 2013 (Cabrera et al., 2013).

2. VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA

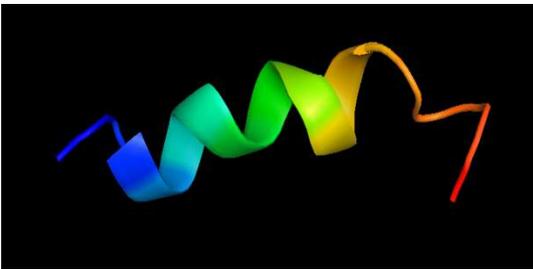
El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) ataca al sistema inmunitario y debilita los sistemas de vigilancia y defensa contra las infecciones y algunos tipos de cáncer. A medida que el virus altera la función y destruye a las células inmunitarias, la persona infectada se torna gradualmente inmunodeficiente. La función inmunitaria se suele medir mediante el recuento de células CD4. La inmunodeficiencia entraña una mayor sensibilidad a diversas infecciones y enfermedades que las personas, con un sistema inmunitario saludable, pueden combatir. La fase más avanzada de la infección

por el VIH se conoce como síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) y puede tardar entre 2 y 15 años en manifestarse, dependiendo del sujeto. El SIDA se define por la aparición de ciertos tipos de cáncer, infecciones u otras manifestaciones clínicas graves (OMS, 2011).

2.1. Genes CCR5, CCR2 y CXCL12

El VIH requiere un coreceptor para ingresar a las células blanco en adición a las CD4 (Levy, 1996). La C-C quimiocina receptora de tipo 5 (CCR5) (Tabla XI.10) (Figura X.5) y la C-X-C quimiocina receptora de tipo 4 (CXCR4) han sido identificadas como los mejores coreceptores del macrófago-trópico y la línea celular T-trópico para las cadenas de VIH-1, respectivamente (Broder & Collman, 1996). El descubrimiento de la delección de 32 pb en el *open reading frame* (ORF) del gen CCR5 (CCR5Δ32) y su relación con resistencia a la infección y retraso en el comienzo del SIDA, han generado una intensiva búsqueda de variantes alélicas adicionales en el sistema de quimiocinas receptoras (Dean et al., 1996; Samson et al., 1996). Sin embargo, no se ha demostrado la presencia de otra variante que afecte la transmisión del VIH, y solo unas pocas variantes han sido asociadas con un mejor pronóstico en los pacientes infectados con VIH y diagnosticados con SIDA; entre ellas están la transición de G a A en el ORF del gen CCR2 (CCR2-V64I) y la transición G a A en la región no codificante 3' (UTR) del gen CXCL12 (Smith et al., 1997; Mummidi et al., 1998; Berger et al., 1999; Magierowska et al., 1999).

Tabla XI.10. Características del gen CCR5

Características	Información	Estructura proteica
Símbolo oficial	CCR5	
Nombre	Quimiocina receptora 5 (C-C)	
Otros alias	CD195	
Cromosoma	3	
Localización	3p21	
# Acceso NCBI	NC_000003.11	
Gen ID	1234	
Tamaño secuencia	6065 bases	
Tamaño proteína	352 aa; 40524 Da	
Localización subcelular	Membrana celular	

[Bradley et al., 2005; Schnur et al., 2011]

En la siguiente figura observamos la presencia del gen CCR5 en la región 3p21 del cromosoma 3 humano.

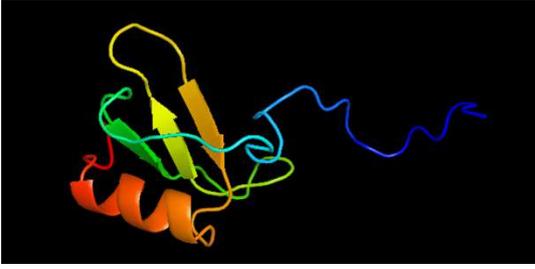


FIGURA XI.5. CROMOSOMA 3 HUMANO. Ubicación del gen CCR5 [GeneCards, 2014].

La variante CCR5Δ32 está envuelta en la pérdida de 3 de los 5 dominios transmembranales del receptor CCR5 (McNicholl et al., 1997); además, este alelo confiere resistencia a la transmisión de las cadenas de VIH R5 en individuos

homocigotos y ejerce un retraso de 2 a 4 años en el comienzo del SIDA en individuos que acarrean el alelo, el cual demuestra un efecto dominante (Smith et al., 1997; Mummidi et al., 1998). Se ha demostrado que los individuos que presentan el polimorfismo SDF1 801 G-A ejercen un efecto de protección sobre la enfermedad (Magierowska et al., 1999; Brambilla et al., 2000) (Tabla XI.11).

Tabla XI.11. Características del gen CCR2

Características	Información	Estructura proteica	
Símbolo oficial	CCR2		
Nombre	Quimiocina receptora 2 [C-C]		
Otros alias	CD192		
Cromosoma	3		
Localización	3p21		
# Acceso NCBI	NC_000003,11		
Gen ID	729230		
Tamaño secuencia	7195 bases		
Tamaño proteína	374 aa; 41915 Da		
Localización subcelular	Membrana celular		
			(Shi et al., 2002)

En la siguiente figura observamos la presencia del gen CCR2 en la región 3p21 del cromosoma 3 humano.



FIGURA XI.6. CROMOSOMA 3 HUMANO. Ubicación del gen CCR2 [GeneCards, 2014].

La frecuencia de estas variantes, especialmente CCR5Δ32, ha sido estudiada en diferentes poblaciones (Martinson et al., 1997; Magierowska et al., 1998). Existe una limitada información en la frecuencia de estos alelos en poblaciones de América del Sur, es por ello que nuestro grupo de investigación realizó un estudio de las variantes alélicas CCR5Δ32, CCR2-64I y CXCL12 (Tabla XI.12) (Figura XI.7) en individuos ecuatorianos sanos e infectados con VIH, con el objetivo de caracterizar a la población y determinar sus frecuencias alélicas.

Tabla XI.12. Características del gen CXCL12

Características	Información	Estructura proteica	
Símbolo oficial	CXCL12		
Nombre	Quimiocina ligando 12 [C-X-C]		
Otros alias	SDF1		
Cromosoma	10		
Localización	10q11		
# Acceso NCBI	NC_0000,10		
Gen ID	6387		
Tamaño secuencia	88904		
Tamaño proteína	93 aa; 10666 Da		
Localización subcelular	Secretado		
			(Murphy et al., 2009)

En la siguiente figura observamos la presencia del gen CXCL12 en la posición 10q11.



FIGURA XI.7. CROMOSOMA 10 HUMANO. Ubicación del gen CXCL12 [GeneCards, 2014].

Para la variante CCR5Δ32 se analizaron 295 individuos afectados y para las variantes CCR2-Δ64I y CXCL12 se analizaron 222 individuos sanos. Además, se estudiaron las variantes genéticas a 50 individuos mestizos infectados con VIH. El promedio de edad de las personas infectadas fue de 35 años. El tiempo medio de infección con VIH fue de 36 meses y se lo calculó mediante el conteo de células CD4.

2.2. Resultados y discusión

Se encontró una baja frecuencia (0,005) del alelo CCR5Δ32 en nuestra población, al ser comparada con frecuencias de población similar como Colombia (0,038 y 0,027) (Rugeles et al., 2001); pero concuerda con frecuencias en poblaciones como Venezuela (0,000), grupos indígenas de Brasil (0,000), población nativa del centro de Asia (0,005) y Sudáfrica (0,001) (Martinson et al., 1997; Lebouté et al., 1999).

Se encontró una frecuencia relativamente alta del alelo CCR2-64I (0,166) (Tabla XI.13). Este alelo ha sido reportado con alta frecuencia en población de África y baja frecuencia en población de Europa (Smith et al., 1997; Mummidi et al., 1998). Además, estudios en otras poblaciones han demostrado que las frecuencias alélicas para CCR2-64I varían ampliamente en diferentes poblaciones alrededor del mundo (0,000-0,570), por lo que el alelo CCR2-64I no puede ser asociado con un grupo étnico específico (Smith et al., 1997).

Tabla XI.13. Frecuencias de CCR5Δ32, CCR2-64I y SDF1-3´A

Polimorfismos	Grupos	Frecuencias genotípicas			Frecuencias alélicas
		+/+	+/-	-/-	
CCR5Δ32	Sanos	0,99	0,01	0,00	0,005
	VIH	1,00	0,00	0,00	
CCR2-264I	Sanos	0,76	0,18	0,06	0,166
	VIH	0,40	0,56	0,04	
SDF1-3´A	Sanos	0,18	0,69	0,13	0,48
	VIH	0,12	0,68	0,20	

Para la variante SDF1-3´A se encontró una frecuencia de 0,480. Esta frecuencia es inusualmente alta y es comparable a las frecuencias reportadas por varias poblaciones en Asia (0,43), Australia (0,54) y en hispanos que viven en Estados Unidos (0,4) (Berger et al., 1999). Así como CCR2-64I, las frecuencias alélicas para el polimorfismo SDF1 801 G-A varían ampliamente y no han sido asociadas con una población o grupo étnico específico.

A pesar que el número de individuos infectados analizados es reducido (50), se encontró una tendencia en la influencia de estos alelos con la progresión de la enfermedad, a través de un período de 40 meses. Estudios previos han demostrado que el alelo CCR2-64I ejerce su efecto protector en todos los individuos ecuatorianos mestizos que llevan esta mutación (Paz-y-Miño, 1998).

Al analizar los efectos del alelo SDF1-3´A en los individuos en estudio con VIH, no se confirmó una relación entre los efectos positivos o negativos de este alelo en individuos 3´A/3´A. Estudios previos han demostrado que individuos homocigotos para el alelo SDF1´A demuestran una mejor prognosis para la enfermedad y una baja progresión de SIDA. Nuestro estudio no confirma algún posible efecto generado por este alelo, porque individuos homocigotos no demostraron diferencias significativas con el resto del grupo.

En contraste con el conocido efecto protector del alelo CCR5Δ32 y el amplio conocimiento acerca de sus principios biológicos, continúa siendo incierto el efecto de los alelos CCR2-64I y SDF1-3´A en la prognosis de la enfermedad. De cualquier forma, la infección con VIH y la asociación del SIDA son mecanismos complejos que envuelven una gran cantidad de factores tanto del virus como del hospedero.

Para mayor información, la investigación denominada *CCR5Δ32, CCR2-64I y SDF1-3´A Polymorphisms Related to Resistance to HIV-1 Infection and Disease in the Ecuadorian Population*, se publicó en la revista científica *Human Biology* en el año 2005 (Paz-y-Miño et al., 2005a).

3. SISTEMA DE ANTÍGENOS LEUCOSITARIOS HUMANOS

Las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad, también llamadas antígenos leucocitarios humanos (HLA), son el producto de un conjunto de genes que juegan un papel fundamental en la discriminación entre lo propio y lo extraño. Se localiza en el locus 6q21 en humanos y gracias a la aplicación de herramientas en biología molecular se ha establecido que este complejo posee alrededor de 200 genes, 4556 alelos y es considerada la familia de genes más polimórfica en la especie humana (Figura XI.8) (Yamamoto & Kazuo, 2000).

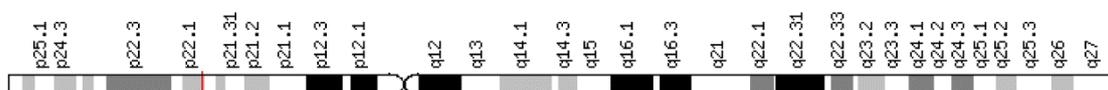


FIGURA XI.8. CROMOSOMA 6 HUMANO. Ubicación del gen HLA [GeneCards, 2014].

Existen dos tipos génicos en este complejo denominados clase I y II. Hasta la década de los noventa este tipo de sistema tuvo gran auge en la antropología forense, ya que eran usados como marcadores en las pruebas de filiación. Hoy en día ha aumentado el interés en realizar la descripción de este complejo génico, el HLA de un individuo, ya que tiene gran importancia en la práctica de trasplante de órganos (Maldonado, 2007). Las frecuencias poblacionales de los genes y antígenos del HLA en humanos, constituye la referencia necesaria para los estudios de asociación HLA-enfermedad, por lo que es

importante la determinación de estos marcadores genéticos. Con estas frecuencias estimadas para una población particular, dicha información resulta útil en estudios antropológicos que permiten inferir sobre el origen de las poblaciones (Neefjes et al., 2011).

El amplio desarrollo en la caracterización de marcadores moleculares específicos del cromosoma Y y del ADN mitocondrial ha permitido reconocer linajes de origen geográfico o étnico en la población (Bailliet et al., 1994; Dipierri et al., 1998; Alves-Silva et al., 2000), mostrando, en los análisis de herencia uniparental en comunidades indígenas sudamericanas, que cerca del 90% de los amerindios actuales derivan de un único linaje paterno fundador que colonizó América desde Asia a través del estrecho de Bering hace unos 22000 años (Bianchi & Bailliet, 1997). Siendo estos resultados similares a otros grupos de investigación (Santos et al., 1999). Estas teorías intentan explicar el poblamiento de América, ampliamente entendida (América del Norte, América Central y América del Sur).

Por otro lado, en lo que respecta a la herencia exclusivamente materna se determinó la existencia de 7 a 13 linajes mitocondriales específicos de poblaciones indígenas americanas (Bianchi & Bailliet, 1997; Santos et al., 1999). Mientras que el estudio en diferentes poblaciones europeas, africanas y asiáticas evidenció un número igual o mayor de linajes paternos o maternos (Ballinger et al., 1992; Torroni et al., 1996).

El uso de la PCR para la caracterización del ADN ha proporcionado una poderosa herramienta de varios marcadores genéticos como el HLA. Los genes DQ1, LDLR, GYPA, HBG, D7S8 y D1S80 han sido extensamente estudiados en varias poblaciones iberoamericanas (Morales et al., 2004). En lo que a esto respecta, los datos de HLA pueden ser más informativos que los del cromosoma Y o del ADN mitocondrial (Alves-Silva et al., 2000), ya que permite el análisis de ambos linajes. Tanto las frecuencias como las genealogías pueden ser estudiadas para comparar poblaciones. Algunos autores han comparado las frecuencias alélicas de HLA de diversos grupos étnicos en todo el mundo. Estudios realizados sobre HLA en los primeros pobladores de América, muestran que los alelos DRB1 de amerindios y sudamericanos son casi específicos. Los alelos DRB1 *04:11 y DRB1 *04:17 se han encontrado solamente en las poblaciones estudiadas de América del Sur. Por su parte, las poblaciones norteamericanas comparten alelos DRB1 más con poblaciones de Asia, concordando con la existencia de flujo génico entre amerindios y personas de Siberia y de las Islas del Pacífico. En nuestro continente se han genotipificado diversos grupos étnicos con algunos marcadores moleculares, mostrando los ancestros compartidos y el pasado migratorio relevante del origen cultural y la diversidad biológica de los nativos americanos (Paz-y-Miño, 2009). Genetistas de Perú, Brasil, Bolivia y Ecuador han intercambiado datos de trabajos propios que permitieron entender el origen de sus pueblos. También se han realizado genotipificado de HLA en población argentina, chilena, peruana, colombiana, venezolana y brasileña, mostrando los diferentes haplotipos de HLA que aparecen en estos países (Paz-y-Miño, 2009).

En Ecuador, diversos estudios han arrojado datos muy interesantes sobre etnicidad y mestizaje entre kichwas, negros y mestizos, permitiendo entender más sobre el origen de nuestra población (Paz-y-Miño, 2009); trabajos sobre enfermedades autoinmunes que afectan a nuestra población se han realizado mediante la

caracterización del sistema HLA, identificando que el HLA DR4 está presente en el 76,7% de los individuos afectos y el 21% en los individuos control, confirmando la asociación entre el HLA DR4 y la artritis reumatoidea (Aguirre et al., 2011). Otro estudio comparó el complejo HLA en poblaciones afroecuatorianas y cayapas, los cuales se encontraron infectados por *Onchocerca volvulus*, mostrando una fuerte evidencia relacionada con el papel protector de DQA1 *0401 contra la oncocercosis. Los alelos HLA DQA1 *0102 y *0103 parecen representar factores de riesgo en los afroecuatorianos, mientras que HLA DQA1 *0301 es sólo un alelo de susceptibilidad sugerente en cayapas (De Angelis et al., 2012).

En nuestro país existen diversas poblaciones indígenas representando el 25% del total poblacional del Ecuador (INEC, 2013). En la provincia de Chimborazo existe el mayor porcentaje de población indígena del país con el 17,1% de habitantes autoidentificados como indígenas. Uno de sus pueblos étnicos es el kichwa-puruhá, grupo que tiene una población aproximada de 400000 habitantes, que se encuentran distribuidos en la Sierra central. La organización política está dispuesta en grupos familiares unidos por comunas; sus habitantes están agrupados en alrededor de 23 comunidades (CODENPE, 2013). Este grupo indígena es posterior al año 1200 de la era cristiana; sus deidades tutelares eran los volcanes Chimborazo y Tungurahua y, según sus creencias, la unión de ambos volcanes permitió la formación del pueblo puruhá. Desde sus orígenes fueron agricultores que vivieron en pequeños poblados cultivando las laderas aterrazadas de las montañas y de los valles interandinos; su alimentación se basa principalmente en quinua y maíz. Entre su producción agrícola constaba la coca, algodón y ají (CODENPE, 2013). Actualmente, conservan sus vestidos como el poncho rojo de lana con rayas y sombrero; las mujeres el anaco de paño poliéster o casimir sujetado con una faja o cumbi, bayeta o rebuso sujetado al pecho con collares y con pulseras que en las fiestas cambian por colores más llamativos.

La caracterización y la distribución de los genes HLA en la población puruhá son totalmente desconocidas, por lo que esta caracterización genética constituye el primer acercamiento, en este campo, con esta comunidad ecuatoriana.

3.1. Resultados y discusión

La tipificación del HLA de clase I en la población puruhá mostró la presencia de 8 alelos en HLA A y 17 alelos HLA B. En este grupo la frecuencia más alta fue registrada para HLA A *02 (39,68%), A *24 (30,95%). Para el locus B se observó la mayor frecuencia de los alelos B *35 (44,44%), B *40 (8,73%). Para los alelos de clase II, se demostró la presencia de 14 alelos HLA DR y 9 alelos DQ. En este grupo, la frecuencia más alta se registró para DR1 *04 (19,95%), 1 *08 (15,08%), 1 *14 (15,08%). Para el locus DQ se observó 1 *03 (30,95%), 1 *04 (19,84%).

Con respecto a las frecuencias genotípicas con mayor porcentaje observados en la población: A *02, *04 (34,9%); B *35, 35 (14,3%); DR 1*08, 1*11 (14,4%); y DQ 1*04, 1*06 (17,5%).

Como discusión, en este estudio se analizaron las frecuencias alélicas del MHC de clase I y II en población étnica puruhá de Ecuador. Se trabajó con un universo de 63 individuos autoidentificados como nativos puruhá de la provincia de Chimborazo, pertenecientes a las comunidades de: Gatazo Chico 18 (26%), Atapo 16 (23,3%) y

Columbe 35 (50,7%). La edad promedio en el grupo de estudio fue de 40 años, con un número mayor de mujeres que de hombres (48) 65% y (24) 35%, respectivamente.

Tabla XI.14. Frecuencias alélicas de HLA

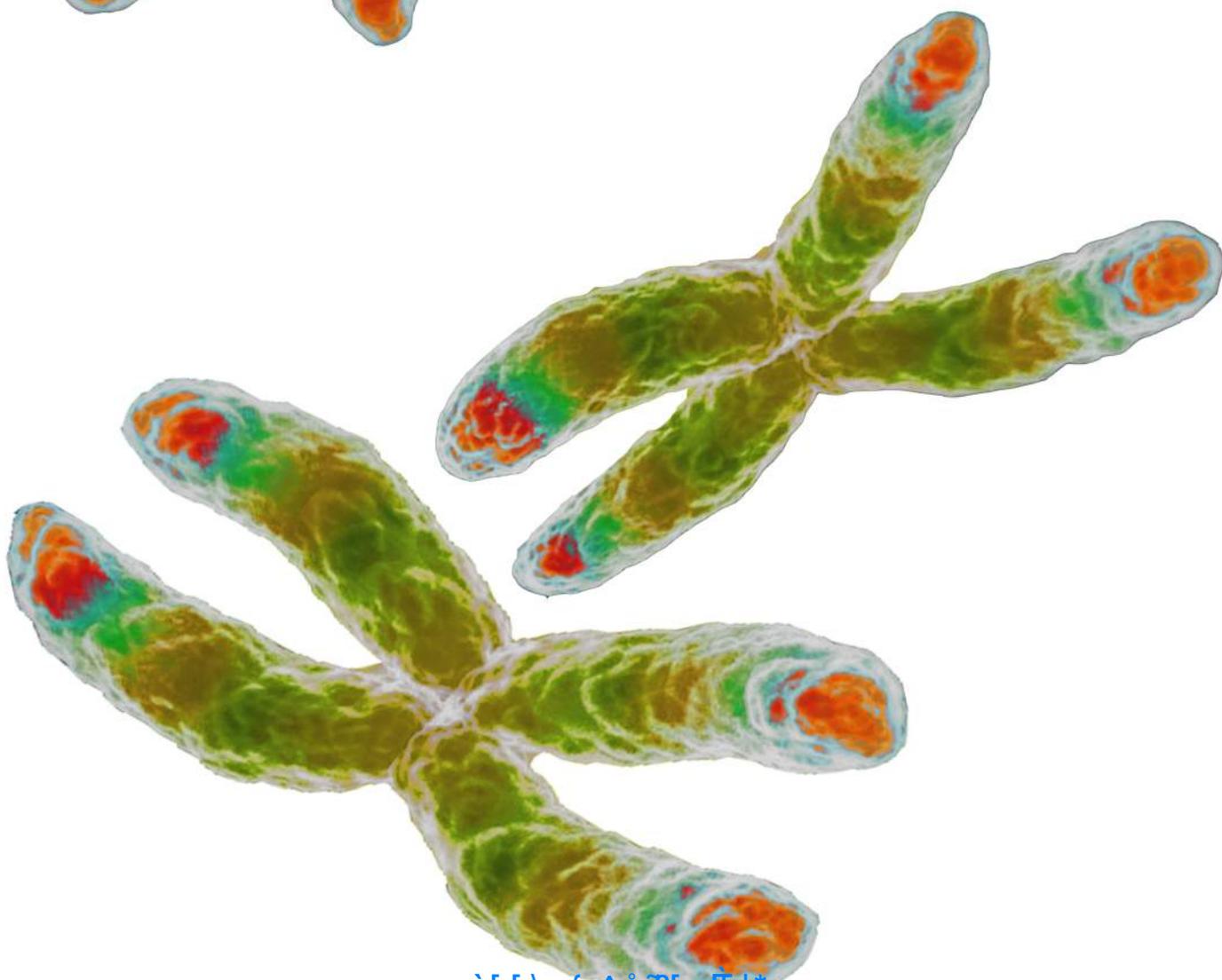
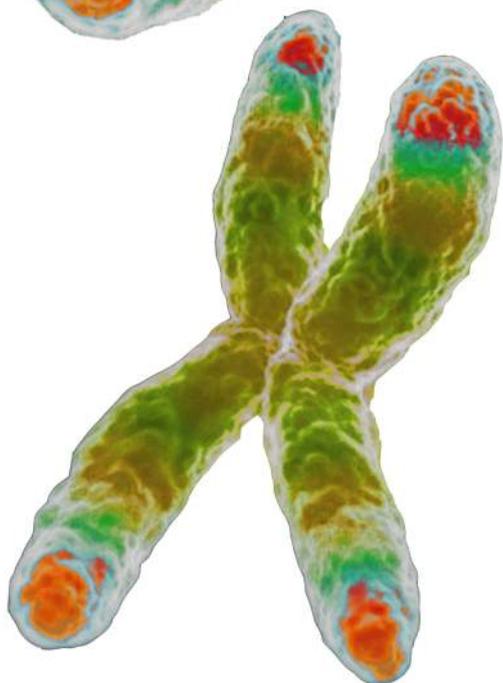
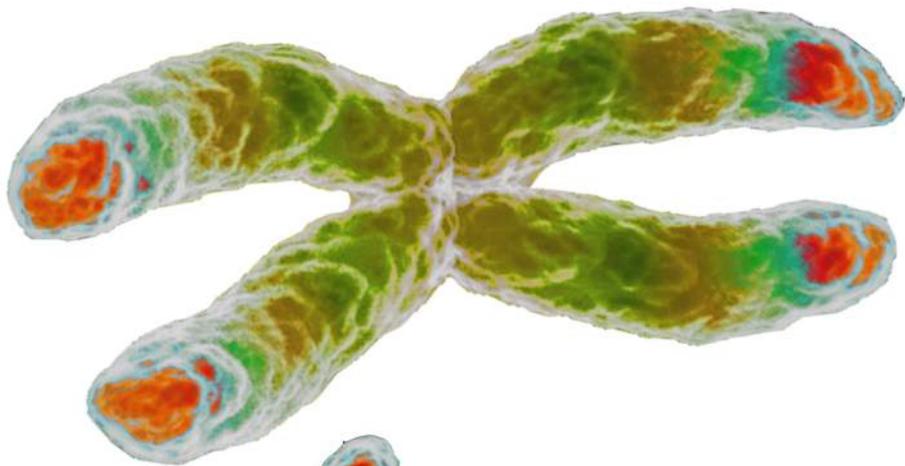
Alelos	Frecuencia	
	Número	Porcentaje (%)
Locus HLA-A		
*01	13	0,10
*02	50	0,39
*03	8	0,06
*04	2	0,02
*24	39	0,31
*29	1	0,01
*48	6	0,05
*68	7	0,06
Locus HLA-B		
*04	4	0,03
*07	2	0,02
*15	7	0,06
*18	1	0,01
*25	3	0,02
*35	56	0,44
*38	1	0,01
*39	5	0,04
*40	11	0,09
*41	5	0,04
*46	5	0,04
*49	1	0,01
*52	10	0,08
*53	2	0,02
*54	3	0,02
*57	4	0,03
*58	6	0,05
Locus HLA-DR		
1*01	12	0,09
1*03	5	0,04
1*04	24	0,19
1*07	6	0,05
1*08	19	0,15
1*09	3	0,02
1*10	1	0,01
1*11	9	0,07
1*13	9	0,07
1*14	19	0,15
3*01	2	0,02
3*02	2	0,02
4*01	13	0,10
5*01	2	0,02

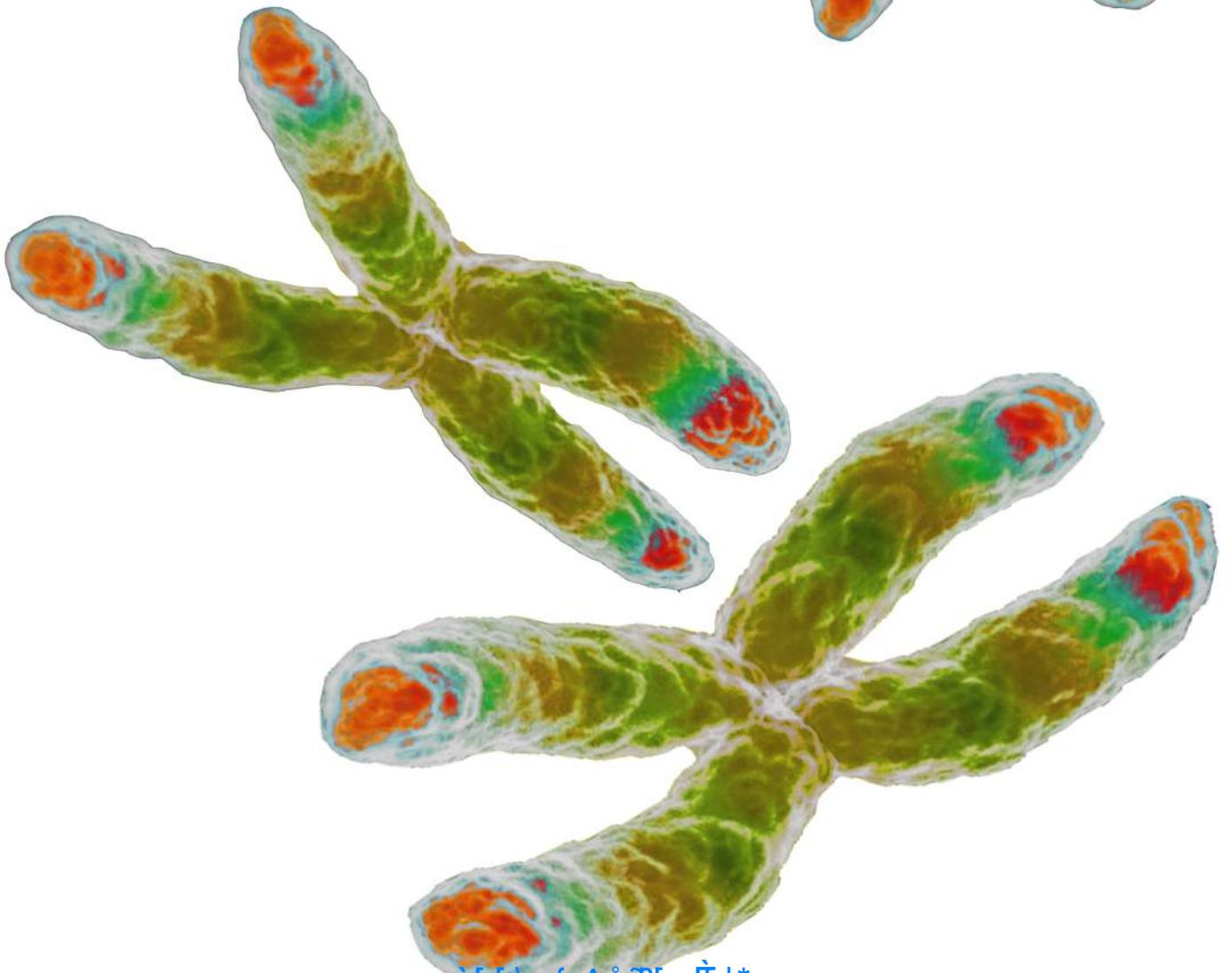
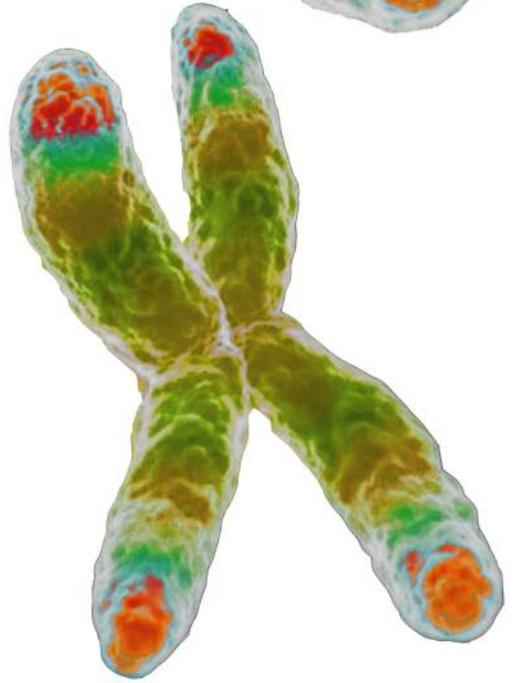
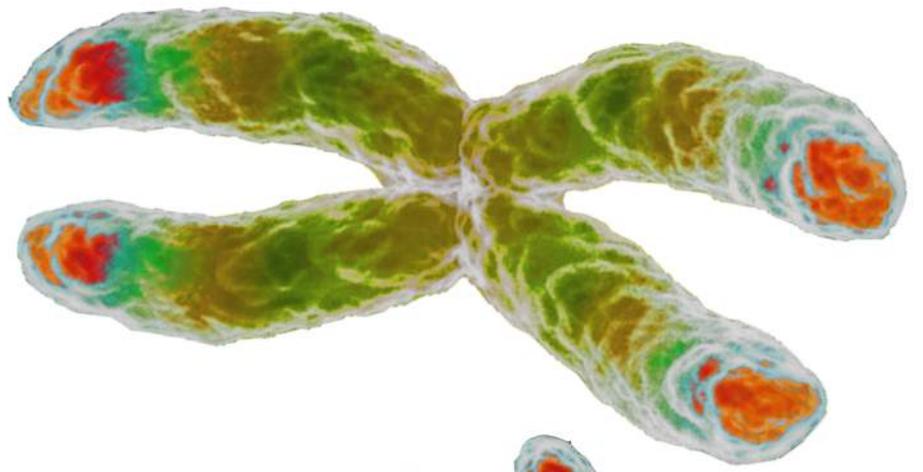
Al analizar los resultados obtenidos y compararlos con frecuencias alélicas reportados en poblaciones étnicas de América Latina, encontramos que en Colombia, donde se analizaron las frecuencias del complejo HLA clase I en población motilón bari, se obtuvo una alta frecuencia de los alelos A *02 (47,14%), A *24 (47,14%) y B *65 (40%), B *8 (32,86%) (Oassa et al., 2009), en el mismo país se reportó para población

mestiza en trasplante A *02, A *24, B *35 (Oassa et al., 2009); todos estos alelos se reportan como frecuentes en América Latina. Dentro del complejo HLA de clase II en población peruana, se encontró que los alelos más frecuentes fueron DRB1 *11 y DRB1 *13 e igualmente en población brasileña se reportaron A *02, A *24, B *35 y DRB1 *04 (Golberg, 1999). En poblaciones bolivianas, en el análisis de frecuencias alélicas de HLA II se observó que el loci DR y DQ más frecuentes son: DRB1 *04 (24,2%), DRB1 *08 (18,9%), el DQB1 *301 (16,8%), DQB1 *302 (57,9%), DRB4* (57,9%) y DRB3* (35,0%). La población cubana presenta los alelos de DQB1 *301 y DQB1 *02 (Martínez, 1998). Siguiendo hacia América del Norte (México), los alelos más frecuentes fueron A *02, A *24, B *35 y DRB1 *04.

12

INVESTIGACIONES MOLECULARES EN EL ECUADOR: GENOTOXICOLOGÍA





CAPÍTULO XII

INVESTIGACIONES MOLECULARES EN EL ECUADOR: GENOTOXICOLOGÍA

La genotoxicidad es un término colectivo que se refiere a cualquier proceso que afecta la integridad estructural del ADN (Bohne & Cathomen, 2008). Este multidisciplinario campo de investigación tiene como objetivo determinar los compuestos capaces de causar daño en el ADN, en espera de entender las consecuencias biológicas de los agentes genotóxicos y su involucramiento en la alteración de los mecanismos moleculares del material genético. Estas consecuencias pueden eventualmente desencadenar procesos carcinogénicos (Westphalen et al., 2008; Paz-Miño et al., 2012b). En el siglo pasado, la globalización y la industrialización del hemisferio occidental dieron paso a la producción de altos volúmenes de diferentes químicos y preparaciones complejas que se encuentran contaminando el ambiente hasta la actualidad (Henkler & Luch, 2011). Actividades como la extracción del petróleo o las aspersiones con pesticidas como el glifosato han sido dos de los problemas ambientales más controversiales en el Ecuador, cuyas consecuencias continúan siendo estudiadas (Paz-y-Miño et al., 2007; 2008a; Paz-y-Miño & López-Cortés, 2011). La agricultura en el Ecuador es la segunda actividad productiva más importante que contribuye en el crecimiento económico de la nación. A pesar de esto, existen fallas en las regulaciones del uso de pesticidas y seguridad ocupacional de los trabajadores, lo cual repercute en la contaminación ambiental y en los diferentes problemas de salud (Paz-y-Miño et al., 2002b). Adicionalmente, varios estudios se han enfocado en investigar los efectos causados en el ADN de individuos expuestos a radiación ionizante en los lugares de trabajo como los hospitales (Garaj-Vrhovac et al., 2004; Muñoz et al., 2008; Stoia et al., 2009).

1. ASPERSIONES AÉREAS CON GLIFOSATO

El glifosato es un herbicida organofosforado, no selectivo y de amplio espectro, efectivo para controlar especies de hierbas anuales, bienales y perennes (Duke & Powles, 2008). Es uno de los pesticidas más ampliamente utilizados a nivel mundial con 20000 toneladas en Europa y 51000 en Estados Unidos (Kiely et al., 2004). La actividad del glifosato se debe principalmente a la inhibición de la 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintetasa, resultando en el retraso de la vía shikimato, la cual está envuelta en la síntesis de aminoácidos aromáticos en plantas y microorganismos (USDA, 2003). Este pesticida se encuentra comúnmente formulado con surfactantes que decrecen la tensión superficial de la solución e incrementa la penetrancia en los tejidos (OMS, 1994). El Roundup es una solución acuosa de sal isopropilamina de glifosato con surfactantes como polioxietileno amina (POEA) y adyuvantes como Cosmoflux 411F (MREE, 2002; Tsui & Chu, 2003). El glifosato puede interferir con algunas funciones enzimáticas en animales, pero los síntomas de envenenamiento dependen de la dosis y tiempo de exposición (Paz-y-Miño et al., 2012a).

En humanos, se ha demostrado que el Roundup es tóxico para la placenta, células embrionarias y para la biosíntesis de esteroides sexuales (Benachour & Seralini, 2009). Este pesticida mezclado con adyuvantes es citotóxico mediante la alteración de

succinato deshidrogenasa y es tóxico para las células de la sangre periférica humana (Martínez et al., 2007). Son 4 los estudios caso-control que asocian al glifosato con el riesgo de adquirir linfoma no-Hodgkin (McDuffie et al., 2001; Eriksson et al., 2008). En anfibios, los renacuajos *Rana pipiens* demostraron decrecimiento en la longitud cabeza-cola y incremento en el tiempo de metamorfosis, daño en la cola y anormalidad gonadal. La toxicidad del pesticida es un factor que ha contribuido en el decrecimiento mundial de la población de anfibios (Dinehart et al., 2009). En el desarrollo de huevos de erizos de mar, el glifosato previene la transcripción de la enzima involucrada en la eclosión y genera daño en el punto de chequeo CDK1/ciclina B del ADN del primer ciclo celular envuelto en la muerte celular por apoptosis (Marc et al., 2002; Bellé et al., 2007; Benachour & Séralini, 2009). En conejos, el tratamiento con glifosato genera pérdida del peso corporal y osmolalidad del esperma (Yousef et al., 1995). En las mitocondrias aisladas del hígado de ratones, el Roundup deprime los complejos mitocondriales II y III, induciendo la formación de ductos de ADN en el hígado y riñones (Peixoto et al., 2005).

Desde el año 2001, la frontera norte del Ecuador ha estado sujeta a aspersiones aéreas con Roundup Ultra por parte del Gobierno de Colombia; es por ello que nuestro grupo de investigación realizó varias investigaciones para determinar el impacto del glifosato en las áreas de salud, genética y ambiente (Paz-y-Miño et al., 2007; Paz-y-Miño et al., 2011a; Paz-y-Miño & López-Cortés, 2011).

En el año 2006 se realizó un estudio en 45 individuos, 24 expuestos al glifosato y 21 no expuestos, usando la técnica ensayo cometa. Esta técnica es usada para evaluar el nivel de fragmentación del ADN en individuos expuestos a compuestos químicos como el Roundup. A las 200 células observadas por cada individuo se las clasificó en seis categorías de la A a la F, siendo A las células normales con menor longitud de cola y por ende menor fragmentación del ADN, y siendo F las células con mayor longitud de cola y por ende mayor fragmentación del ADN (Figura XII.1).

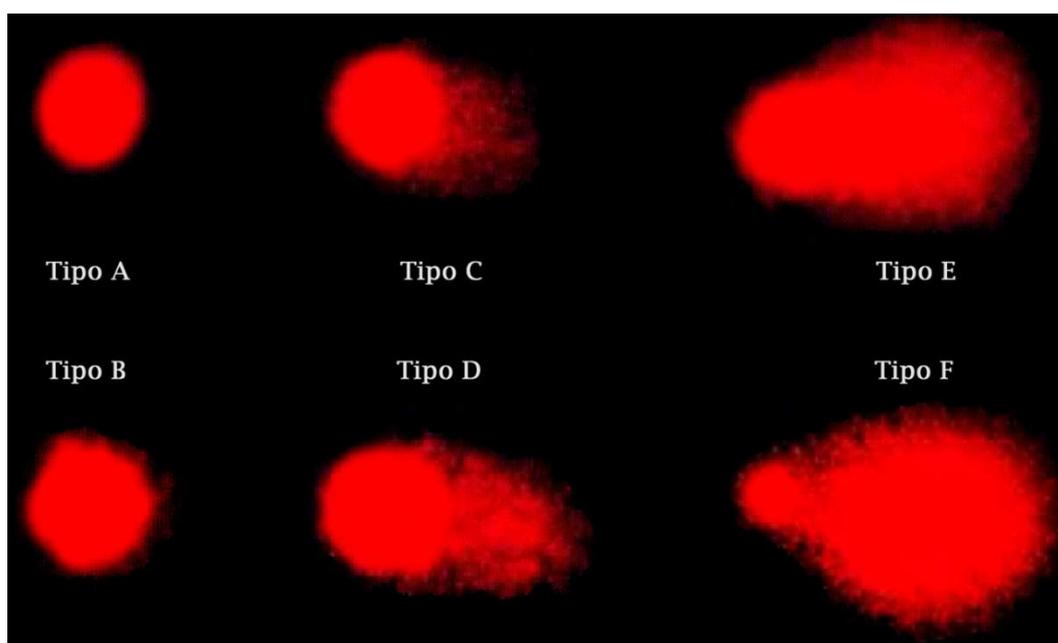


FIGURA XII.1. ENSAYO COMETA. Clasificación celular según el grado de fragmentación del ADN [Modificado de Paz-y-Miño et al., 2008a; IIB, 2014].

En la siguiente tabla se detallan las longitudes de las colas celulares de los individuos expuestos al paquete pesticida y de los individuos control.

Tabla XII.1. Migración del ADN en individuos expuestos al glifosato

Expuestos al glifosato			No expuestos al glifosato		
Individuos (Género, año)	Migración del ADN (μm)		Individuos (Género, año)	Migración del ADN (μm)	
	Media	Mediana		Media	Mediana
1 (F, 53)	39,5	32,5	1 (F, 17)	26,2	25,0
2 (F, 37)	44,1	32,5	2 (F, 40)	25,4	25,0
3 (F, 40)	56,6	52,5	3 (F, 26)	25,7	25,0
4 (M, 27)	49,2	37,5	4 (M, 14)	27,3	26,5
5 (F, 44)	34,6	30,0	5 (M, 32)	25,9	25,0
6 (F, 50)	30,8	27,5	6 (M, 21)	25,7	25,0
7 (F, 38)	33,2	30,0	7 (M, 16)	25,8	25,0
8 (F, 46)	35,2	30,0	8 (F, 47)	25,7	25,0
9 (F, 55)	32,8	30,0	9 (F, 15)	25,2	25,0
10 (F, 50)	34,2	30,0	10 (F, 36)	25,4	25,0
11 (F, 22)	32,0	27,5	11 (F, 21)	26,3	25,0
12 (F, 27)	33,7	30,0	12 (F, 43)	26,8	25,0
13 (F, 28)	31,0	30,0	13 (F, 53)	26,1	25,0
14 (F, 59)	36,4	32,5	14 (F, 35)	27,0	25,0
15 (F, 55)	32,7	30,0	15 (F, 38)	26,4	25,0
16 (F, 17)	31,3	37,5	16 (F, 22)	25,1	25,0
17 (F, 34)	33,4	30,0	17 (F, 71)	25,0	25,0
18 (F, 45)	33,0	30,0	18 (F, 39)	25,5	25,0
19 (F, 28)	31,1	27,5	19 (F, 21)	25,9	25,0
20 (F, 21)	33,2	30,0	20 (F, 50)	25,3	25,0
21 (F, 34)	31,8	30,0	21 (F, 43)	26,4	25,0
22 (F, 23)	39,3	37,5			
23 (F, 34)	35,5	37,5			
24 (F, 42)	27,6	27,5			
Promedios	35,5	30	Promedios	25,9	25

Como resultados encontramos que los individuos expuestos a las aspersiones aéreas con glifosato presentaron mayores niveles de migración del ADN a diferencia de los individuos control. La migración promedio del ADN en las células de los individuos expuestos fue de 35,5 μm y en los individuos control fue de 25,9 μm . Estos resultados demostraron que los pesticidas, al ser genotóxicos, generan fragmentación del ADN en mayor intensidad en personas expuestas con respecto a personas no expuestas al paquete herbicida con glifosato.

Para mayor información, esta investigación titulada *Evaluation of DNA Damage in the Ecuadorian Population Exposed to Glyphosate*, se publicó en la revista científica *Genetics and Molecular Biology* el año 2007 (Paz-y-Miño et al., 2007).

En nuestra segunda investigación, realizada el período 2009-2011, determinamos una línea base en las áreas de genética, salud y ambiente, en varias comunidades ecuatorianas expuestas a las aspersiones aéreas con glifosato. Las comunidades de la provincia de Sucumbíos fueron: Chone-2, Yanamarum, Playera Oriental, Fuerzas Unidas, Puerto Escondido, Corazón Orense, Santa Marianita, San Francisco, Las Salinas y 5 de Agosto.

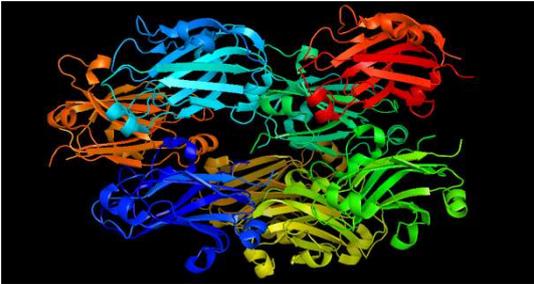
Se realizaron 144 entrevistas y 521 chequeos médicos entre hombres (47,8%) y mujeres (52,2%). El origen de la población del área estudiada corresponde al 53,4% de la población nacida en la región de la Amazonía; el 46,6% proviene de otras regiones del Ecuador y el 16,1% son inmigrantes de Colombia, quienes han llegado hace 10 años. Se obtuvieron 92 muestras de sangre periférica de individuos expuestos a las aspersiones aéreas con glifosato y 90 muestras de individuos sanos utilizados como controles.

Con respecto al análisis genético, se estudiaron los polimorfismos GPX1 Pro198Leu, XRCC1 Arg399 Gln y GSTP1 Ile105Val. Las características del gen GPX1 se las detalla previamente en los estudios realizados en la enfermedad de Alzheimer.

1.1. Gen XRCC1

El gen XRCC1 es uno de los más de veinte genes que participan en las vías de reparación por escisión de bases; se ubica en el cromosoma 19 y codifica una proteína de andamiaje de 633 aminoácidos y 69526 Da, que funciona en la reparación de rupturas del ADN, una de las lesiones más comunes del material genético (Tabla XII.2) (Figura XII.2) (Caldecott et al., 1994; Paz-y-Miño & López-Cortés, 2011).

Tabla XII.2. Características del gen XRCC1

Características	Información	Estructura proteica
Símbolo oficial	XRCC1	
Nombre	Proteína reparadora ADN	
Otros alias	RCC	
Cromosoma	19	
Localización	19q13,2	
# Acceso NCBI	NC_000019,9	
Gen ID	7515	
Tamaño secuencia	32267 pb	
Tamaño proteína	633 aa; 69526 Da	
Localización subcelular	Núcleo	

[Zhang et al., 1998; Cuneo et al., 2010]

El cáncer humano puede desarrollarse por daño en el ADN causado por la exposición a agentes carcinogénicos en el ambiente. Para salvaguardar la integridad del genoma, los humanos han desarrollado un complejo sistema de reparación del ADN. Entre las funciones ejercidas por el ADN, la reparación por escisión es el principal mecanismo de defensa contra el daño que resulta del metabolismo celular, incluyendo especies oxígeno reactivas, metilación, deaminación e hidroxilación. Por lo tanto, la reparación por escisión de bases es un evento universal en las células y es relevante en la prevención de la mutagénesis. XRCC1 interactúa con un complejo de proteínas reparadoras del ADN, incluyendo poli(ADP-ribosa) polimerasa, ADN ligasa 3 y ADN polimerasa-h (Caldecott et al., 1994; Dianov et al., 1999; Thompson & West, 2000).

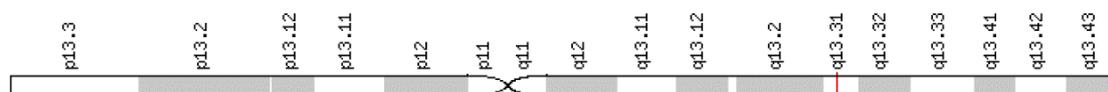


FIGURA XII.2. CROMOSOMA 19 HUMANO. Ubicación del gen XRCC1 [GeneCards, 2014].

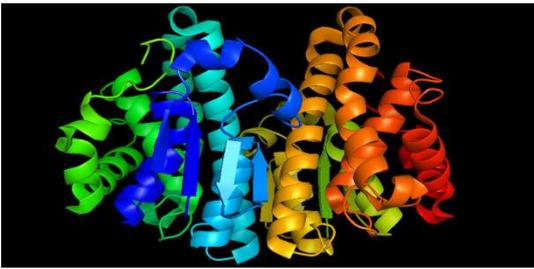
Debido a que el polimorfismo Arg399Gln se encuentra localizado en el dominio BRCT-1 del gen XRCC1, dentro de la región poli(ADP-ribosa), ha sido ampliamente investigado tanto en su función como en la asociación con riesgo al cáncer. Es por ello, que resulta de gran importancia el estudio de frecuencias del polimorfismo Arg399Gln del gen XRCC1 en la población expuesta a las aspersiones aéreas con glifosato.

El polimorfismo Arg399Gln consiste en la sustitución de la base nitrogenada G por A en el codón 399, exón 10 del gen XRCC1, siendo a nivel aminoacídico el cambio de arginina por glutamato. La presencia de esta variante ha sido asociada con la reducción de la capacidad del ADN de reparar mutaciones por la presencia de aductos de ADN (Lunn et al., 1999; Matullo et al., 2003).

1.2. Gen GSTP1

El gen glutatión S-transferasa pi 1 es miembro de la superfamilia citosólica GST. Este gen se ubica en el cromosoma 11, en la región 11q2, y se encuentra conformado por una secuencia de ADN de 32.267 pb (Tabla XII.3) (Figura XII.3) (Cowell et al., 1988).

Tabla XII.3. Características del gen GSTP1

Características	Información	Estructura proteica
Símbolo oficial	GSTP1	
Nombre	Glutatión S-transferasa pi 1	
Otros alias	DFN7, GSTP	
Cromosoma	11	
Localización	11q2	
# Acceso NCBI	NC_000011.9	
Gen ID	2950	
Tamaño secuencia	32267 pb	
Tamaño proteína	210 aa; 23356 Da	
Localización subcelular	Citoplasma, núcleo	

[Rossjohn et al., 2000]

El gen GSTP1 codifica una enzima de 210 aminoácidos, de fase dos, la cual cataliza la conjugación del tripéptido glutatión con una amplia variedad de compuestos electrofílicos, incluyendo genotóxicos, carcinógenos y agentes quimioterapéuticos (Lo et al., 2008). Esta enzima detoxifica radicales libres, especialmente los sustratos del tabaco e interactúa con una variedad de xenobióticos electrofílicos, incluyendo sustratos que van desde toxinas ambientales, carcinógenos hasta drogas usadas en tratamientos de cáncer (Ketterer 2001; Hayes et al., 2001; Zendejdel et al., 2009). GSTP1 también es responsable de la detoxificación de metabolitos reactivos acelerando el rango de excreción (Rybicki et al., 2006).

La enzima glutatión S-transferasa pi 1 no solo funciona como un metabolizador de drogas de fase dos, también actúa como un regulador de la apoptosis (Moyer et al., 2008), regulador de la vía quinasa MAPKs como resultado de la actividad enzimática no ligada (Wu et al., 2006), regulador de señales celulares a través del enlace a proteínas como c-Jun NH2-terminal quinasa, ASK1 y TRAF2, regulando la señal *downstream* de los genes (Wu et al., 2006). Cuando la actividad de GSTP1 decrece, las células se tornan más susceptibles a mutaciones como resultado del estrés oxidativo (Meiers et al., 2007).

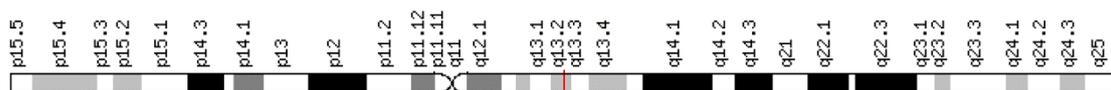


FIGURA XII.3. CROMOSOMA 11 HUMANO. Ubicación del gen GSTP1 (GeneCards, 2014).

Se ha reportado una mutación transición de A a G en el nucleótido 313, en el exón 5 del gen GSTP1. Esta mutación del ADN resulta en la traducción del aminoácido valina en vez de isoleucina, en el codón 105 del sitio activo de la enzima. Esta mutación se asocia con la reducción de la actividad enzimática alterando su termoestabilidad. La presencia del alelo V ha sido relacionada con el incremento del riesgo de adquirir cáncer de vejiga, testículos y próstata (Zendehdel et al., 2009).

Con respecto al análisis citogenético, para determinar la presencia de alteraciones cromosómicas, se obtuvo el cariotipo de 849 metafases de los individuos expuestos y no expuestos al glifosato. Mientras que la técnica ensayo cometa se analizó en un total de 1100 nucleoides, para determinar los niveles de fragmentación del ADN. Los parámetros tomados en cuenta fueron:

- a) 100 nucleoides analizados por cada individuo.
- b) Correcta clasificación de acuerdo a la longitud cabeza-cola del cometa.
- c) Determinación del número total de nucleoides de acuerdo al nivel de daño.
- d) Promedio de longitud de los nucleoides medidos en micrómetros.

1.3. Resultados y discusión

Se realizó un estudio descriptivo para determinar una línea base en la salud de la población expuesta. Dos años después de las aspersiones aéreas con glifosato, la desnutrición, de acuerdo a la edad por el peso (malnutrición seria y moderada) en niños de escuela, fue del 3%, con un riesgo de malnutrición leve del 23,2%. En el 2006, después de seis años de aspersiones aéreas, la malnutrición en niños escolares creció al 10,2%, y el riesgo de malnutrición leve fue del 36,3%. El 45,8% de las familias en Sucumbíos ha usado agrotóxicos, el 11,8% ha usado glifosato y el 5,37% ha manifestado tener intoxicación por el uso de pesticidas. El 32,3% de las familias ha informado presentar serias enfermedades durante las aspersiones aéreas, la mayoría el año 2002 (22,4%). Además, el 22,2% de la población ha presentado un familiar fallecido, ocurriendo el 27% de las muertes entre el 2003 y 2004. El 7,7% de los encuestados ha tenido hijos con algún tipo de malformación, nacido en el 2001. La frecuencia de abortos antes de las aspersiones aéreas fue del 8,4%, pero esta frecuencia creció después de las aspersiones al 12,7%.

En la Tabla XII.4 se detallan las frecuencias alélicas, frecuencias genotípicas y análisis de riesgo (OR) correspondiente a los polimorfismos estudiados. Con respecto al polimorfismo Ile105Val, el valor obtenido del χ^2 fue 9,7 y el OR fue 2,6. Sobre la variante Arg399Gln, el valor del χ^2 fue 3,6 y el OR fue 0,2. Y con relación al polimorfismo Pro198Leu, el valor del χ^2 fue 0,2 y el OR fue 1,1.

Tabla XII.4. Frecuencias genotípicas y alélicas de GPX1, XRCC1 y GSTP1

	Afectos (%)	Sanos (%)	Valor de P	OR (95% IC)
Polimorfismo GPX1 Pro198Leu				
Frecuencias genotípicas				
Pro/Pro	35	38		Referencia
Pro/Leu	48	60	0,77	0,9 (0,5-1,6)
Leu/Leu	17	02	< 0,05	8,5 (1,8-39,9)
Frecuencias alélicas				
Pro	59	68	-	-
Leu	41	32	-	-
Polimorfismo XRCC1 Arg399Gln				
Frecuencias genotípicas				
Arg/Arg	07	01		Referencia
Arg/Gln	79	01	0,4	12,2 (0,7-218)
Gln/Gln	14	98	< 0,001	0,03 (0,003-0,2)
Frecuencias alélicas				
Arg	46	02	-	-
Gln	54	98	-	-
Polimorfismo GSTP1 Ile105Val				
Frecuencia genotípicas				
Ile/Ile	32	54		Referencia
Ile/Val	40	36	0,07	1,9 (1-3,8)
Val/Val	28	10	< 0,001	4,9 (2-11,8)
Frecuencias alélicas				
Ile	52	72	-	-
Val	48	28	-	-

Sobre la prueba de ensayo cometa se observó que el 33% de los individuos estudiados presentaron cometas tipo C (daño medio), el 27% presentó cometas tipo D (alto daño), mientras que el 1% presentó cometas tipo E (daño total). Siendo 19,6 µm el promedio de migración del ADN.

En el análisis de alteraciones cromosómicas se realizó el cariotipaje a un total de 849 metafases. Con respecto a las aberraciones estructurales, los individuos afectos presentaron el 1,3% y los individuos control presentaron el 0,1% de gaps. En cuanto a las aberraciones numéricas, el 12% de los individuos afectos y el 1,2% de individuos control presentaron hipodiploidía (Tabla XII.5).

Tabla XII.5. Cariotipos y porcentaje de fragilidad cromosómica

	Porcentaje de alteración cromosómica encontrada									
Individuos (n=92)	62	2	14	1	2	1	7	1	1	1
Porcentaje (%)	0	1	1,2	1,4	1,5	1,9	2	2,4	2,5	2,8
Cariotipo	46, XX				n = 92				100%	

Las aspersiones aéreas con glifosato han causado un conflicto socioeconómico y político entre Ecuador y Colombia. Esta es la razón por la que el Comité Científico Ecuatoriano, desde el 2001, ha venido realizando estudios acerca de los sistemas de aspersión y su impacto en el ambiente, salud y estilo de vida en las comunidades afectadas (Paz-y-Miño & López-Cortés, 2011).

El análisis de alteraciones cromosómicas, la evaluación del daño en el ADN y el cálculo de las frecuencias polimórficas de los genes GPX1, GSTP1 y XRCC1 fueron realizados en mujeres de diferentes edades, quienes presentaron mayor susceptibilidad a las toxinas hepáticas debido a diversos procesos fisiológicos. La glutatión peroxidasa es una de las enzimas antioxidantes más importantes en humanos cuya función es la detoxificación de peróxidos de hidrógeno y es parte de las enzimas antioxidantes que previenen el daño oxidativo del ADN (Moorhead et al., 1960). El polimorfismo Pro198Leu está asociado con el riesgo en el desarrollo de cáncer de pulmón y cáncer de mama (Paz-y-Miño et al., 2002c; Shaffer et al., 2005). Se observó mayor frecuencia en el alelo leucina en expuestos (0,41), que en sanos (0,32). El χ^2 determina la existencia de diferencia significativa relacionada a la presencia de la variante entre individuos expuestos y no expuestos. El OR estableció que la gente con presencia de este polimorfismo presentó 1,1 veces más susceptibilidad a los problemas de detoxificación y desarrollo de algunas enfermedades. El gen GSTP1 codificó proteínas que actúan en el metabolismo de xenobióticos y juegan un rol como reguladores de apoptosis (Maldonado et al., 2006). Se pudo observar mayor frecuencia del alelo valina en expuestos (0,48) que en no expuestos (0,28). El OR estableció que individuos con el polimorfismo Arg399Gln presentaron 2,6 veces más susceptibilidad al daño celular como resultado de la exposición al estrés oxidativo. La proteína codificada por el gen XRCC1 está envuelta en el mantenimiento de la integridad estructural del ADN, encarando el posible daño generado por factores ambientales (Paz-y-Miño & López-Cortés, 2011). El χ^2 determinó que no hubo diferencia significativa relacionada a la presencia del polimorfismo Arg399Gln entre casos y controles, y el OR determinó riesgo no significativo con el desarrollo de enfermedades.

Estos resultados corroboraron los obtenidos mediante el ensayo cometa en los dos estudios realizados. Es por ello que es aconsejable realizar estudios prospectivos a largo plazo con el objetivo de monitorear un posible desarrollo de enfermedades en la población ecuatoriana.

Los análisis citogenéticos han demostrado anormalidades numéricas y estructurales presentes en mayor porcentaje en afectos que en sanos. A pesar de ello, las aberraciones fueron encontradas en porcentajes dentro de los rangos normales.

Socialmente, uno de los impactos más importantes desarrollados por las aspersiones aéreas fue el miedo. Es un sentimiento presente hasta la actualidad en el 7,7% de las personas encuestadas, manifestado con pesadillas y comportamiento anormal. Las aspersiones aéreas han generado procesos de migración, inseguridad, destrucción de fuentes económicas y alimenticias (Paz-y-Miño & López-Cortés, 2011). El estudio psicológico consistió en analizar dibujos realizados por niños, los cuales reflejaron angustia, peligro y tendencias paranoicas, indicando que la población necesita protección y seguridad por parte de las respectivas autoridades.

Para mayor información, la investigación denominada *Baseline Determination in Social, Health, and Genetic Areas in Communities Affected by Glyphosate Aerial Spraying on the Northeastern Ecuadorian Border*, se publicó en la revista científica *Reviews on Environmental Health* (Paz-y-Miño et al., 2011a). De igual forma, se puede tener acceso a mayores detalles de esta investigación en el libro *Glifosato: Genética, Salud y Ambiente* (Paz-y-Miño & López-Cortés, 2011).

2. OTROS PESTICIDAS

Además del impacto causado en la salud y el ambiente por las aspersiones aéreas con glifosato, también existe un impacto negativo cuando se trabaja diariamente con pesticidas en florícolas (Tabla XII.6).

Tabla XII.6. Otros pesticidas utilizados en florícolas

Nombre	LD50 (mg/Kg)	Clasificación OMS
Pyrazophos	435	Moderadamente peligroso
Bitertanol	45000	No peligroso en bajas dosis
Triadimefón	602	Ligeramente peligroso
Benomil	410000	No peligroso en bajas dosis
Tridemorph	650	Moderadamente peligroso
Captan	9000	No peligroso en bajas dosis
Carbendazim	410000	No peligroso en bajas dosis
Clorotalonil	410000	No peligroso en bajas dosis
Dodemorph	4500	No peligroso en bajas dosis
Flusilazole	1110	Ligeramente peligroso
Furalaxyl	940	Ligeramente peligroso
Fosetyl	5800	No peligroso en bajas dosis
Iprodione	3500	No peligroso en bajas dosis
Mancozeb	3000	No peligroso en bajas dosis
Maneb	6750	No peligroso en bajas dosis
Metataxyl	670	Moderadamente peligroso
Supimate	4000	No peligroso en bajas dosis
Oxycarboxin	2000	Ligeramente peligroso
Propineb	8500	No peligroso en bajas dosis
Sulfur	43000	No peligroso en bajas dosis
Trilorine	46000	No peligroso en bajas dosis
Vinclozolin	10000	No peligroso en bajas dosis
Zineb	15000	No peligroso en bajas dosis
Cyromazine	3300	No peligroso en bajas dosis
PCNB	1700	Ligeramente peligroso
Trimitox	-	Ligeramente peligroso
Aldicarb	0,93	Extremadamente peligroso
Fenamiphos	15	Altamente peligroso
Profenofos	355	Moderadamente peligroso
Didorvos	56	Altamente peligroso
Detalmetrina	135	Moderadamente peligroso
Acefato	915	Ligeramente peligroso
Carbofuran	8	Altamente peligroso
Clofentizine	15200	No peligroso en bajas dosis
Dienochlor	3160	Ligeramente peligroso
Dimetoato	150	Moderadamente peligroso
Ensoulfan	80	Moderadamente peligroso
Malathion	2100	Ligeramente peligroso
Metoril	17	Altamente peligroso
Monocroptos	14	Altamente peligroso
Isazofos	60	Altamente peligroso
Permetrina	500	Moderadamente peligroso
Propargite	2200	Ligeramente peligroso
Tetradifon	10000	No peligroso en bajas dosis
Triociclám	310	Moderadamente peligroso
Amabactin	5000	No peligroso en bajas dosis

Nuestro grupo de investigación realizó un análisis cromosómico y molecular a 45 personas (22 mujeres y 23 hombres) ocupacionalmente expuestas a compuestos químicos, quienes se desempeñaban como floricultores en Cayambe. Este estudio caso-control también contó con el análisis de 21 personas (17 mujeres y 4 hombres) no expuestas a pesticidas ni con antecedentes de fumar o ingerir alcohol (Paz-y-Miño et al., 2004).

Las muestras de sangre periférica de los individuos expuestos y no expuestos a los pesticidas se evaluaron mediante diferentes procesos. Se midieron los niveles de fragmentación del ADN de 200 nucleoides por individuo a través del ensayo cometa; se determinó la presencia de alteraciones cromosómicas mediante el cariotipo de los individuos y se analizó la presencia de polimorfismos en el gen CYP1A1.

2.1. Enzimas CYP

Las enzimas CYP son una superfamilia de hemoproteínas esenciales para el metabolismo oxidativo, peroxidativo y reductivo en compuestos como xenobióticos (medicamentos), químicos ambientales y sustratos endógenos como los esteroides, ácidos grasos y prostaglandinas (Szklarz et al., 2000; Takakubo et al. 1996, Hukkanen, 2002). Su nombre se debe a que en el espectrofotómetro dan un pico de absorción óptica única de 450 nm, y cuando su naturaleza de hemoproteína fue reconocida le fue dado el nombre de pigmento de unión monóxido de carbono microsomal, Citocromo P450, CYP450 o CYP (Nelson et al., 2009; Szklarz et al., 2000).

La nomenclatura existente para todos los genes CYP y sus productos está basada en el uso del símbolo CYP, al cual le sigue la familia, luego la subfamilia y al final el gen, por ejemplo: CYP 1A1; CYP, familia 1, subfamilia A, gen 1 (Nebert & Dieter, 2000; Degtyarenko & Kulikova, 2001). Se ha estimado que los seres humanos tienen por lo menos 53 diferentes genes de este tipo agrupados en dos clases I y II. Los de la clase II se agrupan en familias del 1 al 17 (Hukkanen, 2002; Nelson, 2009).

La estructura de esta enzima resulta de vital importancia para entender su acción y se han realizado varios esfuerzos para caracterizarla. Estos han revelado una estructura de prisma triangular, que en los mamíferos tiene una asociación con la membrana del retículo endoplasmático liso que le permite su funcionamiento (Degtyarenko & Kulikova, 2001).

El centro activo de la catálisis de esta enzima es la hierro-porfirina IX (grupo hemo) y el residuo de tiolato (azufre) de la cisteína, que ha sido conservado como el quinto ligando. Las enzimas CYP catalizan la inserción de un átomo de oxígeno molecular en el sustrato (hidroxilación), mientras que el segundo átomo de oxígeno es reducido en agua (Degtyarenko & Kulikova, 2001). Por este comportamiento molecular la mayoría de enzimas CYP activan compuestos transformándolos en carcinógenos (Werck-Reichhart & Feyereisen, 2000).

La familia CYP1 es una de las más estudiadas porque su acción activa a los agentes xenobióticos y carcinógenos que requieren de esta activación para llevar a las células a malignizarse. Existen tres genes miembros de la familia y son: CYP 1A1, CYP 1A2 y CYP 1B1. Estos genes comparten las principales características de regulación y todos son controlados transcripcionalmente por la vía AHR-ARNT (receptor aril

hidrocarbano-translocador nuclear del receptor arilhidrocarbón). Su actividad, es decir el incremento en la producción de su enzima, está inducida por pesticidas e hidrocarburos aromáticos policíclicos, produciendo intermediarios que pueden provocar daño al ADN. Esta activación o bien su capacidad de dañar el ADN está relacionada con polimorfismos de estos genes (Hukkaken, 2000; Paz-y-Miño et al., 2005b).

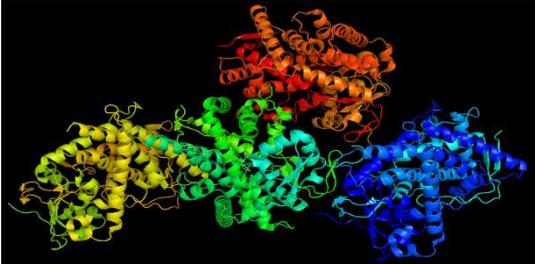
El mecanismo de acción de las enzimas CYP se explica en una serie de pasos:

- a) La enzima comienza atrapando al sustrato.
- b) Un electrón es transferido al átomo Fe³⁺, pasando este a su estado ferroso [Fe²⁺]. Esta transferencia es realizada por el NADH (fosfato dinucleótido nicotidamina-adenina) o por el Citocromo b.
- c) Esta forma ferrosa se usa a una molécula de O₂.
- d) Se realiza una segunda reducción agregándose un electrón y un protón.
- e) Este intermediario pierde una molécula de agua dejando un complejo [FeO]³⁺ que oxida el sustrato.

2.2. Gen CYP1A1

El gen CYP1A1 está localizado en el sitio cromosómico 15q22-q24. Usualmente su nivel de expresión constitutiva es muy baja, pero es inducido por compuestos químicos (pesticidas) en varios tejidos que han sido estudiados, incluyendo la placenta, pulmón, linfocitos y glándulas mamarias (Tabla XII.7) (Figura XII.4) (Omura, 1999).

Tabla XII.7. Características del gen CYP1A1

Características	Información	Estructura proteica
Símbolo oficial	CYP1A1	
Nombre	Citocromo P450	
Otros alias	CYP1, P1-450	
Cromosoma	15	
Localización	15q24,1	
# Acceso NCBI	NC_000015,9	
Gen ID	1543	
Tamaño secuencia	6069 pb	
Tamaño proteína	512 aa; 58165 Da	
Localización subcelular	Retículo endoplasmático	

(Rowland et al., 2006; Walsh et al., 2013)

Se sabe que la enzima CYP1A1 media la conversión del humo del tabaco y del triptófano en 3-metil indol, un compuesto altamente tóxico (Lanza & Yost, 2001). Así también, media la conversión de compuestos aromáticos policíclicos en benzo(a)pireno en células de cultivo animal (Omura, 1999). Esta situación podría crear una condición en la cual el oxígeno activado puede escapar del sitio activo de esta enzima y dañar otros constituyentes celulares. Estos oxidantes pueden estar involucrados en efectos proliferativos y mutagénicos (Park et al., 1996), y según Hukkanen: “Debido a la importancia del CYP1A1 en la activación de pro-carcinógenos se han unificado esfuerzos para relacionar a los polimorfismos del gen CYP1A1 con la susceptibilidad individual a cánceres inducidos químicamente” (Hukkanen, 2002).



FIGURA XII.4. CROMOSOMA 15 HUMANO. Ubicación del gen CYP1A1 [GeneCards, 2014].

Se han descrito 7 alelos del gen CYP1A1, de los cuales, los alelos MspI (m2) y Ile462Val (val) han sido los más estudiados y más relacionados al cáncer. Variaciones en la frecuencia de presentación de estos polimorfismos han sido reportadas y se las ha correlacionado con una actividad catalítica alteada de la enzima, es decir, tienen una aparente relación con el origen tumoral (Quiñones et al., 1999).

El alelo normal de MspI, llamado m1, se ubica en la región flanqueante 3' y posee una timina en el nucleótido 3235, en la zona no codificante del gen. La variante genética consiste en el cambio de una timina por una citosina, y se lo representa como T3235C. Este SNP crea un sitio de reconocimiento para la enzima de restricción MspI. El segundo alelo Ile462Val, localizado en el exón 7 del gen, posee una adenina en la posición 4889 formándose una valina en el codón 462, alterando la estructura de la proteína (Aktas et al., 2002).

2.3. Resultados y discusión

Con respecto al análisis molecular, las frecuencias del polimorfismo MspI para el genotipo m1m1 fue de 0,3, para m1m2 fue de 0,16 y para m2m2 fue de 0,53. Las frecuencias del polimorfismo Ile462Val para el genotipo Ile/Ile fue 0,04, para Ile/Val fue 0,91 y para Val/Val fue 0,04 (Tabla XII.8) (Paz-y-Miño et al., 2004).

Tabla XII.8. Frecuencias genotípicas del gen CYP1A1

Grupos	Muestras	Frecuencia genotípica					
		MspI			Ile462Val		
		m1m1	m1m2	m2m2	Ile/Ile	Ile/Val	Val/Val
Control	21	0,04	0,14	0,80	0	0,95	0,05
Expuesto	45	0,2	0,11	0,68	0,04	0,91	0,04
Total	66	0,3	0,16	0,53	0,04	0,91	0,04

Con respecto al análisis citogenético, se observó que las personas expuestas a los pesticidas presentaron 5,48% de metafases con daño cromosómico (incluido gaps) a diferencia del 0,45% encontrado en personas no expuestas. De igual forma, sin tomar en cuenta los gaps, se observó que los expuestos presentaron 3,8% de daño cromosómico y 0,45% las personas sanas. Concluyendo que el grupo de trabajadores ocupacionalmente expuestos a los pesticidas presentaron diferencias significativas comparado con el grupo control (Paz-y-Miño et al., 2004).

En la prueba de ensayo cometa se observó que los floricultores expuestos a los pesticidas presentaron mayores niveles de migración del ADN en comparación con los individuos no expuestos (Tabla XII.9). Además, se determinó que existe una asociación significativa entre los resultados citogenéticos y moleculares.

Tabla XII.9. Niveles de migración del ADN mediante ensayo cometa

Grupo	N	Promedio de migración (μm)	Mediana de migración (μm)
Control	21	25,94	25
Expuestos	45	31,58	28,8

Este estudio, junto a otros realizados a lo largo de la última década, han revelado un incremento en la migración del ADN en personas expuestas a agentes genotóxicos como son los pesticidas. Los pesticidas generan especies óxido reactivas, los cuales causan daño en el ADN y rupturas de cadena simple, los cuales pueden ser detectados con pruebas como el ensayo cometa. A pesar del riesgo asociado con la exposición a los pesticidas, las personas se exponen a una amplia gama de compuestos tóxicos. Además, la variación en el tipo y tiempo de exposición es responsable de la formación de los diferentes niveles de genotoxicidad entre los diferentes estudios realizados (Paz-y-Miño et al., 2004).

Para mayor información, la investigación denominada *Chromosome and DNA Damage Analysis in Individuals Occupationally Exposed to Pesticides With Relation to Genetic Polymorphism for CYP1A1 Gene in Ecuador*, se publicó en la revista científica *Mutation Research* el año 2004 (Paz-y-Miño et al., 2004).

3. HIDROCARBUROS

La Amazonía ecuatoriana es una de las regiones ecológicas con mayor biodiversidad en flora y fauna en el mundo. La actividad de extracción del petróleo en el Ecuador empezó en el año 1971, transformándose en la primera fuente de ingresos económicos para el país (BCE, 2009). Desafortunadamente, a lo largo del proceso, millones de galones de petróleo y residuos tóxicos han sido desechados directamente al ambiente causando problemas ambientales y de salud (Kimmerling, 1993; Epstein & Selber, 2002; Neri et al., 2006; Platt et al., 2008). Además, más de 30 billones de galones de desperdicios tóxicos y crudo han sido eliminados a los suelos y fuentes de agua de la Amazonía (Jochnick et al., 1994).

El petróleo es una compleja mezcla de varios compuestos químicos, el cual contiene una variedad de agentes de diverso poder toxicológico como el benceno, tolueno, xileno e hidrocarburos aromáticos policíclicos (IARC, 1989). Altas concentraciones de benceno pueden causar neurotoxinas que generan problemas en la médula espinal. De igual forma, el benceno es un agente desencadenante de la leucemia y del desarrollo de tumores hematológicos (Hayes et al., 2001).

La exposición a compuestos carcinógenos usados en la industria petrolera incrementa el desarrollo del cáncer en hombres, mujeres y niños. En hombres, se ha notificado un mayor incremento en el cáncer de pulmón, esófago, recto, piel y riñón. En mujeres, se ha visto un incremento de cáncer cervical, ganglios linfáticos y vejiga. En niños, se ha observado una mayor incidencia en cáncer hematopoyético (Blot et al., 1977; Everall & Dowd, 1978; Kaldor et al., 1983; Olin et al., 1987; Lyons et al., 1995; Boffetta et al., 1997; Gottlieb et al., 1982; Pan et al., 1994; Gérin et al., 1998; Yang et al., 1999; Hayes et al., 2001; McDonald, 2001).

3.1. El petróleo y sus componentes

El contacto directo con el petróleo o sus vapores causa irritación, picores en la piel y enrojecimiento de los ojos. La exposición prolongada a concentraciones bajas de compuestos volátiles causa náuseas, mareos, dolor de cabeza o somnolencia (Goldstein & Bendit, 1970; Kaplan et al., 1993). En el caso de vertidos de petróleo las personas expuestas suelen manifestar dolores de cabeza, dolor de garganta e irritación en los ojos (Campbell et al., 1993; Crum, 1993). En general, los crudos pesados presentan menos problemas de toxicidad aguda que otras fracciones de petróleo porque contienen menos compuestos orgánicos volátiles (COV). Estos síntomas de intoxicación aguda son de corta duración y desaparecen rápidamente al eliminar el contacto con el petróleo (Lillienberg et al., 1992).

3.1.1. Compuestos orgánicos volátiles

Destacan entre la alta variedad de hidrocarburos por ser de anillo simple (benceno, tolueno, etilbenceno y xileno, que se encuentran sobre todo en los petróleos livianos). Se disuelven en agua con más facilidad y son más volátiles lo que les da un mayor poder de captación biológica y daño a la salud (Greenpeace, 2003).

Inhalados pueden afectar el SNC y causar la muerte. Su ingestión causa irritación de garganta y estómago, dificultad respiratoria y neumonía de aspiración (Clapp et al., 2006).

Benceno: Se evapora en el aire muy de prisa, se disuelve ligeramente en el agua y es altamente inflamable. Es el mayor agente cancerígeno humano conocido (Melhman, 2006). Puede entrar en el cuerpo por la vía respiratoria, gastrointestinal cutánea: a) Una inhalación breve de 10 minutos a niveles muy altos de benceno (10000-20000 ppm) puede ocasionar la muerte; niveles inferiores (700-3000 ppm) pueden causar somnolencia, mareo, ritmo cardíaco rápido, dolores de cabeza, pequeños temblores, confusión e inconsciencia. Es un veneno hematopoyético y depresor de la médula ósea (anemia, sangrado, déficit de defensas), causando leucemias; b) Su ingesta puede causar vómito, irritación del estómago, mareo, somnolencia, convulsiones, ritmo cardíaco rápido, coma y la muerte; c) Por contacto causa irritación en piel y daños a la córnea. Atraviesa la barrera placentaria y causa bajo peso al nacer, formación ósea retardada y daño a la médula ósea (Clapp et al., 2006), ya que en mujeres embarazadas, el benceno se acumula en el suministro sanguíneo del feto (Greenpeace, 2003).

Tolueno: El tolueno es parte natural del crudo. Se disuelve en agua y volatiliza con facilidad. Es irritante para la piel y tracto respiratorio; puede causar toxicidad sistémica por la ingestión o la inhalación y es lentamente retenido a través de la piel en la que produce eritema y ampollas. Exposiciones crónicas de tolueno a menos de 200 ppm se asocian a la afección del SNC con dolor de cabeza, fatiga y náusea. Los trabajadores repetidamente expuestos entre 200-500 ppm reportaron pérdida de coordinación, memoria y apetito. Algunos desarrollaron desórdenes reversibles de los nervios ópticos después de la exposición crónica en el lugar de trabajo. Esta cronicidad de la exposición puede causar efectos permanentes de neuropsiquiatría, alteraciones musculares, cardiovasculares, daño tubular renal, pérdida del conocimiento, coma y muerte súbita. En niños puede ocasionar neumonitis. Atraviesa la barrera placentaria y

puede ocasionar problemas neurológicos y crecimiento retardado, puede transmitirse con la lactancia (Clapp et al., 2006).

Etilbenceno: Es encontrado como vapor que pasa fácilmente al aire desde el agua y el suelo, pero puede entrar al organismo por contacto dérmico, ingestión o inhalación. El 40-60% de etilbenceno inspirado es retenido en el pulmón. Las personas expuestas a niveles altos de etilbenceno en el aire, por cortos períodos, se han quejado de irritación de ojos y garganta. A niveles más altos han tenido problemas respiratorios, musculares y mareo. Es tóxico para el SNC e irritante de membranas mucosas y ojos. El IARC determinó que es posiblemente carcinogénico para humanos (Clapp et al., 2006).

Xileno: Está presente en el crudo y el alquitrán mineral. Se evapora y arde fácilmente. La exposición a corto plazo para niveles altos de xileno puede causar irritación de la piel, ojos, nariz y garganta; dificultad respiratoria y respuesta retardada para un estímulo visual; alteraciones de memoria, molestias de estómago y problemas renales y hepáticos. Exposición a corto y largo plazo para concentraciones altas de xileno puede causar efectos en el sistema nervioso (dolores de cabeza, falta de coordinación muscular y mareo), a niveles muy altos de xileno se produce la muerte. No hay estudios que puedan demostrarle como carcinógeno. Cruza la barrera placentaria y en animales ha demostrado ser fetotóxico (Clapp et al., 2006).

3.1.2. Hidrocarburos aromáticos policíclicos

Entre ellos destacan 16 compuestos incluidos en la lista de contaminantes prioritarios de la EPA de los Estados Unidos: naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo(a)antraceno, criseno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, dibenzo(ah)antraceno, benzo(ghi)perileno e indeno(1,2,3-cd)pireno. La mayoría de estos compuestos también están clasificados como 2B por el IARC y a algunos de ellos se atribuye un potencial genotóxico (Harvey et al., 1999).

Lo más tóxico de este grupo es el benzo(a)pireno, encontrado en petróleo crudo, alquitrán mineral y creosita, así como el benzo(k)fluorantreno. El benzo(a)pireno puede encontrarse en partículas pequeñas que son inhaladas profundamente hasta los pulmones, donde benzo(a)pireno puede ejercer efectos carcinogénicos. Es absorbido también a nivel de piel. Las propiedades carcinogénicas de los PAH se han descrito para estos 16 compuestos. El benzo(a)pireno es cancerígeno de faringe y laringe (Clapp et al., 2006).

3.1.3. Metales pesados

También se encuentran en el crudo concentraciones variables de metales pesados como vanadio, níquel, cobre y hierro. Otros elementos químicos presentes son el azufre, nitrógeno y oxígeno.

Vanadio: Es un producto de la combustión del petróleo. Actúa irritando la piel, conjuntivas y aparato respiratorio; produce decoloramiento verdoso de los dedos, escroto y piernas, así como una coloración verde negruzca de la lengua que indica exposición aguda. Se lo ha señalado, en Venezuela, como causante de los casos de anencefalia (Granadillo et al., 1998). Es capaz de ocasionar cambios en el material

genético de plantas, animales y humanos, con malformaciones importantes en el tubo neural. Se ha afirmado también que existe una correlación definitiva entre el vanadio y el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y arteriosclerosis por alteración de vasos sanguíneos, presión arterial y transporte de calcio.

Cromo: Es un cancerígeno humano conocido por su efecto sobre el material genético. Inhalado puede causar irritación a la nariz, estornudos, ardor nasal, hemorragias nasales, úlceras, asma y orificio del septum nasal. La exposición a largo plazo ha sido asociada con cáncer pulmonar en trabajadores expuestos. Con su ingestión causa trastornos estomacales y úlceras, convulsiones, problemas al riñón, hígado y la muerte. Puede ser transferido de madre a hijo a través de la lactancia (Clapp et al., 2006).

Plomo: Es liberado en la combustión de carbón, petróleo y en las perforaciones. La exposición de largo plazo puede conducir a alteraciones cognitivas, debilidad en manos y tobillos, hipertensión, daños cerebrales y renales. Estudios en trabajadores expuestos han encontrado que puede causar cáncer de pulmón, estómago y cerebral. En los niños se ha demostrado ser un neurotóxico al interrumpir la sinapsis y afectar las zonas cruciales del aprendizaje y la memoria. En los años setenta, Needleman descubrió una correlación entre concentraciones dentales de plomo en niños y problemas de distracción, escasa organización, impulsividad e incapacidad para seguir instrucciones, problemas de lectura y secundarias incompletas. El plomo atraviesa la barrera placentaria y puede causar muerte intrauterina, precocidad y bajo peso al nacer (Clapp et al., 2006).

Mercurio: Su ingreso al organismo es por inhalación e ingestión y se ha demostrado que ocasiona daño permanente a nivel cerebral y renal. El sistema nervioso es particularmente sensible para metilmercurio y mercurio elemental. La exposición puede causar irritabilidad, pequeños temblores, cambios en la vista/audición y problemas de memoria que puede conducir a formas de Parkinson. Afecta el desarrollo del feto a nivel neurológico. La EPA considera que el metilmercurio es un posible agente cancerígeno (Clapp et al., 2006).

Níquel: Es eliminado con la combustión del petróleo. Los efectos de salud más dañinos son la bronquitis crónica, la reducción de la función pulmonar y el desarrollo de los tipos de cáncer de mama y pulmón. Se necesita ingerir cantidades muy grandes de níquel para sufrir efectos dañinos a la salud, aproximadamente con 250 ppm de níquel aparecen dolores de estómago, aumento de glóbulos rojos y de las proteínas en orina pero esta concentración de níquel es 100000 veces mayor que la cantidad usualmente encontrada en agua potable. A nivel de piel casi no se absorbe, pero produce reacciones alérgicas de contacto. El potencial carcinógeno parece deberse al sulfato de níquel y las combinaciones de sulfuros de níquel y óxidos. Pasa la barrera placentaria y puede pasarse por la lactancia (Clapp et al., 2006).

Cadmio: Es eliminado en la combustión de fósiles. La inhalación es la principal vía de ingreso al organismo y puede causar problemas pulmonares, renales y fragilidad de los huesos. La exposición de 2 horas con este compuesto causa tos e irritación leve de garganta; de 4 a 10 horas aparecen síntomas como tos, presión esternal, dolor de pecho, dificultad respiratoria, sudoración, temblor y dolor de extremidades; de 8 horas en adelante aparece una severa dificultad para respirar, tos persistente, debilidad,

malestar, anorexia, náusea, diarrea, micción frecuente en la noche, dolor abdominal, expectoración de sangre y postración. Las exposiciones a altos niveles pueden ser fatales y los que sobreviven pueden tener secuelas por años. Con la ingesta, el carácter irritante también aparece a nivel digestivo y se puede concentrar en riñones. Estudios en animales han demostrado que su absorción es mayor en niños y embarazadas con dietas bajas en calcio, proteína o hierro y ricas en grasas. Solo una escasa cantidad pasa la barrera placentaria (Clapp et al., 2006).

Bario: Como barita es extraído y usado en la perforación de pozos. Sus efectos a la salud dependen de su solubilidad en agua. Los compuestos de bario que no se disuelven bien (barita y carbonato de bario) permanecen mucho tiempo en el ambiente. La barita causa pocos efectos dañinos, sin embargo, el bario combinado como nitrato o en forma de acetato, cloruro, hidróxido o sulfuro de bario, que se disuelven en agua, puede causar efectos dañinos. A altas cantidades su ingesta puede matar. En cantidades no letales puede alterar el ritmo cardiaco o producir parálisis, náusea, retortijones abdominales, diarrea, dificultades respiratorias, hipo o hipertensión, entumecimiento alrededor de la cara y debilidad muscular. La inhalación y el contacto de piel no parecen tener los mismos efectos (Clapp et al., 2006).

Cobre: Aparece tras la incineración de combustibles fósiles. A bajas concentraciones puede irritar la nariz, la boca, los ojos y dar dolores de cabeza, mareo, náusea o diarrea. A dosis altas puede causar daño hepático, renal e incluso muerte (Clapp et al., 2006).

Zinc: Es un metal esencial y su deficiencia nutricional causa problemas de salud, pero su exceso también. Pequeñas cantidades elevadas pueden causar dolores de estómago, náusea y vómito. Su ingesta prolongada puede ocasionar anemia, daño en el páncreas y disminución de los niveles del colesterol beneficioso. La ingesta exagerada puede causar infertilidad, retraso del crecimiento fetal e irritación dérmica al contacto (Clapp et al., 2006).

3.1.4. Gases

Dióxido de azufre: Su fórmula es SO_2 . Es un gas incoloro con un olor intenso que se disuelve fácilmente en agua. En el aire, el SO_2 se puede convertir en ácido sulfúrico o sulfatos, mientras que en agua, el dióxido de azufre puede formar ácido sulfuroso. Como gas se disuelve en la piel húmeda y en las membranas mucosas para formar ácido sulfuroso, un agente irritante que acaba con la mucosa ciliar de la garganta, pero por sí mismo el dióxido de azufre es un fuerte irritante del tracto respiratorio. A altas concentraciones puede ser mortal. Concentraciones de 100 ppm son peligrosas para la vida. Pueden darse desde síntomas leves de irritación local como estornudos, rinitis, tos, pasando por la dificultad respiratoria y sofocación hasta el espasmo laríngeo, bronco espasmo y edema pulmonar, asma, neumonía y bronquitis. Exposiciones a concentraciones muy bajas de dióxido de azufre pueden agravar enfermedades pulmonares crónicas, como el asma y enfisema. La exposición crónica puede causar un sentido del olfato alterado, una susceptibilidad aumentada para las infecciones respiratorias y la disminución acelerada en la función pulmonar. A moderadas dosis se genera náusea, vómito y dolor abdominal. Es un fuerte irritante de piel causando picor, dolor, coloración roja y ampollas, especialmente en mucosas, con conjuntivitis y quemaduras corneales. Está asociado a cuadros asmáticos en niños y

estudios en animales (cerdos) confirman que cantidades de hasta 1 ppm producen fuertes impactos respiratorios.

Ácido sulfúrico: Su fórmula es SO_4H_2 . Se forma en el aire desde el dióxido de azufre que se quema con los combustibles fósiles. El SO_2 se transforma en SO_3 que al reaccionar con agua en el aire forma el ácido sulfúrico (SO_4H_2). Es muy corrosivo e irritante para la piel, tracto respiratorio y gastrointestinal. Su inhalación a altas concentraciones puede causar dificultad respiratoria y de eliminación de partículas extrañas. Ocasiona también erosión dental. En el aparato digestivo puede causar procesos erosivos, úlceras y muertes. En piel causa quemaduras, quema los ojos y puede producir ceguera. En nieblas severas el IARC cree que es carcinogénico para los humanos.

Ácido sulfhídrico: Su fórmula es SH_2 . Las emisiones de SH_2 son un poderoso abortivo a una exposición anual superior de $4 \mu\text{g}/\text{m}^3$, el sulfuro de carbono (S_2C) es una neurotoxina muy poderosa. El umbral del olor del ácido sulfhídrico está cerca de los $7 \mu\text{g}/\text{m}^3$, la toma diaria aceptable es de $1,8 \text{ ng}/\text{m}^3$.

3.2. Investigaciones sobre hidrocarburos en el Ecuador

Durante los últimos 40 años se han realizado varios estudios que reconocen el impacto de esta actividad sobre la población que circunda las zonas petroleras en las diferentes provincias del oriente ecuatoriano.

En 1993 se realizó un estudio caso-control en 1465 personas expuestas y no expuestas a la actividad petrolera, demostrando los siguientes resultados: La población infantil de las comunidades donde hay contaminación de petróleo tuvo importantes niveles de desnutrición (43%) en comparación con la población no expuesta al petróleo (21,5%). Las mujeres que bebieron agua a menos de 200 m de las estaciones petroleras presentaron 147% más abortos que las mujeres del grupo control. Las causas más frecuentes de mortalidad fueron cáncer, violencia y accidentes. La media de enfermedades por persona era de tres en las comunidades expuestas y dos en las comunidades no expuestas a la actividad petrolera. El 49% de las familias pertenecientes a las zonas afectadas han comprometido su salud por efecto de baños en aguas contaminadas, intoxicaciones por gas, caídas a piscinas con crudo, quema de productos de petróleo, contacto con químicos, explosiones de pozos, ruptura de oleoductos y consumo de alimentos tóxicos. Fruto de estos accidentes se han producido en los afectados piodermitis (50,5%), micosis (46,6%), cefaleas (17,8%), problemas respiratorios (16,4%), reacciones alérgicas (5,5%), dermatitis y problemas renales (2,7%) (UPPSAE, 1993).

En 1994 se realizó un análisis en 32 muestras de agua de la zona afectada por la actividad petrolera. Se determinó que las concentraciones de hidrocarburos aromáticos policíclicos estaban incrementadas varias veces por encima de los niveles permitidos por la EPA. Las muestras de agua potable analizadas tenían concentraciones de PAH que oscilaban entre 32,8 y 2792 ng/L. Cifras que implican un riesgo carcinogénico entre 1/1000 y 1/100000 (Jochnick, 1994).

En el 2000, sobre un estudio de 500 personas se confirmaba que la presencia de abortos y cáncer era significativamente superior en comunidades expuestas a la

contaminación petrolera que aquellas que vivían a distancia de esta actividad. Los abortos eran 150% más frecuente y el cáncer 130% más frecuente, con un riesgo de mortalidad de 260% más alto que en la ciudad de Quito (San Sebastián, 2000).

En el 2003 se realizó un estudio a 1520 personas y se realizaron 342 visitas médicas en las comunidades afectadas por la actividad petrolera. Para ese entonces, la industria del petróleo tenía concesionadas más de 5 millones de hectáreas de la Amazonía del Ecuador. Los resultados más destacados de esta investigación fueron: El 100% de las personas que vivieron cerca de las estaciones de petróleo han sufrido problemas de contaminación, cuyas principales causas fueron en el 57% las piscinas de petróleo, 56% de los pozos y 42% de la quema de gas en los mecheros. La actividad petrolera afecta las bases de la subsistencia campesina e indígena; el 94% de la población encuestada ha sufrido pérdidas de animales. Los animales han muerto tras beber agua con crudo, caer a las piscinas o asfixiados por el gas. Sin embargo, un porcentaje de la población ha utilizado esta carne para su consumo. El 82,4% de la población se ha enfermado en alguna ocasión por la contaminación: el 96% de los enfermos reportaron problemas de la piel, 75% problemas respiratorios, 64% problemas digestivos y 42% problemas de ojos. La principal causa de muerte ha sido el cáncer en un 32% del total de fallecidos, siendo tres veces más que la media nacional de muertes por cáncer (12%) en el Ecuador, y 4 a 5 veces superior a Orellana (7,9%) y Sucumbíos (5,6%). Se detectaron 89 personas enfermas o fallecidas entre los vecinos por causa directa del cáncer y la contaminación, permitiéndonos hablar de más de 500 fallecidos por causa directa de la actividad petrolera (Maldonado & Narváez, 2003).

En el 2004 un estudio fue publicado en la revista *International Journal of Occupational and Environmental Health* citando las altas tasas de leucemia en niños en zonas de explotación petrolera en la Amazonía ecuatoriana. Los investigadores encontraron tasas de leucemia en niños de 0 a 4 años de edad que viven en zonas de explotación petrolera, 3 veces más altas que en otras partes del país (Hurting & San Sebastián, 2004).

En el 2005, un estudio demostró que existe un elevado riesgo en la salud de animales y poblaciones humanas al estar expuestos a los diferentes tóxicos dejados por la actividad del petróleo, siendo un problema de salud médica los efectos no reversibles como el cáncer, riesgos de abortos espontáneos y defectos en la reproducción (San Sebastián & Hurting, 2002). El estudio Yana Curi, encontró una tasa de abortos espontáneos 2,5 veces más alta en comunidades ecuatorianas expuestas a la contaminación petrolera que en comunidades no expuestas utilizadas como control. En este mismo estudio se analizaron otros factores como la edad en el embarazo, orden del embarazo y estado socioeconómico, sin que se llegue a explicar la asociación entre los abortos espontáneos y vivir en la proximidad de campos petroleros (Informe Yana Curi, 2000).

En el 2006, nuestro grupo de investigación realizó un biomonitoreo del daño del ADN en individuos expuestos a hidrocarburos en San Carlos, provincia de Orellana. Las evidencias científicas obtenidas en esta investigación demostraron que los individuos expuestos a hidrocarburos presentaron alto riesgo carcinogénico y mutagénico. Las personas expuestas a agentes tóxicos propios de las industrias petroleras sufrieron síntomas como fatiga, dolor de cabeza, micosis cutánea, dermatitis, irritación nasal y ocular, gastritis, náusea y diarrea. El análisis, desarrollado mediante la prueba ensayo

cometa, permitió determinar que los individuos expuestos a los hidrocarburos presentaron alto porcentaje de daño en el ADN comparado con individuos sanos considerados como control. El análisis citogenético determinó que las personas expuestas presentaron rupturas cromosómicas y gaps. Mientras que en los estudios genéticos se encontró asociación significativa del gen hMSH2 con los individuos expuestos a hidrocarburos y derivados del petróleo (Paz-y-Miño et al., 2008a).

Para mayor información, la investigación denominada *Monitoring of DNA Damage in Individuals Exposed to Petroleum Hydrocarbons in Ecuador* fue publicada en la revista científica *Annals of the New York Academy of Sciences* el año 2008 (Paz-y-Miño et al., 2008a).

4. RADIACIÓN

Nuestro grupo de estudio desarrolló dos investigaciones relacionadas a la radiación ionizante mediante rayos X en trabajadores médicos, y a la radiación solar en pesqueros de la Costa ecuatoriana.

4.1. Radiación ionizante mediante rayos X

La radiación ionizante es considerada un genotóxico por su capacidad de interactuar con el ADN. Un tipo de radiación ionizante son los rayos X, los cuales desde su descubrimiento han sido asociados con el apareamiento de patologías radio-inducidas. Durante los primeros años de uso de los rayos X se reportaron casos de lesiones de piel, alteraciones hematológicas y cáncer. Desde 1950 se implementaron normas de protección como disminuir la dosis límite de radiación y el uso de medidas de protección personal para confrontar la presencia de patologías radio-inducidas (Berrintong et al., 2001; Yoshinaga et al., 2004).

Berrintong y Yoshinaga observaron en sus investigaciones que los radiólogos que trabajaron antes del año 1950 presentaron enfermedades como leucemia, cáncer de mama, tiroides, y posterior a este año los casos reportados han sido mucho menores, lo que indicó que era eficaz la recomendación de protección del personal y la disminución de la dosis (Berrintong et al., 2001; Yoshinaga et al., 2004).

A pesar de los efectos dañinos sobre la salud, causada por la exposición a altas dosis de radiación, debido a la caída de la bomba atómica, los efectos que causan las bajas dosis de radiación todavía son controversiales (Clochard et al., 2000; Paz-y-Miño et al., 2001).

El monitoreo genético permite analizar si las poblaciones expuestas a agentes genotóxicos como los rayos X, presentan alteraciones en la morfología de los cromosomas y en la integridad del ADN. La utilidad del monitoreo genético radica en demostrar la relación entre el daño genético y la radiación ionizante. Además permite realizar recomendaciones para prevenir enfermedades (Clochard et al., 2000; Bayo, 2001).

Existen dos tipos de efectos causados por la exposición a la radiación sobre la salud: los determinísticos, que se observan en personas expuestas a altas dosis de

radiación, lo que induce a la muerte celular provocando la pérdida de funcionalidad de los tejidos; y, los estocásticos, cuando el contacto con la radiación ionizante potencia eventos de daño ya presentes en el individuo, provocando sinergismo entre las alteraciones genómicas y los efectos producidos por la radiación (Bartch et al., 1997; Tice et al., 2000; Touil et al., 2002; Morgan et al., 2005; Muñoz et al., 2008; ICRP, 2007).

La carcinogénesis radio-inducida consiste en el desarrollo de los eventos de iniciación, promoción y progresión, los cuales se producen luego de la exposición a la radiación y provocan alteraciones que predisponen la aparición del cáncer (Paz-y-Miño et al., 2001).

La radiación ionizante produce al genoma daños directos e indirectos. Los daños directos consisten en la alteración de la estructura química del ADN, pérdida de una base nitrogenada debido a la presencia de dímeros de timina, deleción de secuencias, rotura de simple y doble cadena. Mientras que el daño indirecto produce la formación de radicales libres, principalmente de la ionización del agua, convirtiéndola en radicales superóxido e hidroxilo (Paz-y-Miño et al., 2001; Seedhouse et al., 2004; Dufloth et al., 2005; Millikan et al., 2005; Güerci et al., 2006).

Otras macromoléculas sensibles a los rayos X son los lípidos de la membrana celular, porque se altera su estructura afectando la permeabilidad de la membrana y las enzimas que pierden su actividad. Por otro lado, se pueden alterar las mitocondrias, causando muerte celular inmediata al desorganizarse las crestas mitocondriales y la cadena de fosforilación oxidativa (Seedhouse et al., 2004; Dufloth et al., 2005; Millikan et al., 2005).

Los estudios de biomonitoreo ayudan al esclarecimiento de los efectos producidos por los genotóxicos, al aportar información sobre los mecanismos moleculares de estos procesos que causan daño de forma directa o indirecta. Entre las pruebas que se utiliza para evaluar los efectos de los genotóxicos se encuentran: el estudio de aberraciones cromosómicas, de micronúcleos, el ensayo cometa, la FISH y el análisis de genes (Baquero et al., 2004; Prasad et al., 2004; Aka et al., 2004).

Nuestro grupo de investigación realizó el estudio de 41 individuos que cumplieron los criterios de inclusión en el estudio, 20 pertenecieron al grupo de expuestos a rayos X y 21 pertenecieron al grupo de no expuestos. Del total de individuos analizados, 16 fueron hombres y 25 mujeres, siendo 12 hombres y 8 mujeres los expuestos, y 4 hombres y 17 mujeres los no expuestos. El promedio de edad del grupo de expuestos fue 37 años, mientras que la edad promedio del grupo control fue 33 años.

Los grupos de estudio no presentaron antecedentes patológicos personales ni familiares de cáncer, infertilidad, esterilidad, abortos, malformaciones, ni uso de tratamientos antineoplásicos. Todos los individuos expuestos a radiación trabajaron seis horas diarias aproximadamente. El tiempo que los pacientes estuvieron expuestos a radiación va de 1 a 21 años, siendo la media de 5,89 años de trabajo.

La dosimetría física anual de los individuos expuestos fue sobre la base de los dosímetros físicos termoluminiscentes analizados por la Comisión Ecuatoriana de

Energía Atómica (CEEA). Los valores de la dosis media de radiación a la que estaban expuestos los individuos fueron de 0,99 mSv de radiación ionizante.

En el análisis de aberraciones cromosómicas se contabilizaron 490 metafases en el grupo de expuestos y 1274 metafases en el grupo de no expuestos. Todas las metafases presentaron un total de 46 cromosomas. En ninguna de las metafases se hallaron alteraciones numéricas. La proporción de aberraciones cromosómicas en los expuestos fue del 50% y en los controles fue del 4%.

Al analizar la presencia de las aberraciones cromosómicas en 764 metafases se encontraron alteraciones estructurales; dentro de estas se observaron gaps, roturas, cromosomas dicéntricos, anillos y doble minute (Figura XII.5). Al separar las metafases en grupos de expuestos y controles se encontró que la metafase que presentó la rotura perteneció a un individuo del grupo control. En el grupo de expuestos se encontraron 13 metafases que presentaron alteraciones tipo gaps. Otro tipo de alteración que se encontró fue una metafase con un cromosoma dicéntrico en un sujeto expuesto a rayos X. Además, se encontró una metafase con una alteración de un cromosoma en forma de anillo. Adicionalmente, una metafase de los individuos expuestos a rayos X también presentó un doble minute.



FIGURA XII.5. ALTERACIONES CROMOSÓMICAS ESTRUCTURALES. Se compara un cromosoma normal con varios cromosomas alterados por rupturas [Modificado de Paz-y-Miño et al., 2008a; IIB, 2014].

Al realizar el análisis de la presencia de aberraciones cromosómicas, se encontró que no hay una diferencia significativa al comparar entre los individuos expuestos y los no expuestos a rayos X.

Al aplicar la prueba de ensayo cometa se analizaron 8262 nucleoides, se encontró una media de longitud de migración de 25,92 μm en el grupo de controles y de 29,09 μm en el grupo de casos. La diferencia encontrada entre ambos grupos fue altamente significativa (Tabla XII. 10).

En los expuestos hubo un aumento en la proporción de fragilidad en un 60%, en comparación con el grupo control que presentó el 4% de fragilidad. En el grupo de casos, al correlacionar el promedio de la dosis de radiación y de aberraciones cromosómicas, no se encontró una relación entre ambos datos. También se realizó la correlación entre la presencia de aberraciones cromosómicas con los años de exposición, pero tampoco se encontró correlación significativa. En el grupo expuesto se correlacionó la dosis de radiación con la longitud de las cometas, sin encontrarse diferencias significativas. Además, se correlacionó los años de trabajo a los que

estuvieron expuestos los trabajadores con la presencia de las aberraciones cromosómicas y la longitud de las cometas, pero tampoco se encontró diferencias. El riesgo de presentar aberraciones cromosómicas en individuos expuestos a radiación ionizante es 20 veces mayor que en los individuos sanos. Mientras que la razón entre expuestos y no expuesto a la radiación ionizante es de 30 veces para presentar mayor grado de fragilidad del ADN.

Tabla XII.10. Longitud de migración del ADN mediante ensayo cometa

Individuo	Expuestos a rayos X		Individuo	No expuestos a rayos X	
	Mediana	Media		Mediana	Media
1	25	25,9	1	25	26,3
2	25	26,5	2	25	25,4
3	25	26,4	3	25	25,7
4	25	25,8	4	26,5	27,3
5	25	24,6	5	25	25,9
6	22,5	24,6	6	25	25,8
7	42,5	43,6	7	25	25,8
8	35	36,5	8	25	25,8
9	27,5	27,4	9	25	25,3
10	32,5	32,7	10	25	25,5
11	27,5	27,4	11	25	26,3
12	25	27,4	12	25	26,9
13	27,5	28,8	13	25	26,3
14	30	29,3	14	25	26,9
15	32,5	34,8	15	25	26,5
16	27,5	28,8	16	25	25,1
17	25	29,3	17	25	25,0
18	25	26,7	18	25	25,5
19	25	27,7	19	25	25,9
20	25	25,8	20	25	25,4
			21	25	26,4
Media		29,08	Media		25,91
Mediana		25,83	Mediana		25,78

En el análisis de aberraciones cromosómicas se tomó en cuenta las alteraciones numéricas y estructurales. En este estudio no se presentaron alteraciones tipo numéricas. Sin embargo, en estudios realizados por Díaz-Valecillos y Madelleti, se describieron alteraciones numéricas en individuos expuestos a bajas dosis de rayos X, como pérdida o ganancia de uno o dos cromosomas e hiperdiploidías (Madelleti et al., 2002; Paz-y-Miño et al., 2001; Díaz-Valecillos et al., 2004). En todos los estudios, incluyendo este, las poblaciones estuvieron expuestas a dosis de radiación similares, lo cual podría tener una relación con un proceso de adaptación al daño, lo que implica que estas dosis no alterarán la estructura cromosómica debido a la resistencia que provoca esta radiación sobre los mecanismos de control y reparación del ADN.

En cuanto a las alteraciones estructurales en los individuos expuestos a los rayos X hay un incremento en el número de aberraciones comparado con el grupo control. A pesar de esto no se encontraron diferencias significativas en el número de aberraciones cromosómicas. El tipo de aberraciones estructurales que se evidenciaron fueron: anillos, roturas, gaps, cromosomas dicéntricos y doble minute. Los anillos y las roturas inestables suponen un mayor riesgo de pérdida de información, lo que aumenta la posibilidad de alteración de los mecanismos de control celular: genes supresores de tumores, activación de proto-oncogenes, alteración de los genes de apoptosis o de genes

reparadores del ADN. Por esto, se ha demostrado que existe una correlación entre la presencia de aberraciones cromosómicas y la aparición de cáncer, asociándose de modo particular con la presencia de sitios frágiles y rupturas cromosómicas (Bayo, 2001; Goode et al., 2002; Leffon et al., 2004).

Según Aka, las translocaciones y las roturas son frecuentes en individuos expuestos, al contrario de las alteraciones inestables como cromosomas dicéntricos, anillos o fragmentos acéntricos, ya que estas son letales para la célula en la división celular (Aka et al., 2004). Las alteraciones estructurales tipo doble minute son alteraciones inestables asociadas a un producto de una amplificación génica asociada con la activación de proto-oncogenes sensibles a la radiación como son: N-RAS, K-RAS, C-MYC (Goode et al., 2002).

Adicionalmente, se analizó la relación entre la dosis anual de exposición y la presencia de aberraciones cromosómicas. No se encontró correlación entre el aumento de aberraciones cromosómicas y los años de exposición.

Mediante el análisis del ensayo cometa, en los individuos expuestos a rayos X, se observó un mayor grado de migración del ADN al compararse con el grupo control, encontrándose una diferencia altamente significativa entre las dos poblaciones. Esto se debe a que por medio del ensayo cometa podemos observar la presencia de rupturas de cadena simple y doble, las cuales dan origen a la formación de la cola, que no se observan con el análisis de aberraciones cromosómicas. En el análisis de aberraciones cromosómicas, las roturas de doble cadena dan lugar a los cambios estructurales de los cromosomas (Paz-y-Miño et al., 2002d). Es importante recalcar que las alteraciones genómicas por mínimas que sean pueden presentarse en lugares clave que podrían alterar la estabilidad del genoma (Lalic et al., 2001; Goode et al., 2002; Leffon et al., 2004; Hung et al., 2005; Güerci & Grillo, 2007).

Cabe añadir que en nuestro estudio no se observó una correlación entre la dosis de radiación y la longitud de migración. Es decir, a mayor dosis no aumenta el grado de daño, debido a que la variación de las dosis a las que estuvieron expuestos los individuos fue mínima (Paz-y-Miño et al., 2001; Muñoz et al., 2008). Tampoco se encontró una correlación entre la longitud de migración del ADN y los años de trabajo. Esta observación se explica por un efecto de adaptación conocido como hormesis (Touil et al., 2002), el cual se caracteriza por la aparición de efectos diferentes a los esperados luego de una exposición crónica, por lo que este fenómeno de adaptación se da por acción del sistema de reparación para proteger la información genética.

Para mayor información, la investigación denominada *Biomonitoreo genético de individuos expuestos a radiación ionizante y su relación con el desarrollo del cáncer* se publicó en la *Revista Oncología* el año 2008 (Muñoz et al., 2008).

4.2. Radiación solar

La radiación ultravioleta (UV) de la luz solar es considerada uno de los factores ambientales más importantes que afectan a los seres humanos y se ha implicado como la causa principal de cáncer de piel (Paz-y-Miño et al., 2001; Cadet et al., 2005). Los tumores de piel, por ejemplo el melanoma, parecen estar más relacionados con la

exposición acumulativa, ya que aparecen con mayor frecuencia en hombres mayores, trabajadores al aire libre, en sitios de máxima exposición al sol (Cañarte, 2008).

En general, la radiación ultravioleta B (UV-B) (280-320 nm) y ultravioleta A (UV-A) (320-400 nm) son responsables de los tipos de cáncer inducidos por la luz solar (De Grujil, 2000; Meinhardt et al., 2008). A pesar que la contribución UV-A para el cáncer de piel melanoma está aún en discusión, es la naturaleza de la exposición a los rayos UV la que parece determinar la ocurrencia del cáncer de piel.

Las longitudes de onda más cortas, se absorben principalmente en la epidermis, mientras que las longitudes de onda con espectro más amplio pueden penetrar hasta la dermis (De Grujil, 2000). La radiación solar ultravioleta se subdivide en función de sus características fotobiológicas que involucra una reacción producida por la absorción de luz (Mulero, 2004; Meinhardt et al., 2008). Los cromóforos son moléculas que absorben luz como por ejemplo: melanina, ADN, ARN, entre otras macro moléculas que son capaces de captar distintas longitudes de onda.

En la última década, han aparecido estudios en algunos países latinoamericanos donde se ha informado que la mortalidad por melanoma maligno va en aumento. Según diferentes ponencias presentadas en el XXI Congreso Mundial de Dermatología, Argentina es el país con la tasa más alta de cáncer de piel en América Latina debido a la exposición y radiación solar, la alteración de la capa de ozono y el fototipo de piel de la mayoría de su población (Alfaro et al, 2010). En Ecuador, al igual que en el resto de países, los tumores de piel más frecuentes son los llamados no melanocíticos: basocelular y espinocelular, cuya letalidad es muy baja y son curables en un 95% (Meinhardt et al., 2008). Sin embargo, el melanoma maligno es mucho más mortal, y es el que mayor incremento en la incidencia ha experimentado.

La quemadura solar o eritema, es la lesión cutánea más frecuente generada por la exposición a la luz solar, para su desarrollo se estima que la UV-B es responsable del 80% y la UV-A del 20% aproximadamente. Para que aparezca este tipo de lesión interviene la intensidad de la radiación recibida más la sensibilidad de la persona; la dosis eritema mínima (MED), se define como la dosis mínima para generar eritema cutáneo de límites notorios a las 24 horas de exposición. La respuesta de la piel a la exposición no es uniforme en todos los individuos y esto ha llevado a la clasificación de las personas en fototipos de piel en función de la respuesta después de la exposición solar del medio día durante 45 minutos (OMS, 2003).

Tanto las radiaciones UV-A como UV-B tienen un rol importante en la patogénesis de enfermedades fotosensibles (Norris & Hawk, 1990). Sin embargo, la UV-B tiene mil veces mayor capacidad de producir quemadura solar y daño genotóxico (De Grujil, 2000), y aunque la UV-A no es directamente absorbida por el ADN por su pobre carga energética, la generación de fotoproductos en diversos estudios se incrementó según la intensidad recibida de radiación UV-A a partir de 0 a 200 J/m² (Mouret et al., 2006). Por otro lado, la radiación UV-B es la más involucrada en la promoción del cáncer. Diversos estudios muestran la alta mutagenicidad de esta longitud de onda, la generación de dímeros de timina (TT) entre la radiación UV-A y UV-B se encontró que era estadísticamente significativa a las 24 h (p = 0,002) y 48 h (p = 0,05) (Mouret et al., 2006). En modelos *in vitro* se ha demostrado los efectos clastogénicos generados por la radiación UV. En células de ovario de hámster chino se

observó un incremento del 16 al 48% de aberraciones cromosómicas del tipo cromatídico en exposición a radiación, con longitud de onda de 254 nm (Sgura et al., 1996).

Los daños ocasionados en el ADN por las radiaciones UV pueden producirse por dos vías diferentes. Pueden suceder por absorción directa de la energía de los fotones o mediante lesiones bioquímicas indirectas donde los cromóforos endógenos transfieren la carga a otras moléculas que son las que provocan las modificaciones en el ADN (Speit & Schütz, 2008). El daño más común de todos los tipos, es el dímero de pirimidina cis-syn ciclobutano, el cual representa la mayoría de los fotoproductos generados por la UV, siendo más frecuentes los dímeros de timina-timina (TT), seguido de timina-citosina (TC) y por último los de citosina-citosina (CC) (González-Púmariega et al., 2009).

Los efectos celulares incluyen daños en el ADN, la detención del ciclo celular, la depresión inmunológica, la apoptosis, y los cambios transcripcionales (OMS, 2003; Rodríguez-Sangrador, 2006). Estudios realizados en linfocitos de sangre periférica irradiados con 500 J/m² a una longitud de onda de 365 nm, mostraron que las roturas de simple y doble cadena inducidas por la radiación no se distribuyen de manera aleatoria en los cromosomas analizados (1, 3, 8, 9, 11, 14, 18, 19, 21, X e Y) y por consiguiente no se correlacionan con el tamaño de los cromosomas (Rapp et al., 2000).

En Ecuador existe un gran grupo poblacional expuesto a este tipo de radiación sin tomar las medidas necesarias para su protección. Se estima que el número de enfermos con cáncer de piel se ha incrementado significativamente (5000%) los últimos 5 años de acuerdo con un estudio de la Fundación Ecuatoriana de Psoriasis (Cañarte et al., 2005). Y una de las principales causas, sostienen los especialistas, es la sobre exposición a esta radiación.

La exposición a algún genotóxico puede producir anomalías cromosómicas que pueden ser detectadas mediante técnicas citogenéticas (Rochette et al., 2003; Speit & Schütz, 2008). Los linfocitos de sangre periférica se emplean como células centinela ideales para la evaluación de aberraciones cromosómicas provocadas por agentes con potencial genotóxico (Rochette et al., 2003). El monitoreo de daños cromosómicos es un mecanismo muy útil para dar seguimiento a poblaciones expuestas a genotóxicos ya que permite la evaluación total del genoma celular. El objetivo de este estudio fue evaluar la frecuencia de aberraciones cromosómicas en linfocitos de sangre periférica en personas que se dedican a la actividad pesquera.

La investigación fue de tipo epidemiológico analítico, transversal de punto comparativo de grupos expuestos y no expuestos a la radiación solar UV. Se seleccionó a personas cuyo único oficio sea la actividad pesquera al aire libre, de preferencia a personas entre 35 y 45 años, con poca ingesta de alcohol o inhalación de tabaco, de fototipo de piel IV. Igualmente, las mismas características para el grupo testigos cuyo ambiente laboral lo realicen en oficinas o lugares protegidos en la sombra. Se excluyeron del estudio a personas con antecedentes de cáncer, o que tuvieron alguna ingesta de medicamentos o alcohol en los días previos a la toma de la muestra. Una vez recibida la aprobación de las personas para el estudio, se les aplicó una hoja de consentimiento informado para asegurar la legitimidad y debida autorización para poder trabajar con las muestras colectadas.

En cuanto a la exposición solar, el promedio de exposición laboral en los individuos expuestos fue de $64,84 \pm 19,8$ ($p = 0,07$) horas; $5,3 \pm 1,4$ ($p = 0,92$) días a la semana por $21,7 \pm 7,0$ ($p = 0,0004$) años. Por su parte, el grupo testigos reportó $13,5 \pm 2,12$ horas de trabajo, $5,2 \pm 0,71$ días de trabajo por $8,7 \pm 3,1$ años de trabajo.

4.2.1. Efecto genotóxico de la exposición solar

Las aberraciones cromosómicas estructurales (ace) mostraron ser más significativas en comparación con las aberraciones numéricas (acn) en todos los cultivos realizados: testigos (ace $5,67 \pm 7,23$; acn 1 ± 0) y expuestos (ace $8,87 \pm 14,1$; acn $8,5 \pm 4,94$) en los cultivos estándar. Testigos (ace $9,33 \pm 8,5$; acn $1,5 \pm 0,7$) y expuestos (ace $24 \pm 33,77$; acn $10 \pm 4,24$) en los cultivos con afidicolina.

4.2.2. Cultivo estándar

Las aberraciones cromosómicas estructurales informadas en el estudio, el gap cromatídico fue la aberración cromosómica significativamente mayor: testigos ($1,3 \pm 0,86$) en comparación de los expuestos ($4 \pm 1,48$). Se observó otro tipo de ace estadísticamente no demostrable. Dentro de las aberraciones cromosómicas numéricas la endorreduplicación fue significativamente mayor: testigos (0 ± 0) a diferencia de los expuestos ($1,14 \pm 0,82$) (Tabla XII.11).

4.2.3. Cultivo con afidicolina

En el cultivo con afidicolina se reportó de manera significativa el gap cromatídico (gct) testigo ($1,7 \pm 0,67$) en comparación de los expuestos ($7,5 \pm 3,12$); el gap cromosómico (gcs) en testigos (0 ± 0) mientras en expuestos ($2,1 \pm 1,12$); la rotura cromatídica en testigos ($0,57 \pm 0,57$) mientras en expuestos ($7,24 \pm 1,85$). De las aberraciones cromosómicas numéricas la endorreduplicación (end) fue la aberración cromosómica que se reportó de manera significativa: testigos (0 ± 0) y en expuestos ($1,24 \pm 0,81$). Se reportó otro tipo de aberraciones cromosómicas estadísticamente no demostrables (Tabla XII.11).

Tabla XII.11. Aberraciones cromosómicas registradas en los cultivos celulares

Cultivo	Grupo de aberraciones cromosómicas	Aberraciones cromosómicas	Expuestos M \pm DE	Control M \pm DE	P
Cultivo estándar	ACE	gct	$4 \pm 1,48$	$1,3 \pm 0,86$	0,002
		gcs	$0,67 \pm 0,59$	0	0,1
		bct	$1,33 \pm 1,08$	$0,19 \pm 0,32$	0,08
		bcs	$0,1 \pm 0,22$	0	0,79
	ACN	end	$1,14 \pm 0,82$	0	0,03
		poli	$0,5 \pm 0,56$	$0,1 \pm 0,22$	0,41
Cultivo afidicolina	ACE	gct	$1,7 \pm 0,67$	$7,5 \pm 3,12$	0,01
		gcs	0	$2,1 \pm 1,12$	0,0004
		bct	$0,57 \pm 0,57$	$7,24 \pm 1,85$	0,0002
		bcs	0	$0,1 \pm 0,22$	0,79
	ACN	end	0	$1,24 \pm 0,81$	0,01
		pol	$0,19 \pm 0,31$	$0,67 \pm 0,59$	0,27

[M] Mediana; [DE] Desviación estándar

4.2.4. Causa - efecto

Las personas que estuvieron en exposición constante a la radiación solar mostraron un mayor número de aberraciones cromosómicas en comparación a aquellas personas que reportaron estar expuestas por pocas horas a dicha radiación tanto en cultivos normales como en cultivos con afidicolina. Las personas expuestas tuvieron $65,85 \pm 5,64$ horas de exposición, la media de aberraciones cromosómicas registradas fue $4,4 \pm 2,39$ ($p = 0,027$) en el cultivo estándar; bajo el mismo tiempo de exposición presentaron $7,9 \pm 3,5$ ($p = 0,004$). Se observó una relación directa entre el tiempo de exposición en horas a la semana y el incremento en la frecuencia de aberraciones cromosómicas. El coeficiente de determinación ($r^2 = 0,191$) permite inferir que la variabilidad observada en el número total de AC se debe en 19,1% de los casos a la variabilidad del tiempo de exposición a la radiación UV.

Como punto de discusión, las radiaciones ultravioleta constituyen uno de los agentes físicos causantes de mutaciones en los más diversos organismos de nuestro planeta y estas están indisolublemente ligadas a los procesos de fotocarcinogénesis (Kozmin et al., 2003). Si la piel se somete a una exposición crónica de radiación solar UV, se induce varias respuestas biológicas, por ejemplo: el desarrollo de eritema, edema, inmunosupresión, daño en el ADN, fotoenvejecimiento y melanogénesis. Estas alteraciones pueden estar directa o indirectamente involucradas en el desarrollo de cáncer (Goihman-Yahr, 1996; Afaq & Mukhtar, 2001).

En el presente trabajo los sujetos de estudio estuvieron en edades de 35 a 45 años de edad, el grupo de población económicamente activa de Ecuador, en el cual la incidencia del cáncer por sobre exposición es muy recurrente (Cañarte, 2008), lo que hace necesario evaluar el potencial genotóxico de la radiación solar UV en este grupo poblacional.

El mayor número de aberraciones cromosómicas fue informado en el grupo expuestos en comparación con el grupo control, así como la asociación entre el tiempo de exposición y el número de aberraciones cromosómicas, ponen de manifiesto el potencial peligro de este genotóxico ambiental para la salud de la población estudiada. El mayor número de gaps y roturas de tipo cromatídico registradas en el cultivo estándar nos estaría indicando la ineficiencia de los mecanismos de reparación del ADN, como respuesta a la radiación UV. Los gaps cromatídico y cromosómico constituyen un tipo de aberración cromosómica, evaluando linfocitos humanos expuestos a radiación ionizante mediante ensayo cometa y estudio de aberraciones cromosómicas. Los resultados mostraron una correlación entre los gaps cromatídicos y cromosómicos y las colas de los cometas (Paz-y-Miño et al., 2002d).

En la formación de las aberraciones cromosómicas estructurales se debe tener en cuenta la fase del ciclo celular en la cual ocurre el daño genético (Carballo et al., 2006). El tipo de agente clastogénico puede inferir en su acción a lo largo de las diferentes clases del ciclo celular (G1, S, G2). La radiación UV es un agente S-dependiente, que induce a lesiones en el ADN en cualquiera de las etapas del ciclo celular, y esto requieren necesariamente que el material hereditario cumpla una fase de replicación para convertir las lesiones en aberraciones especialmente de tipo cromátida (Carballo et al., 2006). Este concepto concuerda con la mayor recurrencia de gaps cromatídico reportados en esta investigación.

Un estudio sobre efectos mutagénicos de la fototerapia en linfocitos humanos de neonatos hiperbilirrubinémicos demuestra que el efecto mutagénico y turbagénico de la luz fluorescente genera aberraciones cromosómicas estructurales como gaps y acéntricos ($p = 0,0001$); gaps cromosómicos ($p = 0,000183$), rotura cromatídica ($p = 0,0039$), rotura cromosómica ($p = 0,0012$), y pulverizaciones ($p = 0,0084$). Mostrando la capacidad mutagénica de la radiación UV (López et al., 1990).

La afidicolina es un agente clastogénico que inhibe la formación de la polimerasa alfa (Paz-y-Miño et al., 2011b), actuando a nivel de replicación, como a nivel de mecanismos de reparación e inhibiendo la síntesis de ADN (Speit & Schütz, 2008). El mecanismo de acción de la afidicolina se da por su carácter de micotoxina; esta compete por dCPT (2'-Desoxicitidina 5'-trifosfato), siendo no competitiva con respecto a los dNTP. Tal característica hace que compita por el sitio de acción del dCPT en la enzima, inhibiendo la acción de la polimerasa. Para que se dé esta disociación constante se requiere concentraciones de 0,4 a 0,7 mM (Moyer & Meyer, 1979). El incremento de aberraciones cromosómicas en general en los cultivos con afidicolina, se debe a la clara acción de la afidicolina, deteniendo la maquinaria de replicación del ADN.

Es muy conocida la disminución de la capa de ozono debido a la contaminación principalmente de agentes químicos como los gases clorofluorurocarbonados. Este fenómeno ha causado un incremento de la intensidad de la radiación recibida, en especial la radiación UVB que tiene mayor efecto mutagénico. Por lo tanto, estimar en población ecuatoriana de forma objetiva la sensibilidad UV, así como el tiempo de exposición que induce a lesiones, permitiría aproximar intervalos de riesgo, considerando que la intensidad solar y los hábitos de exposición solar en el país son prolongados.

El biomonitoreo genético se convierte en una herramienta útil para evaluar posibles efectos ocasionados por diversos agentes mutagénicos. Las pruebas citogenéticas son de gran importancia ya que nos permiten asociar con procesos de carcinogénesis en poblaciones expuestas (Paz-y-Miño et al., 2008a, 2011). En este trabajo se demostró el efecto mutagénico de la radiación solar en personas sobreexpuestas. Este tipo de trabajos puede colaborar con estrategias de prevención contra problemas dermatológicos mayores, inclusive el cáncer, que podrían afectar a este grupo poblacional.

Para mayor información, la investigación denominada *Daño genético por exposición solar-ultravioleta en pescadores de la Costa ecuatoriana* se publicó en la *Revista Médica Eugenio Espejo* el año 2013 (Araujo et al., 2013).

13

CITOGENÉTICA





ā[[\ • { ^ ā æ [• ē ! *

CAPÍTULO XIII

CITOGÉNÉTICA

Pese a los grandes adelantos en la Genética Humana, es interesante percatarse que recién en 1956, Tjio y Levan determinan el número de cromosomas humanos en 46. Tres años después (1959), y gracias a las técnicas de bandeado cromosómico, Lejeune y Ford describen las primeras enfermedades asociadas a una anomalía cromosómica. A comienzos del siglo XX la Citogenética surge como una combinación de conocimientos entre la Histología y la Genética, teniendo por objeto la observación del material genético de un organismo que se encuentra organizado en los cromosomas a través del microscopio en diferentes tejidos, analizando la estructura, el número de los cromosomas y las implicaciones que tienen las diferentes alteraciones en el fenotipo del organismo estudiado.

Los cromosomas son el material hereditario organizado en eucariontes, pasando desde una simple cadena de ADN, hasta las complejas interacciones con proteínas histonas, no histonas y diversos cambios químicos en el medio nuclear. Los cromosomas cumplen las funciones de conservar, transmitir y expresar información hereditaria, y fueron descubiertos por Nageli en 1842, aunque el término cromosoma fue acuñado por Waldenyer (1888) haciendo referencia a “cuerpo coloreado”, debido a que los cromosomas se tiñen de un color brillante con ciertas técnicas histológicas.

En los comienzos de la Citogenética Humana, se asumía que el número cromosómico humano era de $2n = 48$, y que el mecanismo de determinación sexual era similar al de la *Drosophila melanogaster*, postulados que fueron descartados más adelante por considerarse erróneos. En 1979, Hsu divide a la Citogenética Humana en cuatro eras: “era de los años oscuros” (1952), “era hipotónica” (1952 – 1958), “era trisómico” (1959 – 1969) y “era de las bandas cromosómicas” que inició en los comienzos de 1979 y alcanzó su máximo apogeo en 1976 con las técnicas de alta resolución propuestas por Yunis.

Un gran avance en Citogenética fue el desarrollo de técnicas que permitieron observar secuencias específicas de ADN contenidas en regiones puntuales de los cromosomas. De allí nacieron tres metodologías: hibridación somática (Harris & Watkins, 1965); cartometría de flujo (Carrano et al., 1973); y la hibridación *in situ* (Landegert et al., 1985). A partir de esta última técnica se han desarrollado nuevas tecnologías como el cariotipo espectral (SKY) caracterizando a los cromosomas de manera independiente mediante el uso de sondas marcadas con fluorocromos.

Hoy en día, las herramientas en Citogenética Molecular permiten detectar alteraciones cromosómicas de un tamaño menor a 3 Mb o rearrreglos muy complejos, imposibles de detectar con Citogenética convencional, esto ha permitido la detección e identificación de muchas anomalías cromosómicas imperceptibles al ojo humano. La hibridación genómica comparativa (CGH) permite detectar cambios numéricos de secuencias de ADN en una muestra con índice proliferativo bajo, ya que para la realización de esta técnica no es necesaria la obtención de metafases. Y más recientemente, la CGH array ha aportado innumerables ventajas en la identificación exacta y detallada de muchas alteraciones cromosómicas.

1. NIVELES DE COMPACTACIÓN DEL ADN

El ADN, en la cromatina eucarionta, está compactado a través de diferentes niveles estructurales. El tamaño lineal del ADN es extremadamente grande, mide 1,74 m en cada célula, por lo que es indispensable que este se plegue para caber en un núcleo celular de 2 o 3 micras. Este plegamiento constituye los niveles de compactación del ADN.

1.1. Nucleosoma

El primer nivel de compactación lo constituyen los nucleosomas. El nucleosoma se forma por dos vueltas de ADN en un núcleo proteico conformado por 8 proteínas histonas (H2A, H2B, H3 y H4), e iones, formando una fibra de 10 nm de diámetro. Las histonas son pequeñas proteínas básicas; la parte central forman el núcleo del nucleosoma mientras que las colas N y C se extienden hacia afuera. Cada octámero tiene aproximadamente 1,7 vueltas de ADN alrededor y cada nucleosoma está conectado al siguiente por un ADN de unión; la longitud varía de acuerdo al tipo de especie o por el tipo de célula. La histona H1 unida en el punto donde entra y sale el ADN en el complejo proteico se conoce como cromatosoma. La unión del ADN y las proteínas histonas es de naturaleza electrostática entre los grupos cargados positivamente de las histonas y las cargas negativas de los grupos fosfatos de ADN, es decir, al aumentar o disminuir la fuerza iónica del medio se puede provocar una disociación o una asociación de las histonas con respecto al ADN (Burton et al., 1978).

1.2. Fibra de cromatina

Gracias a la visualización por microscopía electrónica de los fragmentos de cromatina en diferentes preparaciones, se ha evidenciado que el complejo de nucleosomas compactados forma una fibra irregular de 30 nm de diámetro visible en interfase celular, y ha sido objeto de estudio por varios científicos en todo el mundo. La función principal que se le atribuye a la cromatina es en esencia el plegamiento del ADN.

El proceso de compactación de la fibra de cromatina es dependiente de la concentración y de la naturaleza de los iones presentes en el medio nuclear. Así, se ha observado que la concentración de iones monovalentes necesarios para provocar plegamiento de la cromatina es mayor a la de iones divalentes (Thomas et al., 1994). Esto implica que cuanto mayor es la valencia del ion, mayor es su capacidad estructural, siendo menor la concentración necesaria para plegar la cromatina (Koch et al., 2002). En este mismo sentido, Subirana (1992) postuló que el plegamiento de la cromatina podría ser producto de la neutralización de las cargas del ADN. Así, al aumentar la fuerza iónica, la fibra de cromatina se plegaría buscando la estructura con un mínimo de energía. En estudios realizados por microscopía iónica de barrido se ha mostrado que los cationes Mg^{2+} y Ca^{2+} son específicamente requeridos por la célula para la condensación de la cromatina en cromosomas mitóticos.

La incapacidad de observar la ubicación de nucleosomas individuales en la fibra de cromatina condensada, a lo largo del tiempo, ha generado la aparición de varios modelos estructurales de la fibra de cromatina, de los cuales el modelo de solenoide es el más aceptado por la comunidad científica. Este modelo, propuesto por Finch y Klug

(1976), se basa en una cadena de mononucleosomas agrupados, aproximadamente 6 nucleosomas por vuelta de hélice para formar la fibra de cromatina, para lo cual se requiere que el ADN de unión se pliegue. Otros autores, a partir de diferentes estudios por dispersión de neutrones (Suau et al., 1979) y difracción eléctrica (Yabuki et al., 1982), han contribuido a ratificar este modelo. También se han propuesto otros modelos como: el modelo de superbead (Kiryanov et al., 1976; Frank et al., 1976), el modelo helioidal de doble origen (Woodcock et al., 1984), y recientemente el modelo de solenoide interdigitado compacto (Bartolomé et al., 1995; Daban & Bermúdez, 1998).

1.3. Lazos de ADN

A su vez, el solenoide forma lazos de ADN (*loops*) de 60 a 100 Kb dentro de un esqueleto proteico no histónico (teoría del andamiaje o *scaffold*) formando una fibra de 300 nm de diámetro. Según este modelo, la fibra de cromatina se une al eje proteico por regiones específicas del ADN ricas en A y T denominadas regiones SAR. Estas regiones interactúan con las proteínas no histonas condensinas, cohesinas y la Sci (Topoisomerasa II), que constituye el 70% del citoesqueleto proteico (Figura XIII.1). Además, la actividad de transcripción y replicación está asociada con los puntos de interacción entre la matriz del andamiaje y las regiones SAR.

Finalmente, la estructura en lazos se autoenrolla nuevamente compactándose en unidades adherentes del andamiaje formando una fibra de 700 nm de diámetro que constituye la cromátide del cromosoma, que al compactarse en la metafase se reduce a 2000 nm. Los lazos están empacados a modo de hélices superpuestas sujetas a un eje central o andamio. Pienta y Coff (1984) sugirieron que 18 lazos de 60 Kb podrían distribuirse radialmente alrededor del esqueleto proteico, constituyendo una nueva unidad estructural denominada mini banda. Existen varios modelos para explicar el mecanismo de compactación y formación de la cromátide del cromosoma.

Se cree que los lazos son, en efecto, unidades funcionales de la replicación y transcripción del ADN. Probablemente los cromosomas mitóticos son el resultado de la condensación o agrupamiento de los lazos o loops de la cromatina interfásica, llegándose a producir el nivel de compactación del cromosoma mitótico de 5 a 10 veces más sobre la cromatina en interfase. Con el desarrollo de la técnica ensayo cometa se esclareció que, al tratar a la célula con detergentes no iónicos, la estructura nuclear consistía de una matriz nuclear compuesta de ADN, ARN y proteínas; a esta conformación se lo denominó nucleoide y presenta un súper enrollamiento negativo. Esta estructura está compuesta por lazos de ADN que permanecen anclados a una red de naturaleza proteica (Cook & Brazell, 1976).

Así dispuestos, todos los genes humanos se compactan (6, 36, 1000 y hasta 10000 veces respectivamente) para caber en el núcleo celular. De los 3 billones de pb, cada banda cromosómica contendría de 10 a 20 millones de pb. El cromosoma menor (21) tendría unos 3 cm del total del ADN y el cromosoma mayor (1) contendría 16 cm. En la interfase celular existen zonas cromosómicas expuestas, que corresponderían a la fibra de 10 nm con genes activos o con capacidad de activarse, mientras que el resto de la cromatina la constituye la fibra de 30 nm. La información sobre el tamaño del ADN nos permite inferir que tan solo se necesitaría unas 600 Mb para cubrir toda la información genética del ser humano, lo que representa del 10 a 20% del genoma.

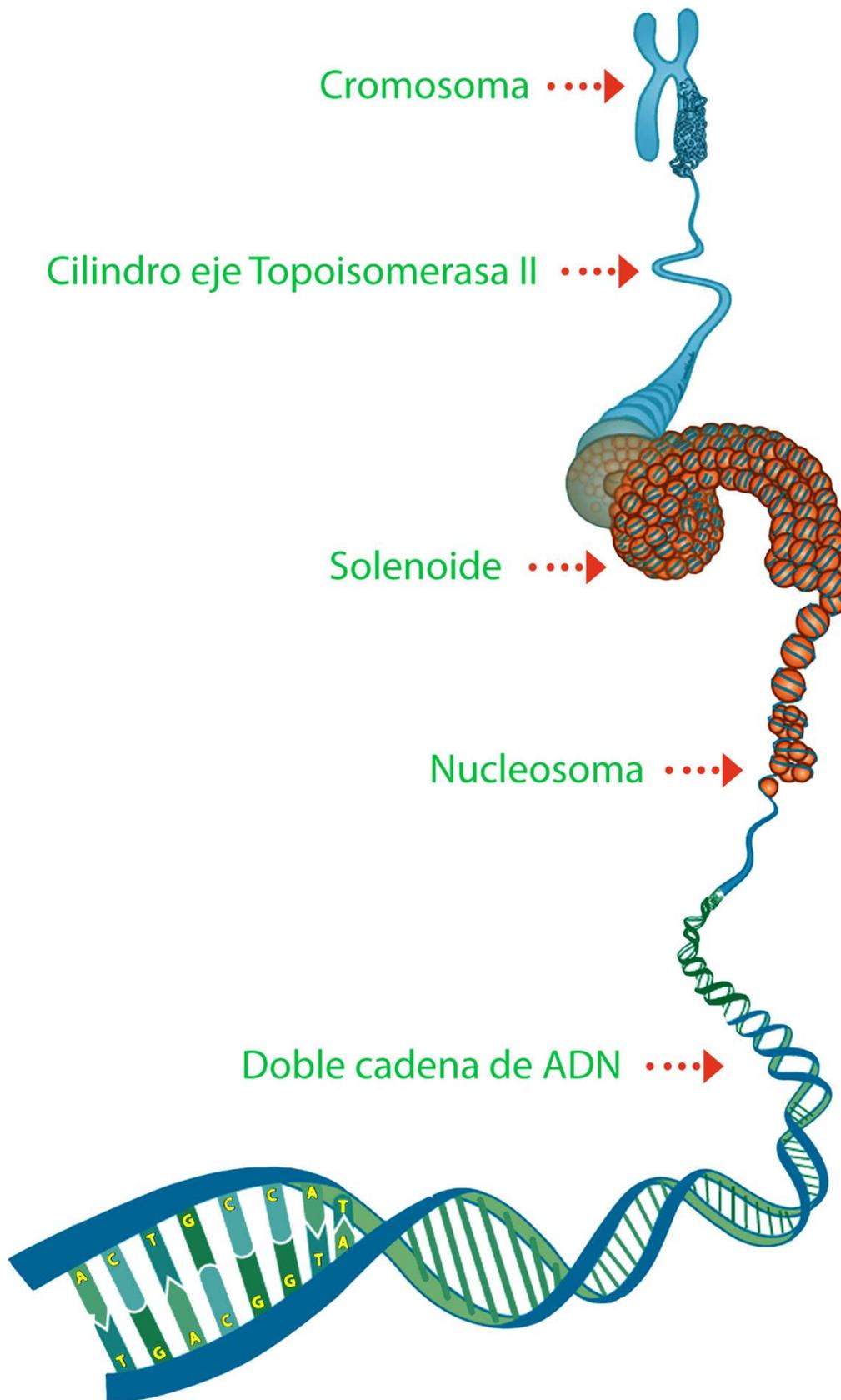


FIGURA XIII.1. NIVELES DE ORGANIZACIÓN DEL MATERIAL HEREDITARIO. La doble cadena de ADN se compacta mediante la formación del nucleosoma, solenoide, cilindro eje, hasta la formación del cromosoma [Modificado de The Real Swedish Academy of Sciences, 2009; IIB, 2014].

2. CROMOSOMAS, MORFOLOGÍA Y NOMENCLATURA

Mediante la observación de los cromosomas mitóticos al microscopio de luz, se puede apreciar que estos adoptan, bajo ciertas condiciones, una clara conformación helicoidal, a pesar de que al microscopio electrónico presenten una apariencia más desordenada. A través del proceso de condensación del material hereditario, se pasa de una fibra de ADN con una longitud de 174 cm, a los cromosomas con una longitud de 2 a 8 micras.

Los cromosomas están formados por dos cromátides unidas en el centrómero (constricción primaria), regiones terminales o telómeros y en ocasiones algunos presentan pueden presentar satélites, separados del cromosoma por una constricción secundaria. El centrómero divide al cromosoma en dos brazos: uno corto (p) y uno largo (q).

El complemento cromosómico de cada célula organizado sistemáticamente se denomina cariotipo. Este término se utiliza para describir la constitución cromosómica de una especie. La identificación morfológica de los cromosomas está basada en los tamaños relativos de los mismos y de sus brazos. Un idiograma es la representación esquemática de la morfología cromosómica que se usa como diagnóstico genético en humanos, y también para la comparación de los cariotipos de diferentes especies y variedades. El idiograma está basado en las medidas de los cromosomas en varias células. Los cromosomas de acuerdo a la posición del centrómero son (Figura XIII.2):

- a) Metacéntrico: Cuando sus brazos son equidistantes con respecto al centrómero y por lo tanto sus cromátides son de la misma longitud.
- b) Acrocéntrico: Cuando el centrómero se localiza en la región subterminal formando brazos muy pequeños, generalmente con satélites.
- c) Submetacéntrico: Cuando la localización del centrómero tiende hacia uno de los extremos, por lo que los brazos de las cromátides son desiguales.
- d) Telocéntrico: Cuando el centrómero se ubica en la región terminal del cromosoma, no existen brazos p, este tipo de cromosoma no está presente en el humano.

En 1960, en la convención de Denver, se unificó la nomenclatura de los cromosomas reconociéndose dos grupos: autosomas (cromosomas somáticos) y gonosomas (cromosomas sexuales). Los autosomas se numeran del 1 al 22 ordenados por tamaños decrecientes y, dentro del mismo tamaño, por la posición del centrómero. Los cromosomas de tamaño semejante se reúnen en grupos que se designan por letras (A-G). A los cromosomas sexuales X y Y se les incluye en los grupos C y G respectivamente.

Los cromosomas 1, 3, 16, 19 y 20 son típicamente metacéntricos; el cromosoma 2 está en el límite entre metacéntrico y submetacéntrico; los cromosomas B representan el tipo submetacéntrico grande. Los cromosomas de los grupos C y E (a excepción del 16) son típicamente submetacéntricos medianos y pequeños respectivamente. Los cromosomas D y G son acrocéntricos grandes y pequeños, y usualmente presentan satélites en los brazos cortos. El cromosoma X es submetacéntrico y al Y se le considera acrocéntrico sin satélites (Figura XIII.3).

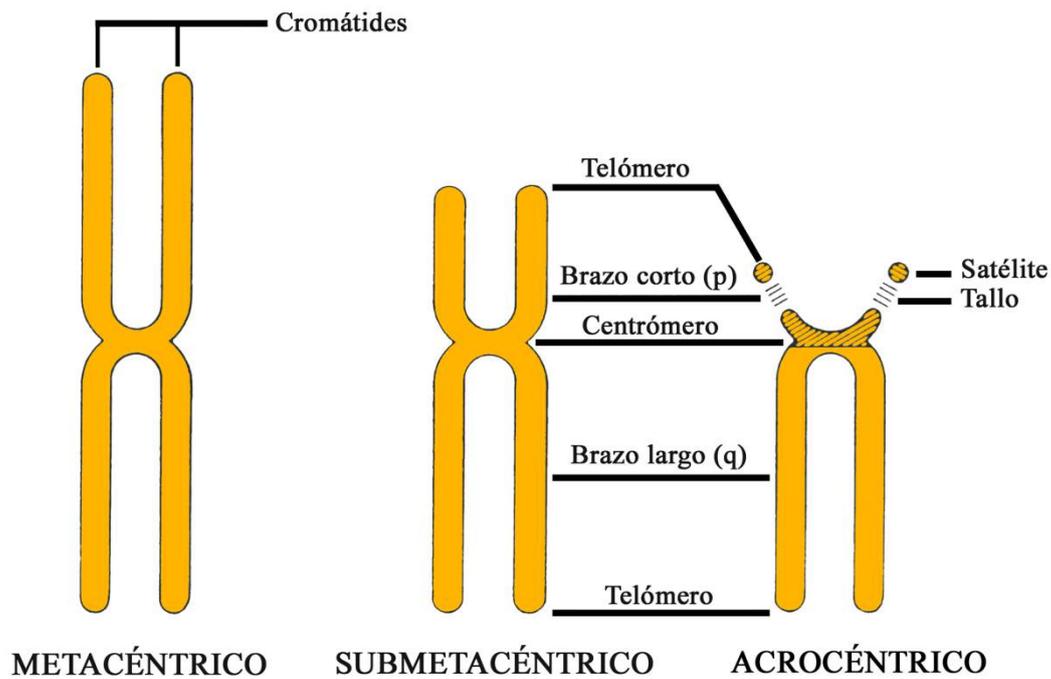


FIGURA XIII.2. CLASIFICACIÓN DE LOS CROMOSOMAS POR LA POSICIÓN DEL CENTRÓMERO. Los cromosomas telocéntricos se pueden encontrar presentes en algunas especies de plantas (IIB, 2014).

Desde 1970 se han desarrollado nuevas técnicas que permiten identificar a cada par de cromosomas por su patrón característico de bandas transversales, que se ponen de manifiesto con métodos especiales de tinción. Las técnicas de bandeado cromosómico consisten en exponer a los cromosomas a diferentes sustancias y colorantes para desnaturalizar porciones de proteínas del esqueleto cromosómico (histonas y no histonas) o evidenciar secuencias de ADN con mayor o menor cantidad de enlaces bi o trivalentes entre las bases nitrogenadas constitutivas de ADN (guanina, citosina, adenina o timina). Estas posibilidades permitieron un gran impacto a nivel clínico ya que permitieron diferenciar y caracterizar genéticamente un elevado número de síndromes.

Caspersson publicó la primera observación de cromosomas por métodos fluorescentes mediante la adición de mostaza de quinacrina, denominado bandeado Q; posteriormente, Arrighi desarrolla el bandeado C como una técnica que permite reconocer principalmente las regiones centroméricas. Por otro lado, Sumner y Evans obtenían el mismo resultado luego de un pretratamiento de los preparados con una solución salina a 60°C. En ambos casos se obtenía un patrón de bandas, luego de la tinción con colorante de giemsa, que era enteramente equivalente al patrón de bandas Q (de quinacrina) obtenido por Caspersson. En este bandeado no fluorescente, las bandas que se teñían de oscuro (bandas G) eran las mismas que se observaban brillantes en la tinción con quinacrina, mientras que las bandas claras correspondían a las bandas apagadas u opacas con quinacrina. Este patrón de bandas no fluorescentes se denominó G (giemsa); el más empleado hasta la actualidad en los laboratorios de Genética (Caspersson et al., 1999).

La descripción cada vez más exacta del estudio de las alteraciones cromosómicas, su comportamiento en la división celular y sus implicaciones en diversas

patologías, abre día a día el espectro de acción de la Genética. Actualmente, la Citogenética usa metodologías derivadas de la Genética Molecular como las técnicas FISH para el esclarecimiento de varias cromosopatías congénitas submicroscópicas. Las alteraciones genéticas en general, pueden tener un patrón hereditario: autosómico dominante, autosómico recesivo, ligado al sexo, herencia mitocondrial y herencia por impresión génica del ADN, edición del ARN y anticipación genética, dentro de los procesos de inestabilidad cromosómica (CI) que hacen referencia a cambios en la morfología, en la estructura cromosómica o en el número de cromosomas. Hay regiones cromosómicas que presentan alta variabilidad. Una correcta discriminación de las variantes inofensivas de verdaderas anomalías, especialmente durante el diagnóstico prenatal, es crucial para permitir un asesoramiento genético (Kowalczyk et al. 2007). Por lo tanto, una caracterización completa de la anomalía detectada por el uso de todos los métodos disponibles es necesaria para un asesoramiento genético adecuado.

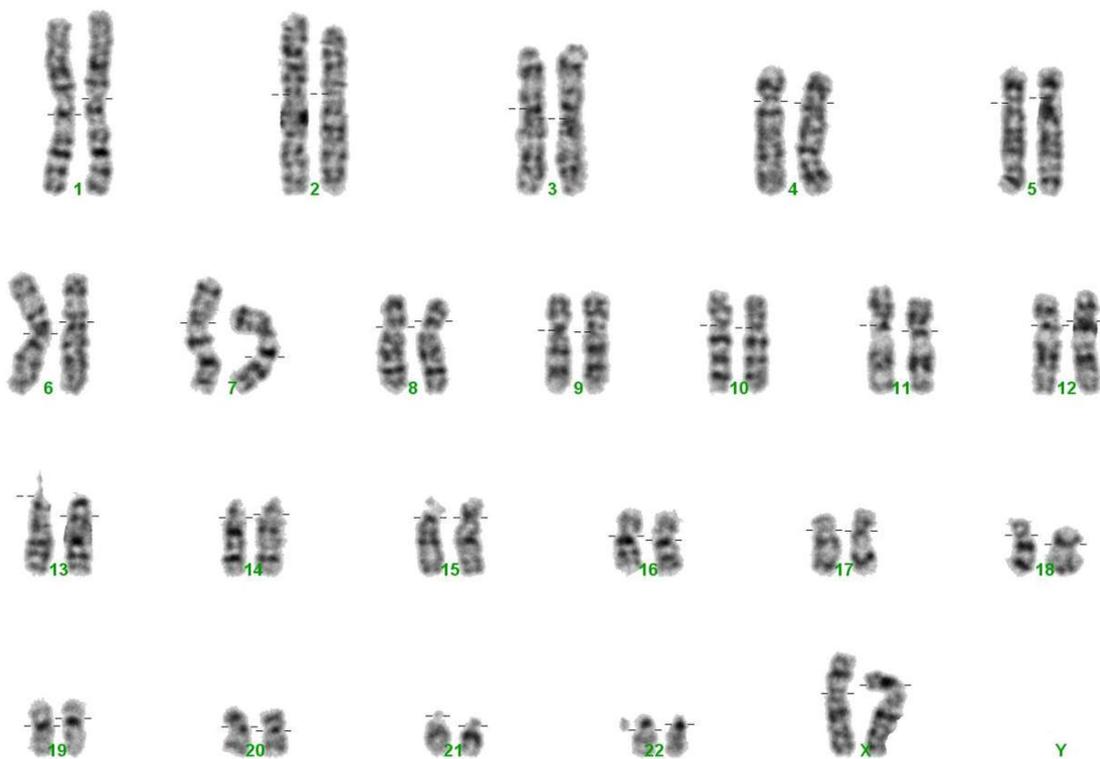


FIGURA XIII.3. CARIOTIPO HUMANO (MUJER). Fotografía que representa los 22 pares de cromosomas somáticos y un par de cromosomas sexuales en el humano [Modificado de Paz-y-Miño & López-Cortés, 2011; IIB, 2014].

3. ANORMALIDADES CROMOSÓMICAS NUMÉRICAS

Generalmente se ha asociado anomalías numéricas a fallos en las etapas de metafase y anafase, sin embargo, también este tipo de alteraciones pueden deberse a fallas en los puntos de control (*checkpoints*) G1-S y G2-M generando aneuploidías. Se denominan aneuploidías, a ganancias o pérdidas de todo el juego de cromosomas ($36 + 23$ ó $46 + 46$) o poliploidías mucho más grandes, sobre todo observables en cáncer. En recién nacidos se observa esporádicamente este tipo de alteraciones, que no son viables y se traducen en polimalformaciones.

Existen varios tipos de proteínas asociadas con la regulación del ciclo celular en células de mamíferos que han sido relacionadas con problemas en la segregación de cromátides provocando alteraciones numéricas de los cromosomas. En la actualidad se realiza la identificación de genes que promuevan la formación de estas proteínas, que regulen la etapa G1-S y la unión de los microtúbulos con los cinetocoros de los cromosomas en la mitosis. Los complejos SCF (Skp1-Cullin-F-box) y APC/C (complejo promotor de anafase) son dos clases de ligasas de ubiquitina que regulan la transición de G1-S y metafase-anafase, respectivamente (Carballo et al., 2006).

En investigaciones del punto de control G2-M se ha identificado el gen CHFR (*Checkpoint with forkhead and ring finger domains*), el cual se encarga de regular los estadios de la mitosis, deteniendo la condensación cromosómica en respuesta a un estrés mitótico e interactuando con PLK (*Polo-like kinase*) (Erson, 2004). Investigaciones recientes han descubierto otras proteínas ligadas con este punto de control, las AU-K (*Aurora kinase*) corresponden a una nueva familia de quinasas, la desregularización de estas proteínas induce fallos en el ensamblaje del huso, en la función del punto de control G2-M y en la división celular provocando poliploidías (Meraldi et al., 2004).

4. MOSAICO Y QUIMERA

Se denomina mosaico a dos o más líneas celulares genéticamente diferentes en un mismo individuo. El mosaicismo puede ser causado por factores de mutación en el ADN, factores epigenéticos o anormalidades cromosómicas. Este puede presentarse tanto en la línea somática como en la línea germinal. El mosaicismo surge durante la embriogénesis, es decir, es un evento postcigótico, y tanto el mosaicismo somático como el germinal pueden coexistir en el mismo individuo dependiendo de la célula específica afectada y el momento de desarrollo del evento de inducción del mosaicismo. La frecuencia de mosaicismo podría depender del trastorno en particular, el tejido de origen o de presión selectiva. Por ejemplo, más del 83% de los pacientes con tirosinemia hereditaria tipo I, debido a mutaciones heredadas en el gen FAH (fumarilacetoacetato hidrolasa), parecen tener hígados mosaico que consisten en poblaciones mutantes y revertido de hepatocitos (Kvittingen, 1994).

5. ANORMALIDADES CROMOSÓMICAS ESTRUCTURALES

Las anormalidades estructurales en los cromosomas son cambios en la estructura de uno o varios de ellos. Estos cambios morfológicos pueden ser espontáneos o inducidos por diversos agentes mutagénicos, y si bien este tipo de rearrreglos tienen un importante rol evolutivo, también pueden repercutir a corto plazo en el fenotipo del individuo o de su descendencia. Tienen origen en errores en los mecanismos de reparación del ADN, como resultado de una reparación incorrecta de roturas de doble cadena que desencadena en rearrreglos morfológicos de los cromosomas. La expresión de los rearrreglos cromosómicos en la división celular puede ser de dos tipos:

5.1. Estables

Las alteraciones estructurales tienen que ver con rotura de cromosomas y el consiguiente rearrreglo en una combinación anormal. De la misma manera que las

anteriores, se puede encontrar algunos tipos de estas alteraciones, pudiendo ser estables e inestables. Para comprender de mejor manera, la disposición cromosómica es:

AB -o- CDEF

Las alteraciones estructurales estables son las siguientes:

5.1.1. Duplicación

Una duplicación interesante es la que ocurre en la región terminal del cromosomas 21, específicamente la región q21, en esta se encuentra la información genética básica para producir el fenotipo del síndrome de Down. En estos casos, poco frecuentes y solo detectables por técnicas más finas como el FISH, el número cromosómico es 46.

AB -o- CDDEF

5.1.2. Delección

Existen muchas deleciones que producen fenotipos polimalformativos y los estudios sobre cáncer muestran que son causa primordial para la instauración de esta enfermedad.

AB -o- CEF

5.1.3. Inserción

Su origen puede ser una translocación no recíproca. Sobre todo en cáncer, muchas de las alteraciones cromosómicas que se encuentran son originadas en este tipo de alteración, y justamente la FISH ha servido para evaluar el origen del material genético sobrante.

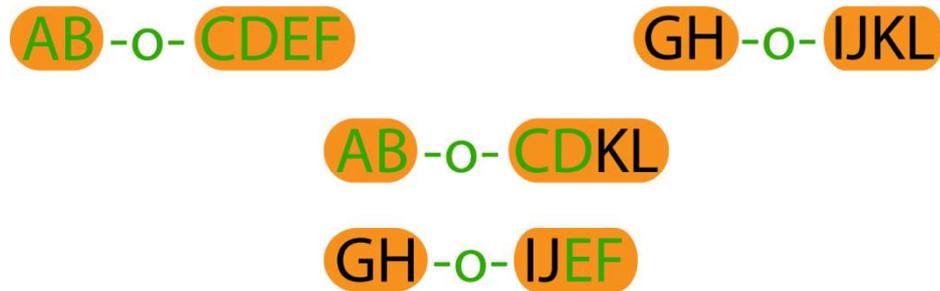
AB -o- CDXEF

5.1.4. Translocación

Existen dos tipos, las recíprocas y las robertsonianas. En la primera está involucrado cualquier cromosoma, mientras que la segunda solo se da entre los cromosomas acrocéntricos, se las conoce también como fusión centromérica. En la evolución de las especies, las fusiones centroméricas han sido importantes en la reorganización del material genético. Por ejemplo, el cromosoma 2 humano, es producto de la fusión centromérica de dos cromosomas del chimpancé.

5.1.4.1. Recíproca

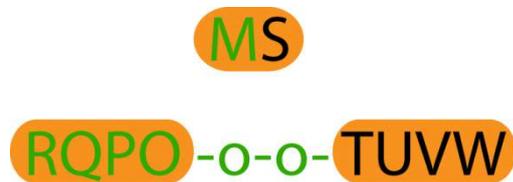
Este tipo de translocación consiste en la transferencia de segmentos entre dos cromosomas, de tal forma que se producen daños en la conformación pero no en el número total de los cromosomas.



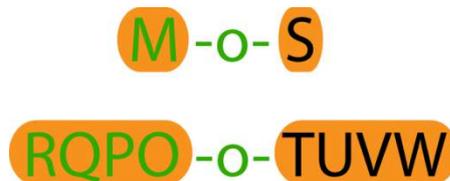
5.1.4.2. Robertsoniana



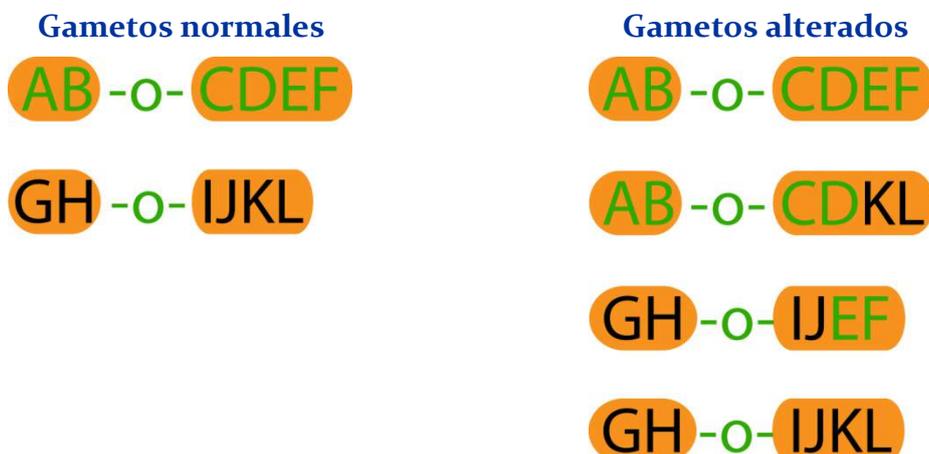
Tipo a: Un cromosoma se pierde ya que no tiene centrómero y se genera un cromosoma dicéntrico.

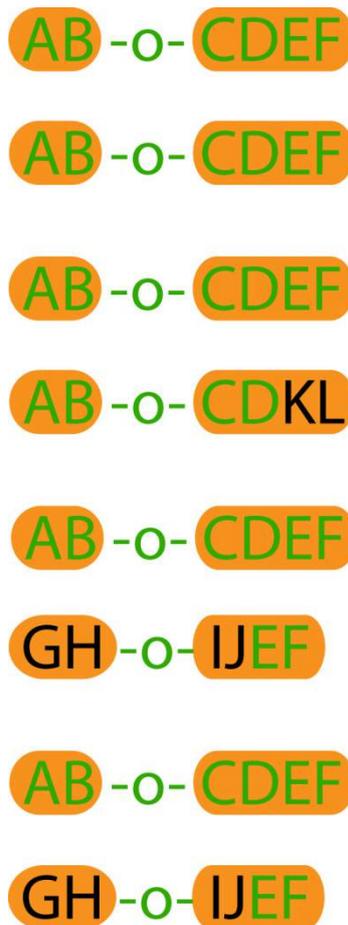


Tipo b: El microsoma suele perderse y se genera un cromosoma fusionado.



La translocación t(14;21) ocupa el 50% de todas las translocaciones descritas. Los individuos pueden ser portadores sanos de estas alteraciones, por lo tanto no presentan cambios en su fenotipo, aunque se ha descrito que ser portador podría estar asociado a problemas de fertilidad. Los portadores generan gametos anormales, así: los individuos con translocaciones recíprocas originan 4 tipos de gametos, uno normal, uno portador de la translocación y dos gametos alterados que al unirse con un gameto normal determinará individuos doblemente afectados, esto es, trisómico parcial de una zona de los cromosomas y monosómico parcial de otra.



Individuos formados

Las translocaciones robertsonianas producen 6 tipos de gametos. El siguiente ejemplo aclara este punto: utilizando la translocación $t(14;21)$ tenemos 6 gametos: 14 con el 21, 14;21, 14, 21, 14;21+21, 14;21+14.

Al unirse estos gametos con otro gameto perteneciente a cromosomas normales, durante la fecundación, se producirán individuos sanos e individuos afectados de alguna cromosopatía, así se originan enfermedades por translocación como el síndrome de Down (Tabla XIII.1):

Tabla XIII.1. Translocaciones robertsonianas y gametos

Gameto normal	Gameto alterado	Resultante	
14 y 21	14 y 21	14 y 21 14 y 21	Normal
	14;21	14;21 14 y 21	Portador de la translocación
	14	14 y 21 14	Monosómico
	21	14 y 21	Monosómico
	14;21+14	14;21+14 14 y 21	Trisómico inviable
	14;21+21	14;21+21	Trisómico 21

5.1.5. Inversión

Existen dos tipos, las paracéntricas y las pericéntricas.

5.1.5.1. Paracéntrica

Se refiere a que no involucra al centrómero.



5.1.5.2. Pericéntrica

Se refiere a que involucra al centrómero. La más frecuente de estas es la inversión del cromosoma 9, que se ha informado hasta en el 3% de individuos en algunas poblaciones. En el Ecuador es de muy baja frecuencia (< 1%).



Las inversiones también tienen comportamientos especiales en los individuos. Se puede portar una inversión y tener descendencia con afecciones cromosómicas. Los individuos que portan una inversión forman cuatro tipos de gametos: uno normal, uno con la inversión, un fragmento acéntrico y un gameto con un cromosoma dicéntrico. El cruce con un gameto normal puede producir individuos afectados, sobre todo de deleciones.

5.1.6. Isocromosomas

Tanto los brazos cortos como largos tienen la misma información, resultan de la rotura y reunión del centrómero.

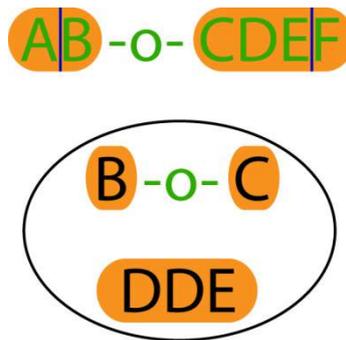


5.2. Inestables

Se presentan de dos maneras:

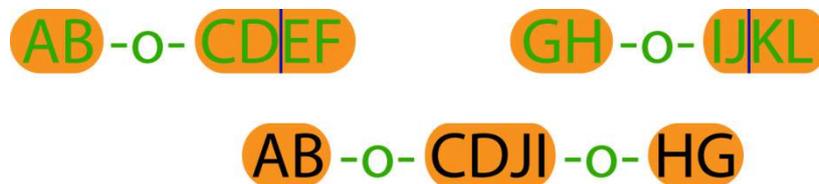
5.2.1. Anillo

Se produce por la rotura y deleción de los telómeros de un cromosoma, luego de lo cual los extremos libres buscan estabilidad y se fusionan. Los anillos siempre son postcigóticos, por lo tanto, siempre se los encuentra en mosaicos celulares. Los anillos autosómicos parece que se mantienen estables en el tiempo, tanto en sus diversas formas que pueden presentarse como en los porcentajes de las líneas celulares del mosaico.



5.2.2. Dicéntricos

Se producen por la deleción de los telómeros de un brazo de un cromosoma y de los telómeros de otro cromosoma; los extremos libres se juntan formándose un cromosoma con dos centrómeros funcionales.



Las anomalías cromosómicas estructurales se producen por pérdidas de material o deleciones, la doble deleción de los telómeros con la subsecuente formación de anillos, las ganancias de porciones de material determinando duplicaciones, las inversiones de porciones cromosómicas que involucren al centrómero (pericéntricas), o que no involucren al mismo llamadas paracéntricas, y las translocaciones o intercambio de material entre dos cromosomas; y, pueden ser translocaciones recíprocas o no recíprocas o inserciones.

Tabla XIII.2. Incidencia de las anomalías cromosómicas en la población general

Tipo	Incidencia por cada 1000 nv
Autosómicas	
Trisomía 21	1,15
Trisomía 13	0,05
Trisomía 18	0,15
+ marcador	0,22
+ marcador mosaico	0,90
Deleciones	0,90
Inversiones	0,13
Translocaciones D/D	0,79
Translocaciones D/G	0,20
Translocaciones recíprocas equilibradas	0,85
Translocaciones recíprocas desequilibradas	0,11
Otras	0,04
Gonosómicas	
Síndrome de Turner	Mujeres (m) hombres (h) 0,10 m
Polisómicas X	1,00 m
Síndrome de Klinefelter	1,00 h
Polisomía	1,00 h
Síndrome de Martin Bell o X frágil	1,80 h

Los mecanismos que producen anomalías cromosómicas se los detalla en la Tabla XIII.3.

Tabla XIII.3. Mecanismos que producen anomalías cromosómicas

Factor	Efecto
No disyunción meiótica	Aneuploidía [tri o monosomía]
No disyunción mitótica	Mosaicismos o aneuploidías
Anafase larga en meiosis	Monosomía
Anafase larga en mitosis	Mosaicismo
Doble fertilización	Triploidía-tetraploidía
Retención del 2do cuerpo polar	Triploidía-tetraploidía
Fusión de cigotos gemelos	Gemelos unidos-quimeras
Rotura y reorganización cromosómica	Anomalías estructurales
Segregación anómala de translocaciones	Mono o trisomías parciales
Crossing over en meiosis de heterocigotos	Cromosomas acéntricos, dicéntricos

En relación a cifras de cromosomopatías en estudios ecuatorianos, los datos son limitados. El estudio de Varas da una frecuencia de alteraciones cromosómicas de 0,25%, repartidas en la Tabla XIII.4.

Tabla XIII.4. Frecuencia de cromosomopatías en Quito, año 1989

Cromosomopatía	Número	%	Frecuencia
Trisomía 21	23	76,7	0,19
Trisomía 13	3	10,0	0,03
Trisomía 18	2	6,7	0,02
Trisomía 9 en mosaico	1	3,2	0,01
Síndrome Klinefelter	1	3,2	0,01
Total de cromosomopatías	30		0,25
Total nacidos vivos	12112		

(Varas, 1989)

Las cifras de cromosomopatías en el Ecuador, obtenidas del trabajo de nuestro laboratorio, se las ha agrupado dentro de lo que constituye el Registro Nacional Colaborativo de Alteraciones y Variantes Cromosómicas Humanas (RNCAVCH) (Paz-y-Miño et al., 1993a), y que actualmente forma parte del *Repository of Human Chromosomal Variants and Anomalies* (Borgaonkar, 1987). Este registro tiene como objetivos: Recopilar información sobre la relación fenotipo-genotipo; tener una base de datos sobre las cromosomopatías; encontrar alteraciones y variantes típicas de nuestra región; localizar los laboratorios de genética, sus líneas de trabajo y sus resultados. Para conformar este registro se partió de los siguientes prerequisites:

- Confidencia de la información.
- Identificación adecuada de cada caso.
- Información completa del cariotipo.
- Facilidad para localizar a los pacientes.

La información que se incluye en el registro, producto de la recopilación de los datos registrados en los diferentes laboratorios que han colaborado voluntariamente, de

la información obtenida a través de la bibliografía científica y de comunicaciones personales con los diferentes genetistas del país, es precisa e incluye: tejido usado para el estudio y confección del cariotipo; causa de acercamiento o inclusión de los *probandus*, sea estudio poblacional, en instituciones, población control, estudio de investigación, referencia clínica o tipo de alteración cromosómica; y, datos del fenotipo del *probandus*.

Para la base de datos del registro se ha utilizado el *International System for Human Cytogenetic Nomenclature* y el sistema de clave del *Repository of Human Chromosomal Variants and Anomalies, an International Registry of Abnormal Karyotypes*. Bajo este esquema, hasta el año 2012 se han tabulado un total de 858 autosomopatías y 329 gonosomopatías en individuos de la población ecuatoriana.

Desde hace algunos años se ha puesto atención en un fenómeno interesante relacionado con las variaciones interindividuales de las cromosomopatías estructurales o de las genopatías (síndromes reconocibles), esto es, la variación fenotípica que se encuentra entre los afectos de la misma cromosomopatía o genopatía y que confieren variabilidad a los síndromes con patrones reconocibles, por ejemplo: al síndrome de Prader Willi se lo ha asociado con una deleción del brazo largo del cromosoma 15 (del 15q11), y se caracteriza por hipotonía, manos y pies pequeños, ojos en forma de almendra, hipogonadismo, retardo mental, obesidad y estatura baja (patrón sindrómico reconocible); pero, pueden existir variaciones fenotípicas como defectos en la pared ventricular, hipoplasia del lado derecho del corazón, anomalías renales y úvula bífida.

Estas variaciones fenotípicas más o menos graves, parecen deberse al tipo y extensión de la alteración cromosómica, es decir, a la cantidad de genes implicados en la deleción; esto significa, que la deleción 15q11 no es siempre igual a nivel molecular, pudiendo variar en unas decenas o centenas de bases del segmento de ADN principal o gen clave, lo que se manifestaría en fenotipos atípicos de acuerdo a los genes o porciones de genes implicados en la deleción 15q11; a este fenómeno, en que la información genética se perdería en mayor o en menor cantidad alrededor de los genes claves del síndrome con patrones reconocibles, se lo ha llamado síndrome de genes contiguos. Este nuevo comportamiento de los genes solos o dentro de los cromosomas se ha visto en otras enfermedades y síndromes con fenotipos variados, como el síndrome de DiGeorge, el síndrome de Langer-Giedion, el síndrome de Miller-Dieker, retinoblastoma, tumor de Willms con aniridia, el síndrome de Beckwith-Wiedemann, entre otros, que actualmente han despertado gran inquietud en los investigadores.

En el año 2012, el Instituto de Investigaciones Biomédicas publicó un artículo científico en *Journal of Biomedicine and Biotechnology* sobre las variantes y alteraciones cromosómicas en la población ecuatoriana. Un total de 2636 individuos han sido analizados durante los últimos 13 años. Los cariotipos han sido observados a través de la técnica bandeado G durante el período 1998-2012. Los individuos llegaron de diferentes partes del país y fueron referidos al IIB para realizar los respectivos análisis citogenéticos (Paz-y-Miño et al., 2012b). Los diagnósticos fueron clasificados de acuerdo al *An International System for Human Cytogenetic Nomenclature* (Shaffer et al., 2005) y organizados en número y porcentaje de casos con autosomopatías cromosómicas, gonosomopatías cromosómicas, variantes cromosómicas y polimórficas.

En la siguiente tabla se detallan las autosomopatías cromosómicas registradas:

Tabla XIII.5. Autosomopatías cromosómicas

Casos	Número	Porcentaje (%)
Trisomía 9 (mosaico)	2	0,2
Trisomía 13	14	1,6
- Mosaico	1	0,1
Trisomía 18	19	2,2
- Mosaico	1	0,1
Trisomía 19	2	0,2
- Mosaico	1	0,1
Trisomía 21		
- Trisomía libre	674	78,6
- Mosaico	91	10,6
- Isocromosoma	5	0,6
- Translocación	14	1,6
- Translocación mosaico	1	0,1
Trisomía 22	1	0,1
Trisomía parcial		
- 4p+	2	0,2
- 7p+	1	0,1
- 9p+	1	0,1
- 14p+	3	0,3
- 15p+	3	0,3
- 19p+	2	0,2
- 19q+	1	0,1
- 21q+	1	0,1
- 22p+	2	0,2
Monosomía parcial		
- 5p-	4	0,5
- 12p-	1	0,1
- 17q-	1	0,1
- 13q-	3	0,3
- 18p-	1	0,1
Isocromosoma 17	1	0,1
Cromosoma 4 anillo	1	0,1
Cromosoma 9 anillo	1	0,1
Cromosoma 15 anillo	1	0,1
inv (9) mosaico	1	0,1
Add (8) (p23)	1	0,1
Total	858	100

6. CASOS CLÍNICOS

En el Instituto de Investigaciones Biomédicas se han analizado varios casos de gran interés en el área de la Citogenética Molecular. A continuación se presentan dos:

6.1. Caso 1: Anillo en el cromosoma 4

Los cromosomas en anillo no son comunes, usualmente los pacientes con esta alteración genética comprenden graves dismorfías fenotípicas, retardo mental intermedio y la imposibilidad de reproducción. En lo que respecta al cromosoma 4 en anillo, se han reportado 20 casos en la literatura en todo el mundo (NCBI, 2013).

En el IIB se recibió el caso de una paciente de género femenino producto de una tercera gesta de padres sanos sin ninguna anomalía patente. La madre presentó fenotipo normal. La paciente nació de 40 semanas con un Apgar de 8-9. Su talla fue de 47 cm, su perímetro cefálico de 32 cm y su peso de 2940 gramos. Presentó dismorfogénesis importante (frente aplanada, nariz picuda, microcefalia, micrognatia y un orificio de 0,5 mm en la región lumbosacra), estatura baja y retardo mental leve.

A la paciente se le realizó el estudio citogenético a los 10 días de nacimiento, lo que reveló la presencia de un anillo del cromosoma 4 en el 80% de las metafases analizadas y la línea normal de 46 cromosomas en el 20% restante (Figura XIII.4). Por su parte, la madre mostró un cariotipo normal 46, XX.

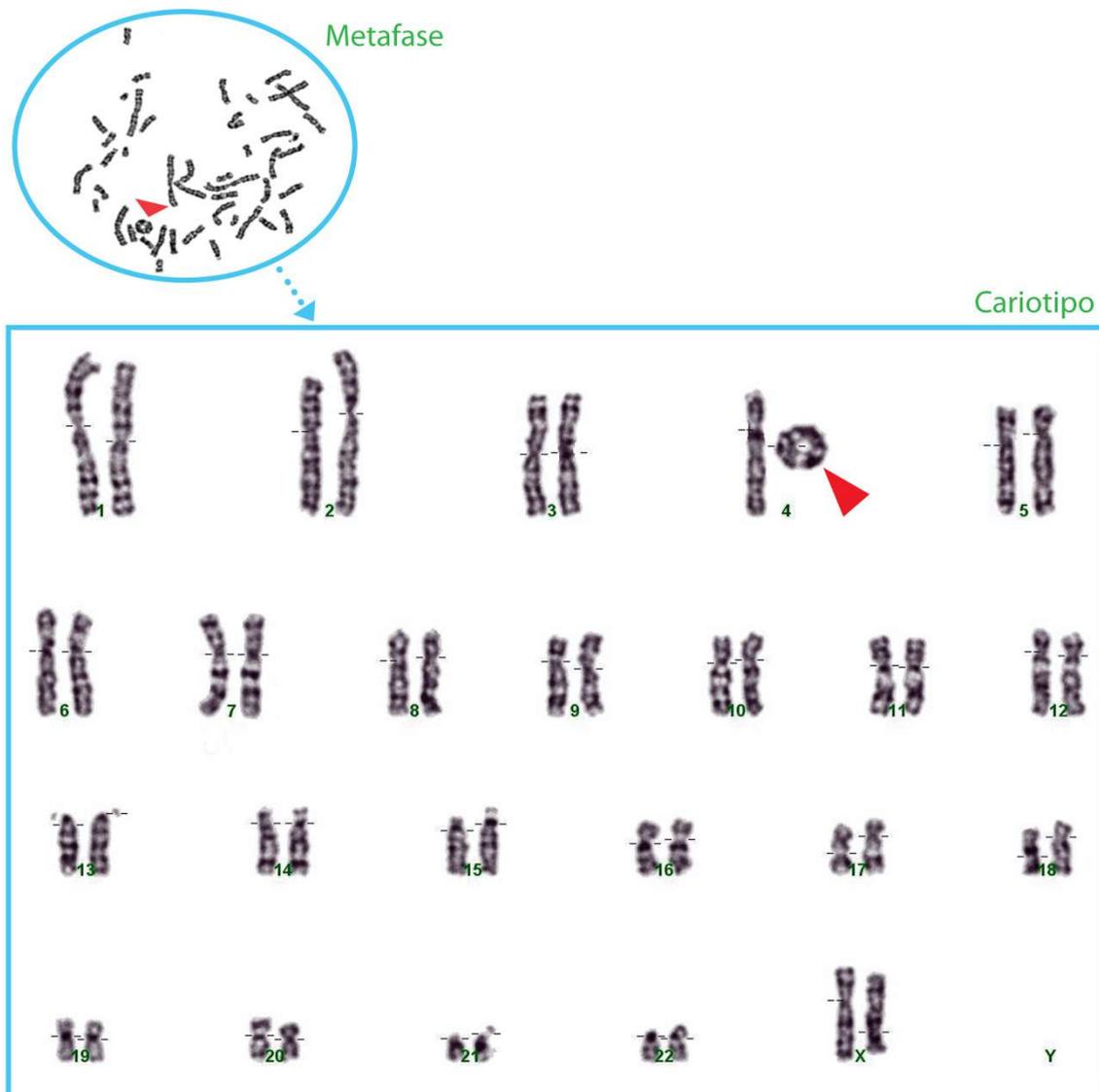


FIGURA XIII.4. ANÁLISIS CITOGENÉTICO CONVENCIONAL (CASO 1). Se puede observar la presencia de un anillo en el cromosoma 4, tanto en la metafase como en el cariotipo (IIB, 2014).

Diez años después se volvió a realizar el estudio a la paciente y se realizaron arrays de mapeo genético; se utilizaron 750 ng de ADN para la hibridación en el array

Affymetrix 750K, siguiendo las instrucciones del fabricante. Los arrays se lavaron en la estación de fluidos Affymetrix 450 y fueron escaneados utilizando un escáner GeneChip 3000 (Tabla XIII.6).

Tabla XIII.6. Análisis de arrays

Cromosoma	Banda	Inicio (Mb)	Fin (Mb)	Alteración	# copias	Genes
4	p16,3	68345	1778803	Pérdida	1	ZNF595, ZNF718, ZNF876P, ZNF732, ZNF141, ABCA11P, ZNF721, PIGG, PDE6B, ATP5I, MYL5, MFSO7, POGF3, LOC100129917, CPLX1, GAK, TMEM175, DGKQ, SLC26A1, IDUA, FGFR1, RNF212, TMED11P, SPON2, LOC100130872-SPON2, LOC100130872, CTBP1, C4orf42, MAEA, KIAA1530, CRIPAK, FAM53A, SLBP, TMEM129, TACC3
4	p16,3	1784441	2126584	Ganancia	3	FGFR3, LETM1, WHSC1, SCARNA22, WHSC2, MR943, C4orf48, NAT8L, POLN
4	p35,2	187900881	190957460	Pérdida	1	ZFP42, TRIML2, TRIML1, LOC401164, FRG1, TUBB4Q, FRG2

La utilización de los arrays determinó las pérdidas de 4p16,3 y 4q35,2 que llevaron a la formación del anillo cromosómico. Se ha podido asociar genes de 4p16,3 con el fenotipo de la paciente.

6.1.1. Análisis del cromosoma 4 mediante la técnica FISH

Para confirmar las regiones perdidas en las partes terminales del cromosoma se utilizó la técnica FISH. Para este análisis se emplearon sondas para evaluar el estado de 4p16,3 (cromosoma 4: 492870-793359) y 4q35,2 (cromosoma 4: 190183811-190408149), y como control el centrómero de 4 (cromosoma 4: 48461959-49066696) según el protocolo de origen (Agilent) (Figura XIII.5).

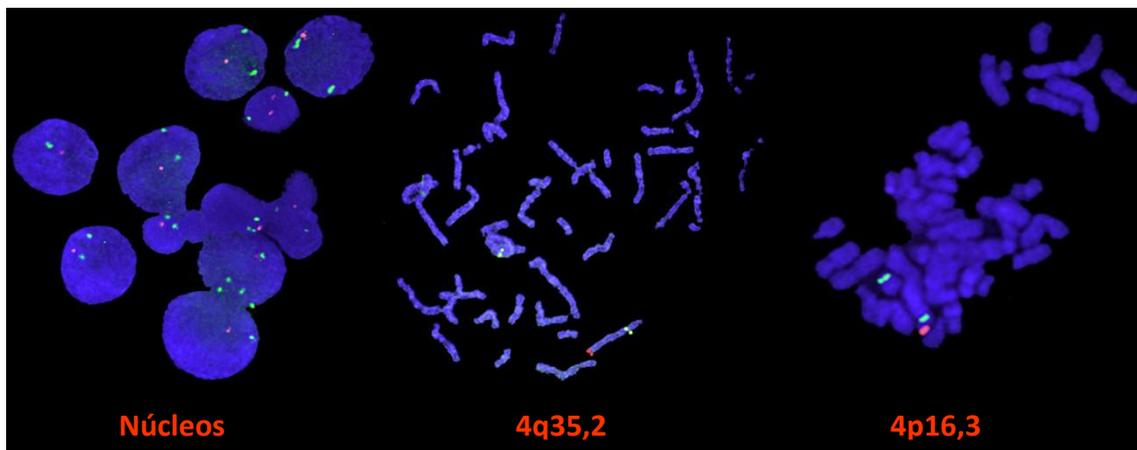


FIGURA XIII.5. REGIONES DEL CROMOSOMA 4 ANALIZADAS MEDIANTE FISH. Esta técnica permite ver la presencia de regiones teloméricas y centroméricas mediante sondas fluoromarcadas (IIB, 2014).

6.2. Caso 2: Trisomía parcial en el cromosoma 8

Alrededor de 40 casos han sido descritos con una anomalía de 8p que se ha referido a duplicaciones o inversiones (Feldman et al., 1993; Minelli et al., 1993). La

trisomía 8 es una anomalía cromosómica poco frecuente. Se estima que presenta una prevalencia de 1/25000 recién nacidos con una relación hombre-mujer de 5:1.

Llegó a consulta una niña de 3 semanas con un fenotipo similar al descrito en la trisomía parcial del cromosoma 8. Este incluía la presencia de anomalías en las fontanelas, paladar alto, orejas de implantación baja, hipertelorismo, micrognatia, hipotonía muscular generalizada, retraso psicomotor moderado próximo a grave, trastornos del tono y la postura, hipoacusia neurosensorial ligera bilateral. Además, presentaba convulsiones tónico clónicas generalizadas que se acompañaban de cianosis y desviación de la mirada. Al realizarle un electroencefalograma se detectó un electroonda paroxístico focal de predominio central izquierdo. Se le realizó también una TAC de cráneo, la cual mostró una leve ventriculomegalia y un ecocardiograma que permitió evidenciar un soplo sistólico. Por otro lado, la paciente también presentaba polidactilia, la cual no ha sido reportada en pacientes con esta alteración cromosómica.

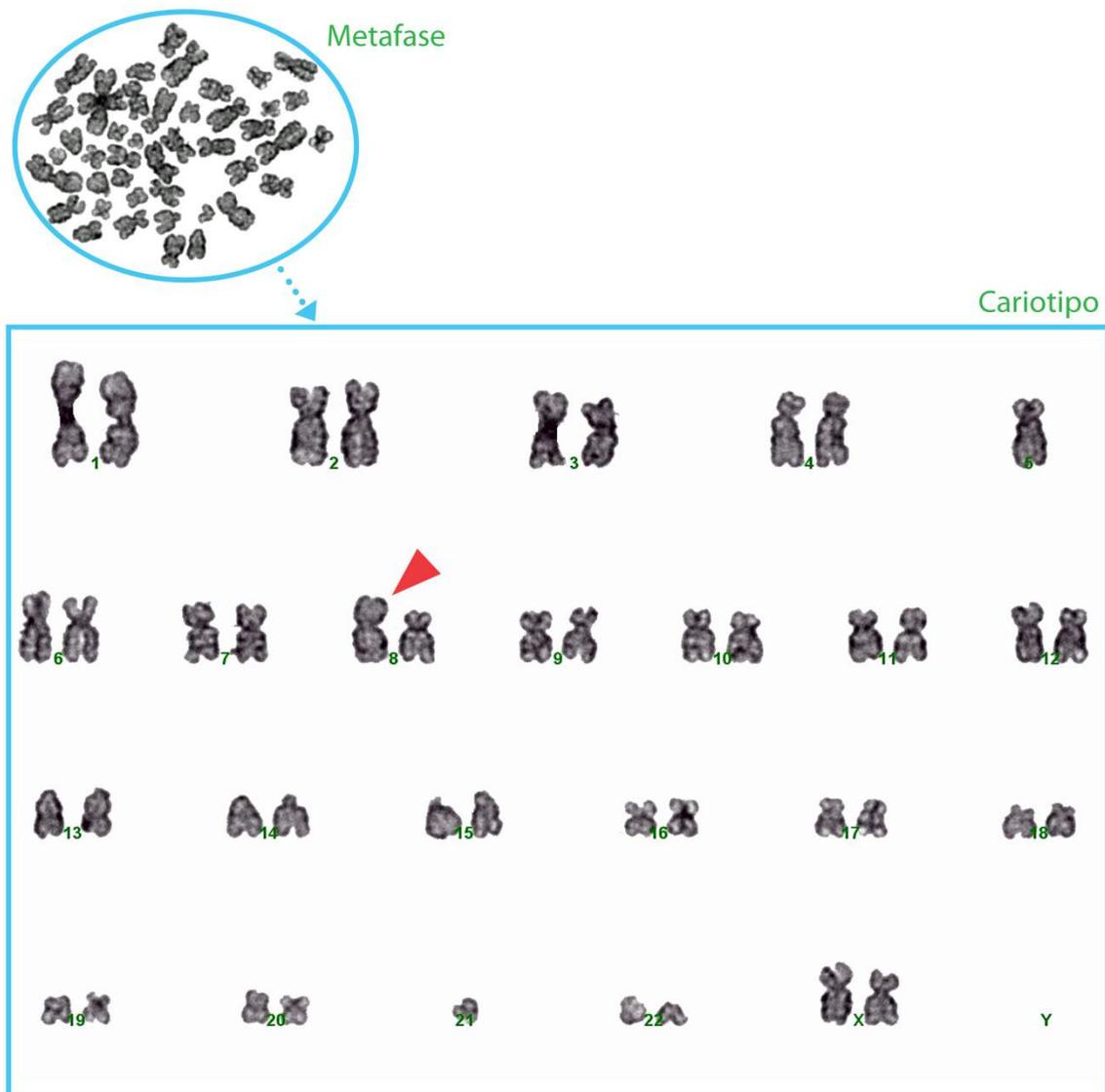


FIGURA XIII.6. ANÁLISIS CITOGENÉTICO CONVENCIONAL (CASO 2). Se puede observar la presencia de una trisomía parcial en el cromosoma 8 en el cariotipo del paciente investigado [IIB, 2014].

Se decidió realizar el cariotipo a la niña y a sus progenitores. Para este análisis se tomó una muestra de sangre periférica y se realizó un cultivo de 72 horas con RPMI 1640 suplementado con suero fetal bovino. Los linfocitos fueron estimulados con fitohemaglutinina. Los resultados mostraron un cariotipo 46,XX,add(8)(p23.3?) en la niña, 46,XX,t(2;8)(p23;p23) en la madre y un cariotipo normal en el padre (Figura XIII.7).

Para definir con mayor exactitud la alteración encontrada en el cromosoma 8 de la niña y los puntos de rotura de los cromosomas involucrados en la translocación identificada en la madre, se realizaron arrays de mapeo genético. La utilización de los arrays evidenció las alteraciones del brazo corto del cromosoma 8 responsables del fenotipo observado en la paciente. También se identificaron cambios en el número de copias que podrían corresponder a los puntos de rotura involucrados en la translocación detectada en la madre. Se ha podido asociar genes del brazo corto del cromosoma 8 con el fenotipo de la paciente (Figura XIII.7), y genes de los cromosomas 7 y 11 responsables de la polidactilia.

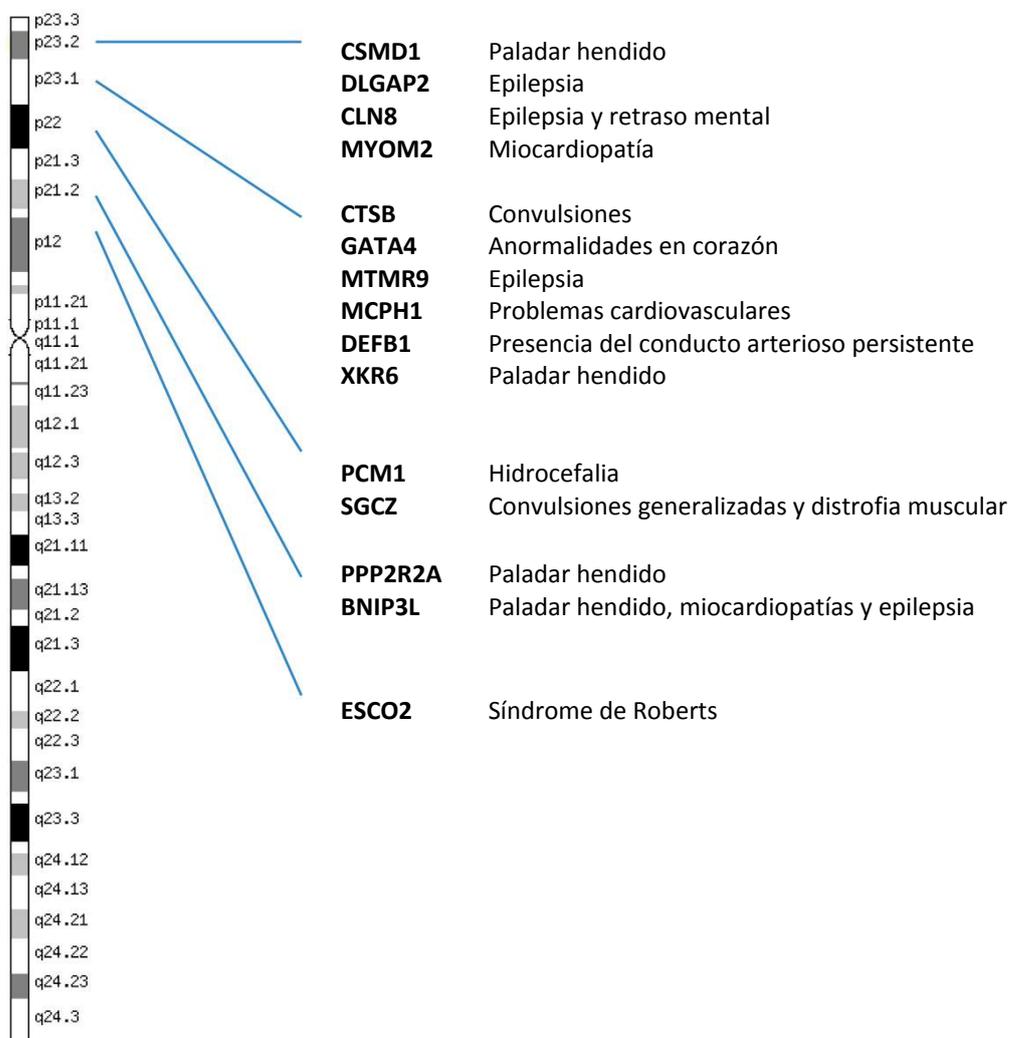


FIGURA XIII.7. GENES ASOCIADOS CON FENOTIPO EN EL CROMOSOMA 8. El paladar hendido, la epilepsia, distrofia muscular y los problemas cardiovasculares se asocian con alteraciones en el cromosoma 8 (GeneCards, 2014; IIB, 2014).

En la siguiente tabla se detallan las gonosomopatías cromosómicas registradas:

Tabla XIII.7. Gonosomopatías cromosómicas

Casos	Número	Porcentaje (%)
Síndrome de Turner		
- Monosomía	132	40,1
- Mosaico	109	33,1
- Isocromosoma	6	1,8
- Isocromosoma mosaico	8	2,4
- Anillo mosaico	1	0,3
Trisomía X	3	0,9
- Mosaico	3	0,9
Fra [X] (q27,3)	6	1,8
Síndrome de Klinefelter	17	5,2
- Mosaico	4	1,2
47, XYY	7	2,1
48, XXYY	4	1,2
49, XXXXY	1	0,3
Desorden en el desarrollo sexual		
- Pseudohermafroditismo femenino	6	1,8
- Pseudohermafroditismo masculino	17	5,2
- Disgenesia gónadas mixtas	2	0,6
- Disgenesia gónadas puras	1	0,3
- Genitalia ambigua	2	0,6
Total	329	100

En la siguiente tabla se detallan las variantes y translocaciones registradas:

Tabla XIII.8. Translocaciones y variantes

Translocación	Número	Translocación	Número	Variantes	Número
t(1;20)	1	t(6;7)	2	1qh+	2
t(2;8)	1	t(7;10)	1	9qh+	6
t(2;12)	2	t(13;14)	3	15ps+	1
t(2;18)	2	t(13;15)	2	16ph+	1
t(4;11)	3	t(X;8)	3	Yqh+	23
t(5;14)	5	t(X;21)	1	Yph-	4
		Total	26	Total	37

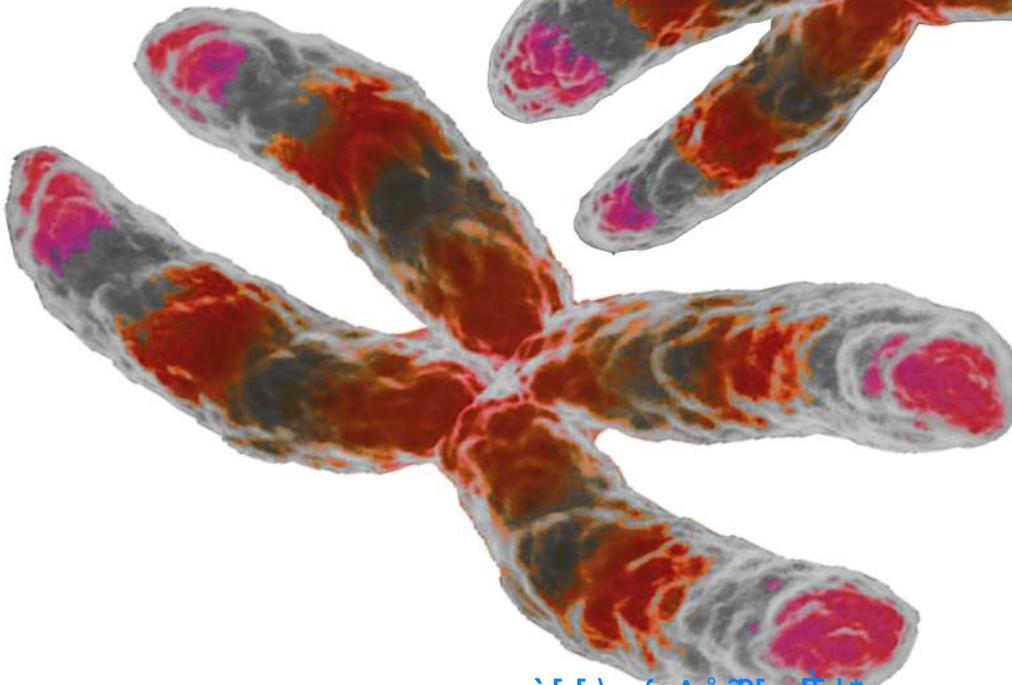
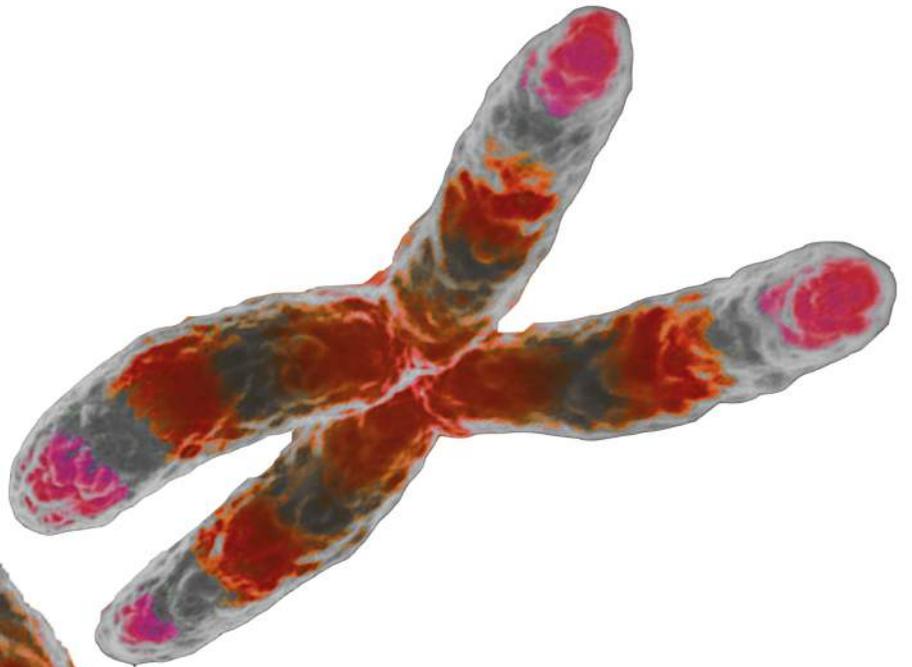
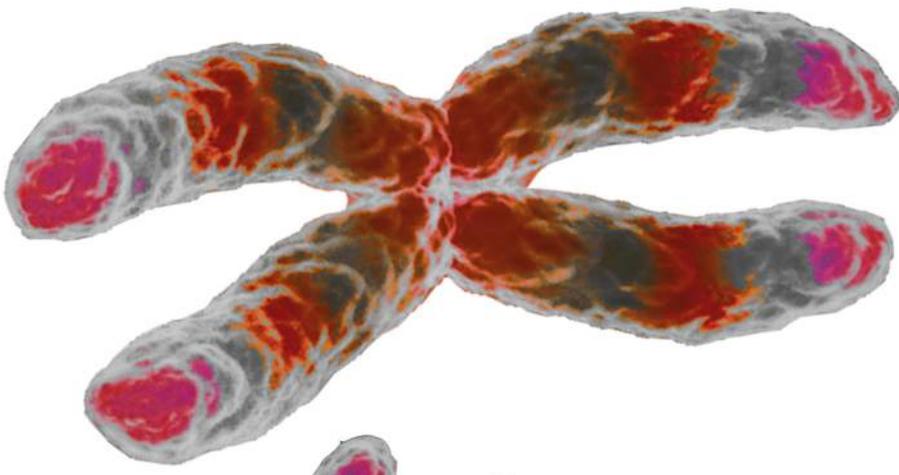
Como datos concluyentes, la trisomía 21 es la autosomopatía cromosómica de mayor porcentaje: 78,6% de trisomía libre y 10,6% en mosaico en la población analizada; seguida de la trisomía 18 (2,2%) y la trisomía 13 (1,6%).

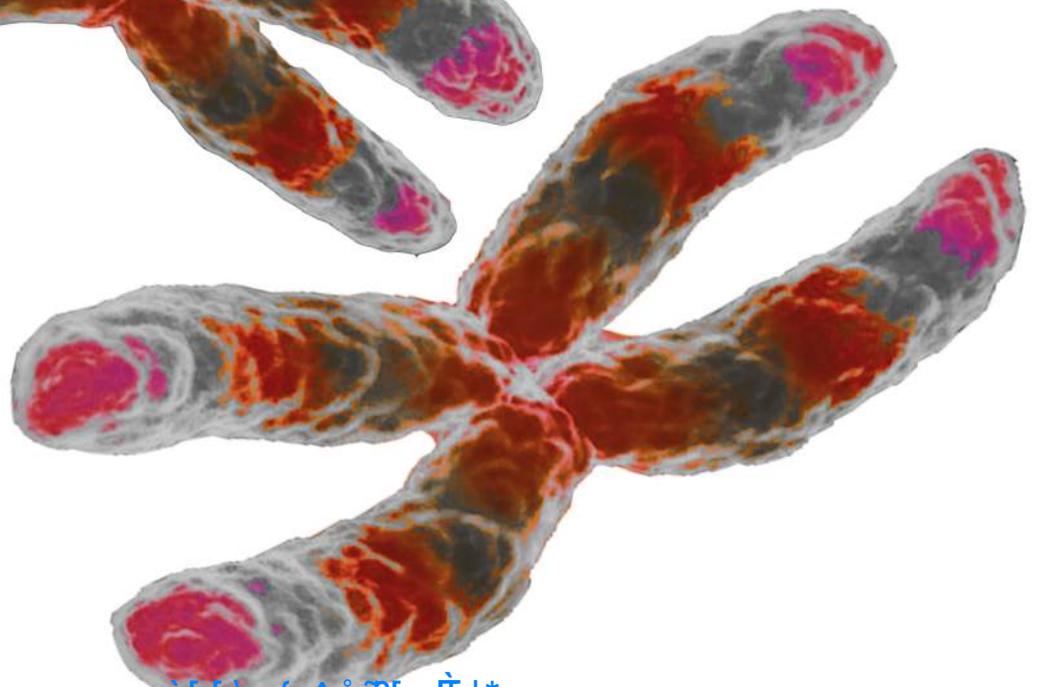
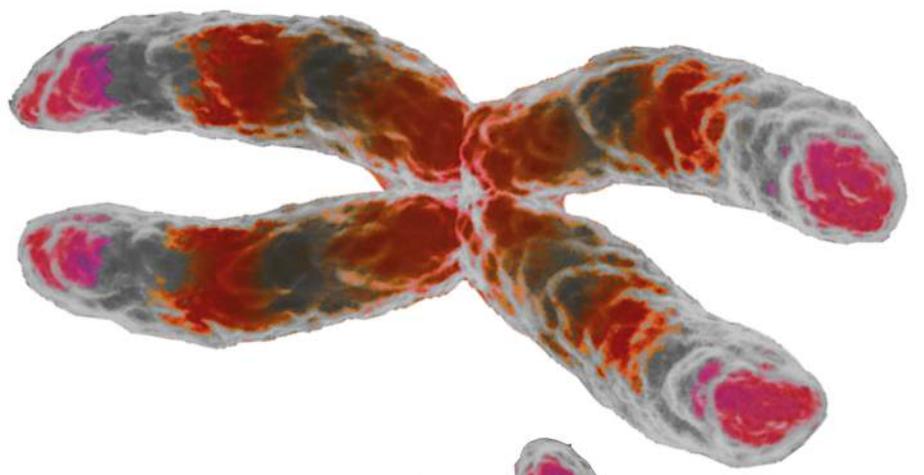
Con respecto a las gonosomopatías cromosómicas, el síndrome de Turner es el más frecuente: 40,1% en monosomía y 33,1% en mosaico; seguido del síndrome de Klinefelter con el 5,2% y el pseudohermafroditismo masculino con el 5,2%.

En cuanto a variantes y polimorfismos, la variante Yqh+ se encontró presente en 23 de 37 individuos analizados (Paz-y-Miño et al., 2012b).

14

LA GENÉTICA DE LA
DIFERENCIACIÓN
SEXUAL





à[[]\•{ ^âæ[] •ĕ!*

CAPÍTULO XIV

LA GENÉTICA DE LA DIFERENCIACIÓN SEXUAL

Este capítulo trata sobre los factores genéticos involucrados en los procesos de diferenciación sexual tanto normal como alterada.

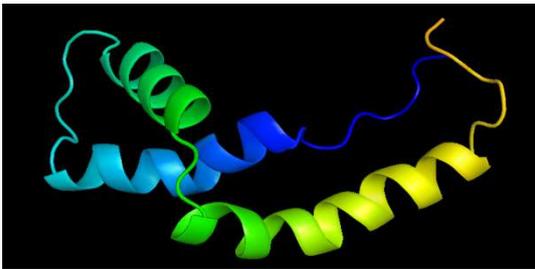
1. DIFERENCIACIÓN SEXUAL

La diferenciación sexual es un proceso complicado en el que juega un papel importante la información cromosómica, genética y hormonal. El fenotipo varón o mujer es el resultado de la armoniosa actividad de todos los factores mencionados (Goodfellow, 1991; Brown, 2002).

1.1. Diferenciación sexual normal

En primer término, la diferenciación sexual está comandada por la dotación cromosómica del cigoto. Cuando exista el cromosoma Y, la diferenciación de la gónada primitiva y del tubérculo genital primitivo serán hacia testículo y caracteres sexuales masculinos respectivamente; mientras que, la ausencia de cromosoma Y diferenciará hacia ovario y caracteres sexuales femeninos (McLaren, 1991; Paz-y-Miño et al., 1993b). Un aspecto interesante sobre la diferenciación sexual es el análisis del gen de la determinación sexual, llamado SRY (Tabla XIV.1).

Tabla XIV.1. Características del gen SRY

Características	Información	Estructura proteica
Símbolo oficial	SRY	 [Werner et al., 1995]
Nombre	Región Y que determina el sexo	
Otros alias	TDF	
Cromosoma	Y	
Localización	Yp11,3	
# Acceso NCBI	NC_000024,9	
Gen ID	6736	
Tamaño secuencia	897 bases	
Tamaño proteína	204 aa; 23884 Da	
Localización subcelular	Núcleo; citoplasma	

Este gen ha sido localizado en el brazo corto del cromosoma Y, en donde ya se pensaba que existía el factor de determinación testicular.



FIGURA XIV.1. CROMOSOMA Y HUMANO. Ubicación del gen SRY [GeneCards, 2014].

En la Figura XIV.2 observamos la amplificación de un fragmento de 470 pb correspondientes al gen SRY, tanto en un control positivo como en el caso analizado. El análisis también cuenta con la amplificación de un fragmento de 240 pb correspondientes al gen endógeno GAPDH, el cual se utiliza como control positivo de presencia de ADN.

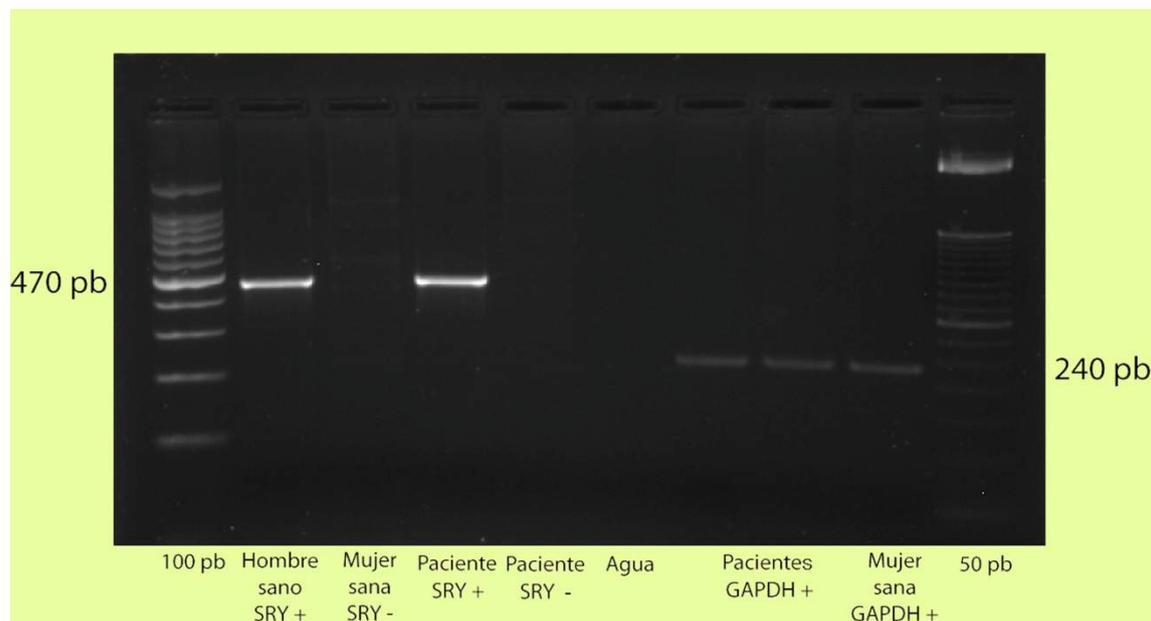


FIGURA XIV.2. ANÁLISIS MOLECULAR DEL GEN SRY. La amplificación del gen SRY ayuda a entender el genotipo de un individuo para asociarlo con su fenotipo [IIB, 2014].

El descubrimiento de este gen y de una secuencia similar en el brazo largo del cromosoma X, ha permitido actualizar los conceptos de diferenciación sexual. Bajo esta perspectiva, existen algunos prerequisites para la diferenciación genética y cromosómica del género (Brown, 2002):

- a) No se necesita todo el cromosoma Y para la identificación sexual, basta con el SRY.
- b) El cromosoma X tiene secuencias similares al gen SRY, que podrían estar activas o inactivas en presencia o ausencia del gen SRY del cromosoma Y.
- c) Existen otros genes implicados en la diferenciación sexual, que podrían estar regulados por el gen SRY, como con el gen CHI, MIF [factor de inhibición mulenaria], el antígeno H-Y y otros genes autosómicos.
- d) Los varones serían heterodímeros SRY positivos.
- e) Las mujeres serían homodímeros SRY negativos.

A nivel embrionario, la dotación cromosómica XY o XX producirá el siguiente efecto: el sexo heterogamético XY desarrollará los componentes de los conductos de Wolff hacia órganos sexuales internos masculinos (vesículas seminales, conducto deferente, epidídimo); el sexo homogamético XX, desarrollará los derivados del conducto de Müller hacia órganos internos femeninos (trompas uterinas, útero, vagina

superior), el tubérculo genital primitivo desarrollará hacia pene, escroto y uretra anterior en caso de ser XY, mientras que desarrollará labios mayores, menores, uretra anterior, vagina anterior y clítoris en caso de ser XX (Paz-y-Miño et al., 1993b).

Una vez formada la gónada masculina o femenina, ésta empezará a producir ciertas hormonas que coadyuvarán a la diferenciación sexual. Los andrógenos (testosterona y dehidrotestosterona) cooperarán en la formación del conducto deferente, vesículas seminales, epidídimo, cuerpo del pene y escroto, en el caso de ser varón y, en caso de ser mujer, participarán en la conformación del cuerpo del útero y la vulva (McLaren, 1991).

1.2. Diferenciación sexual alterada

La primera preocupación sobre la diferenciación sexual alterada surgió con el descubrimiento de individuos hermafroditas XX, varones XX y mujeres XY. Estas alteraciones cuestionaron algunos aspectos sobre la diferenciación sexual normal. El descubrimiento del antígeno H-Y, del gen SRY, de los papeles de las hormonas en el desarrollo de los caracteres sexuales primarios y secundarios, ha permitido comprender mejor las alteraciones de la diferenciación sexual y clasificarlas (Paz-y-Miño et al., 1993b).

2. CLASIFICACIÓN DE LOS ESTADOS INTERSEXUALES

Los estados intersexuales pueden tener la presencia de alteraciones en los conductos sexuales y de alteraciones del sexo gonadal.

2.1. Alteración de los conductos sexuales

Las alteraciones de los conductos sexuales pueden diferenciarse entre pseudohermafroditismo femenino y pseudohermafroditismo masculino.

2.1.1. Pseudohermafroditismo femenino

La dotación cromosómica es XX, los genitales internos son normales y los externos ambiguos. En algunos casos el origen puede estar en una falla en la exposición a los andrógenos fetales o maternos (síndromes virilizantes) y en muchos otros es indeterminado. Una causa común de esta alteración es la hiperplasia adrenal congénita, de origen autosómico recesivo y que afecta la biosíntesis del cortisol.

2.1.2. Pseudohermafroditismo masculino

La dotación cromosómica es XY, los genitales internos son masculinos y los externos ambiguos. El origen puede estar relacionado a alteraciones cromosómicas, genéticas, hormonales o indeterminadas.

Los pseudohermafroditismos masculinos de origen cromosómico pueden tener diversos componentes cromosómicos: 45,X/46,XY; 47,XXY; 47,XYY; 48,XXXY; 49,XXXXY y otras variantes. Se deben a no disyunciones cromosómicas meióticas o mitóticas en caso de mosaicos.

Otros casos de pseudohermafroditismo masculino se originan en fallas en la formación embrionaria, así: síndrome de testículos rudimentarios (anorquia y agenesia de células de Leyding), persistencia de los conductos mulerianos (útero y trompas) en varones. Hoy se habla de que aún el hipospadias aislado debe ser considerado como caso de pseudohermafroditismo masculino; un tipo especial de hipospadias que se conoce como hipospadias pesudovaginal periescrotal (HPSP) (Goodfellow, 1991).

El pseudohermafroditismo masculino puede deberse también a alteraciones hormonales, genéticas o patrones hereditarios en su apareamiento, como: deficiencias genéticas para la producción de testosterona (21 y 11 beta hidroxilasas); insensibilidad completa a los andrógenos o síndrome de feminización testicular (XY) o síndrome de Morris; insensibilidad parcial a los andrógenos o síndrome de Reifenstein; o hipoplasia adrenal congénita con la consecuente deficiencia enzimática (Paz-y-Miño et al., 1993b).

2.2. Alteración del sexo gonadal

Las alteraciones del sexo gonadal pueden diferenciarse entre disgenesia gonadal de origen cromosómico o de origen genético.

2.2.1. Disgenesia gonadal de origen cromosómico

Todas las alteraciones que afectan a los cromosomas sexuales pueden producir disgenesia gonadal, síndromes de Turner y Klinefelter.

2.2.2. Disgenesia gonadal de origen genético

Estas deben tener su dotación cromosómica XX y ser varón, o XY y ser mujer; las dos están acompañadas de hipogonadismo. Las disgenesias gonadales mixtas constituyen el hermafroditismo verdadero, cuya dotación cromosómica puede ser XX en el 50% de casos, XY en el 20% y solo 30% son quimeras XX/XY. Lo clave del hermafroditismo verdadero es la presencia de los dos tipos de tejidos gonadales en un mismo individuo; los genitales externos pueden ser variados, desde varón o indeterminado a mujer. La Tabla XIV.2 recoge los hallazgos de nuestra experiencia en indiferenciación sexual (Goodfellow, 1991). Además, existe un tipo de indiferenciación sexual que produce disgenesia gonadal, llamado síndrome de regresión sexual:

- a) Tipo I: El fenotipo es femenino, existe una baja del factor de inhibición muleriano (TDF) y presencia de la hormona testosterona en bajas proporciones.
- b) Tipo II: Son mujeres con disgenesia gonadal, hipogonadismo; no existen folículos, existe testosterona en baja cantidad y persisten los conductos mulerianos.
- c) Tipo III: El fenotipo es "intersexo masculino" con disgenesia gonadal, se ha cuestionado la presencia del antígeno H-Y y las gónadas presentan testículo fibroso o tejido ovárico indiferenciado.
- d) Tipo IV: Se llama "intersexo virilizante", se presenta la hormona testosterona y TDF, se ha cuestionado la presencia del antígeno H-Y y no existen gónadas diferenciadas.

La conducta clínica a seguir frente a un paciente con diferenciación sexual alterada es: exploración clínica de los genitales, exploración radiológica, evaluación

hormonal, estudio del antígeno H-Y, estudio cromosómico y genético del individuo y familiar, exploración quirúrgica y biopsia gonadal bilateral. Una vez evaluado el caso, debe realizarse una terapia adecuada que deberá por lo menos cumplir con los siguientes parámetros: atribución precoz del sexo, tratamiento quirúrgico que incluye los genitales externos e internos, tratamiento hormonal y psicosocial de ser necesario.

Tabla XIV.2. Alteraciones de la diferenciación sexual

Tipo	No. de casos	Cariotipo
Alteraciones de conductos sexuales		
Pseudohermafroditismo femenino	12	46,XX
Pseudohermafroditismo masculino	14	46,XY
Alteraciones del sexo gonadal		
Disgenesia gonadal mixta (Hermafroditismo verdadero)	2	46,XX/46,XY
Disgenesia gonadal pura	2	46,XY
Disgenesia gonadal de origen cromosómico		
Síndrome de Turner	110	45,X0 y variantes
Síndrome de Klinefelter	15	47,XXY y variantes
Total	150	

15

ASPECTOS GENÉTICOS DEL CRECIMIENTO Y DESARROLLO





ä [\ • { ^ ä æ] • ð ! *

CAPÍTULO XV

ASPECTOS GENÉTICOS DEL CRECIMIENTO Y DESARROLLO

Existen algunos factores genéticos y epidemiológicos (ambientales, nutricionales, socio-económicos, culturales, emocionales) que influyen en el crecimiento y desarrollo físico, intelectual, emocional y conductal del individuo (Allis et al., 2007).

1. FACTORES GENÉTICOS

La aptitud genética o no del individuo son factores determinantes en el desarrollo intrauterino y postnatal del mismo. Por tanto, es importante considerar ciertos aspectos sobre su crecimiento y desarrollo:

1.1. Factores genéticos en el crecimiento y desarrollo intrauterino

Es indispensable para una adecuada formación fenotípica, crecimiento y desarrollo adecuado, una dotación genética idónea que permita una formación anatómica-fisiológica equilibrada, una diferenciación celular, especialización de órganos y una regulación genética y metabólica precisa. Es decir, la información genética del ADN proporcionará tres cualidades: a) fenotipo adecuado para supervivir; b) conexiones neurofisiológicas y metabólicas reguladas; y, c) capacidad funcional y adaptativa a las exigencias ambientales.

Los criterios vertidos significan, en resumen, que los genes proporcionan las cualidades del fenotipo y el ambiente modifica este fenotipo dentro de rangos específicos y soportables por el individuo y la especie. El genotipo da la capacidad de crecer, oír, pensar; mientras que el ambiente, dota de aptitudes y experiencias a los individuos, permitiendo el desarrollo de las habilidades intelectuales y físicas. Aquí juega un papel importante la fórmula $F = G + A$, en donde el fenotipo equivale al genotipo más el ambiente (Allis et al., 2007).

Dentro del crecimiento y desarrollo intrauterino se sabe que el factor hormonal es importante. Luego de la diferenciación sexual normal, las hormonas masculinas y femeninas completan la formación embrionaria y fetal. La insulina ha sido el anabolizante más importante dentro del desarrollo embrionario, mientras que las hormonas de crecimiento: prolactina, andrógenos suprarrenales, cortisol y glucocorticoides, han sido cuestionados como agentes implicados en el crecimiento y desarrollo intrauterino. Datos a favor de esta argumentación son los nacimientos de fetos anencéfalos, agenesia suprarrenal y gonadal, entre otros (Wolpert et al., 2002).

1.2. Factores genéticos en el crecimiento y desarrollo postnatal

Los factores más importantes en esta fase son las capacidades fisiológicas y metabólicas proporcionadas por el buen o mal funcionamiento de los genes (metabolopatías) y del adecuado funcionamiento hormonal. La hormona del

crecimiento, por algún mecanismo poco conocido, promueve el aumento del número de células y de su tamaño, tal vez incrementando la replicación del ADN. Así mismo, la insulina, promueve la síntesis de proteínas, actuando posiblemente como un inductor de la transcripción del ADN, es decir, produciendo ARN. El posterior y adecuado crecimiento y desarrollo están determinados por las oportunidades ambientales, satisfacción de demandas fisiológicas, sociales, económicas, culturales y emocionales. Aún se habla de que ciertos rasgos de comportamiento, personalidad, actitudes físicas, aptitudes intelectuales, son producto de influencias genéticas.

El estudio de algunas características físicas y fisiológicas en la población general, en gemelos idénticos y no idénticos, hermanos y padres, ha permitido sacar conclusiones interesantes al respecto de los factores genéticos y su relación con el ambiente, para el crecimiento y desarrollo. Se ha postulado, por ejemplo, que la talla de los individuos está determinada por algún tipo de herencia ligada al sexo (genes del cromosoma X); esto se desprende de estudios de correlación entre hermana-hermana, hermano-hermana, hermano-hermano, en donde se ha observado mayor correlación entre mujeres que entre varones. También se han obtenido correlaciones decrecientes entre hermana-hermana, padre-hija, madre-hija, madre-hijo y padre-hijo. Se han encontrado correlaciones importantes para el apareamiento de la dentición, los núcleos de osificación, el desarrollo del músculo-esquelético y aún en el comportamiento; esto ha sugerido una dependencia con genes autosómicos y ligados al cromosoma X (Moore & Persaud, 2008).

Para la talla se ha postulado que la herencia cumple todos los requisitos de herencia poligénica; la distribución de la población será típica de la campana de Gaus, con una población mayoritaria cercana a la distribución de la media aritmética y dos extremos poblacionales pequeños de individuos muy altos, superiores al percentil 90, y de individuos muy bajos, inferiores al percentil 10. Planteado así el fenómeno de la talla, el grupo de genes (poligenes) que determina la talla actuaría de la siguiente manera:

- a) Homocigotos para el poligén de talla fisiológica baja [< percentil 10].
- b) Heterocigotos para el poligén de talla fisiológica media [mayoría de la población].
- c) Homocigotos para el poligén de talla fisiológica alta [> percentil 90].

La correlación entre individuos emparentados y no emparentados, y entre poblaciones, corrobora la fórmula para herencia poligénica $F = G + A$, que se puede descomponer así: la variabilidad fenotípica poblacional (V_p) es igual a la variabilidad genética (V_g) más la variabilidad ambiental o no genética (V_a) y más la variabilidad de los dos factores juntos (genes más ambiente) interrelacionados, lo que se llama variabilidad correlacionada (V_c) (Allis et al., 2007).

$$V_p = V_g + V_a + V_c$$

El estudio de correlaciones de características físicas y fisiológicas en gemelos monocigotos, dicigotos, hermanos, padres y familiares, confirma el criterio de herencia poligénica de las características de crecimiento y desarrollo.

Durante el crecimiento y desarrollo se ha podido observar la acción de algunos factores químicos y hormonales (factores de crecimiento polipeptídicos) relacionados directamente con este proceso. Estos factores son:

- a) Factores de crecimiento asociados con embriogénesis, crecimiento y desarrollo normal, como el factor de crecimiento epidérmico, factor de crecimiento de fibroblastos, somatomedina y el factor de crecimiento nervioso.
- b) Factores de crecimiento relacionados con poblaciones celulares del adulto, tienen producción continua, entre los que están: Factores estimulantes de colonias, eritropoyetina y factor de crecimiento epidérmico.
- c) Factores de crecimiento asociados a la respuesta proliferativa al daño celular o de órganos como los factores de crecimiento derivados de plaquetas, derivado de monocitos-macrófagos y el derivado de células endoteliales.
- d) Factores de crecimiento derivados de poblaciones tumorales llamados factores transformantes.

En la siguiente tabla se detalla la correlación entre los caracteres físicos y fisiológicos con el tipo de parentesco, ya sean gemelos idénticos, gemelos no idénticos, hermanos o madre-hija.

Tabla XV.1. Correlaciones para el crecimiento y desarrollo de caracteres físicos y fisiológicos

Parentesco	Talla (cm ^a)	Peso (Kg ^a)	Duración de vida (meses ^a)	Forma tórax/corazón	Movimientos del cuerpo	Inicio de la regla (años ^a)
Gemelos idénticos	1,7 [0,93*]	1,8 [0,40*]	36,9	0,64*/0,60*	0,75*	
Gemelos no idénticos	4,4 [0,64*]	4,5 [0,28*]	78,3	0,2*/0,10*	0,54*	
Hermanos	4,5 [0,64*]	4,7 [0,26*]				12,9
Madre-hija	4,4 [0,64*]					18,4
Gemelos idénticos	4,5 [0,4*]					

[^a] Diferencia; [*] Coeficiente de correlación

En relación a las mutaciones, se sabe que cada una de ellas tiene una frecuencia esperada, que hace referencia al número de células germinales que posee el gen anormal en un individuo, por ejemplo:

Daltonismo	2,8 x 10 ⁻⁵ / Gametos	Herencia autosómica recesiva
Condrodistrofia	1 - 1,4 x 10 ⁻⁵ / Gametos	Herencia autosómica dominante
Hemofilia	2 - 3,2 x 10 ⁻⁵ / Gametos	Herencia ligada al sexo

Las mutaciones son un factor importante para la evolución de las especies, pero las mutaciones beneficiosas son muy escasas en la naturaleza. En su mayoría, las

mutaciones son deletéreas o letales siendo las responsables de las enfermedades genéticas (Wolpert et al., 2002).

Tabla XV.2. Incidencia y riesgo de recurrencia de algunas anomalías fetales de causa genética

Tipo de herencia	Incidencia	Riesgo
Autosómica dominante	0,6 - 7/1000 nv	1:2 (50%)
Hipercolesterolemia familiar	1:500	
Corea de Huntington	1:5000	
Sordera	1:10000	
Ceguera	1:10000	
Síndrome de Marfan	1:20000	
Osteogénesis imperfecta	1:25000	
Autosómica recesiva	0,9 - 5/1000 nv	1:4 (25%)
Fibrosis quística	1:2500	
Sordera	1:2000	
Ceguera	1:5000	
Fenilcetonuria	1:10000	
Mucopolisacaridosis	1:25000	
Glucogenosis	1:50000	
Ligada al sexo	0,3 - 7/1000 nv	1:4 (25%) embarazos 1:2 (50%) en varones
Distrofia muscular (Duchenne)	1:7000	
Hemofilia	1:10000	
Otras	1:5000	

(nv) Nacidos vivos

2. FACTORES QUE AUMENTAN LAS MUTACIONES

Existen algunos factores que influyen en la frecuencia de las mutaciones espontáneas, traduciéndose estos en el aumento de riesgo de una descendencia anormal. Entre estos factores están:

2.1. Edad avanzada de los progenitores

Una de las primeras investigaciones en este aspecto fue la de Weinberg en 1912. Él asoció a los recién nacidos de madres de edad avanzada con un aumento del número de afectos de acondroplasia. Penrose, en 1955, mostró que esta observación se debía, con seguridad, al aumento de células germinales con neo-mutaciones, directamente relacionadas con el aumento de la edad materna (Moore & Persaud, 2008). Posteriormente a estos hallazgos, se demostró la asociación entre la edad avanzada y ciertas enfermedades, así: la edad materna se ha relacionado con alteraciones cromosómicas y la paterna con enfermedades genéticas.

Las enfermedades directamente relacionadas con la edad parental son: acondroplasia, acrocefalosindactilia, sindactilia, miositis osificante, síndrome de Marfan, retinoblastoma bilateral, hemofilia A, síndrome de Apert, enfermedad de Lesch Nyhan, distrofia muscular de Duchenne, síndrome de Down y síndrome de Edwards (Nussbaum et al., 2008).

Se ha visto un mayor riesgo de enfermedades cromosómicas en relación con la edad materna que con la paterna. Este riesgo empieza a partir de los 34 años de edad en las mujeres, se duplica a los 39 años y casi se triplica o cuadriplica a los 44 años. Para los hombres en cambio, el riesgo para presentar descendencia con una enfermedad genética empieza a partir de los 38 años, para enfermedades como la hemofilia, la acondroplasia, síndrome de Marfan y el retinoblastoma bilateral, entre otras.

Ciertas enfermedades genéticas relacionadas con la edad tienen igual riesgo para los dos sexos, como la distrofia muscular de Duchenne, mientras que otras enfermedades son más influenciadas por los varones, como la hemofilia A. Existen dos principios relativos a la razón de mutación y el sexo predominante en la transmisión de la neomutación a la descendencia (Nussbaum et al., 2008):

- a) En jóvenes, en los que la razón de mutación es igual para ambos sexos, esta se incrementa al avanzar la edad del varón.
- b) En jóvenes, cuando la razón de mutación más alta proviene de mujeres, si esta se incrementa, debe pensarse que la responsabilidad del incremento recae sobre las células germinales maculinas.

La relación entre las alteraciones cromosómicas la edad materna es la siguiente:

Menores de 35 años	2 / 1000 nacidos vivos
Entre 35 y 39 años	7 / 1000 nv
Entre 40 y 44 años	25 / 1000 nv
De 45 y más años	65 / 1000 nv

2.2. Edad materna y su relación con el síndrome de Down

Los estudios más amplios relacionando edad materna y cromosopatías son sobre síndrome de Down. Tanto los estudios extranjeros como los nacionales, coinciden en la relación de edad materna con la trisomía 21. Se ha observado que en la población general, el síndrome de Down tiene dos picos de predisposición en relación con la edad materna: el comprendido entre los 25 y 29 años, que está en función de trastornos cromosómicos de los progenitores, y el pico progresivo de frecuencia a partir de los 35 años, debido a problemas de no disyunción cromosómica en las células germinales maternas. Dos tercios de las no disyunciones cromosómicas son de origen materno. Existen algunas hipótesis para explicar el origen del síndrome de Down, por no disyunción cromosómica, las cuatro primeras en relación a la edad materna y las dos últimas en relación a variedades de la enfermedad (Nussbaum et al., 2008).

Tabla XV.3. Frecuencia del síndrome de Down en relación a la edad materna

Grupo de edad (años)	Casos	Porcentaje (%)	Prevalencia
15 a 19	11	7,5	1/1167
20 a 24	21	14,4	1/1587
25 a 29	24	16,4	1/1087
30 a 34	30	20,5	1/763
35 a 39	27	18,5	1/248
40 a 44	24	16,4	1/79
45 a más	9	6,2	1/24

2.2.1. Teoría de la disgenesia ovular

Los ovocitos primarios permanecen un largo período en diascinesis; los más jóvenes, con mayor número de quiasmas, serían madurados primero, mientras que los más viejos, con menor número de quiasmas y mayor riesgo de ser disgenésicos, se madurarán tardíamente.

2.2.2. Teoría de la sobremaduración ovular

Desde que se produce la ovulación, hasta que el óvulo sea fecundado, pueden pasar 24 horas, los ovocitos no fecundados tempranamente, tendrían mayor riesgo de ser disgenésicos.

2.2.3. Teoría extrínseca

Los ovocitos que maduran en los últimos períodos menstruales, tendrán mayor exposición a factores disgenésicos.

2.2.4. Teoría de la selección relajada

El producto de un embarazo en edades altas, es un "producto preciado", por lo que la naturaleza retendría con mayor facilidad un producto con una cromosomopatía, en contraste con lo que sucede en edades tempranas, en que las cromosomopatías son eliminadas con mayor frecuencia, hecho que se conoce del estudio de restos abortivos.

2.2.5. Teoría de la variación de las regiones organizadoras nucleolares

La variación polimórfica de las regiones de los cromosomas acrocéntricos estaría predisponiendo a la no disyunción y a un aumento de las trisomías.

2.2.6. Teoría de la duplicación de la región 21q22

Algunas personas con síndrome de Down no presentan una trisomía 21 completa. Al hacer el estudio molecular de sus cromosomas (21) se ha detectado una duplicación de la región 21q22, la que sería responsable de todo el fenotipo Down de estos individuos por la presencia en triple dosis de los genes responsables de la enfermedad. La mayoría de alteraciones cromosómicas producen defectos congénitos más o menos graves y variables. Generalmente, encontramos retraso mental, alteraciones craneofaciales, anomalías viscerales, alteraciones en los miembros y dermatoglifos, talla baja y falla reproductiva (infertilidad o esterilidad).

Un aspecto importante es la coincidencia entre los riesgos genéticos según la edad materna y la mortalidad infantil correlacionada con la edad materna. En la Tabla XV.4, se aprecia que a partir de los 30 años, aunque el porcentaje de fecundidad y de nacimientos disminuye progresivamente, tanto la frecuencia de síndrome de Down como la mortalidad infantil se encuentran siempre en rangos superiores. Llama la atención que los dos polos de edades maternas (baja y alta) se acoplan en lo referente a morbi-mortalidad materno-infantil. En edades maternas tempranas los riesgos de mortalidad infantil son mayores, mientras que en edades maternas avanzadas, tanto los riesgos genéticos como los de mortalidad infantil se acoplan. Esto pone en alerta sobre

los graves riesgos de los embarazos en tales edades y refuerza el criterio de desalentar concepciones en edades tempranas por riesgos de morbi-mortalidad mayor y en edades avanzadas por riesgos cromosómicos (Moore & Persaud, 2008).

Tabla XV.4. Cifras estadísticas en riesgos genéticos

Edad (años)	Fecundidad (%)	Nacimientos infantiles (%)	Mortalidad SD (%)	Nacimientos Ecuador (%)	SD (%)	SD (nv)
<20	9,8	4,5	10,1	1,5	5,5	1/1667
21-24	23,4	26,2	7,4	11,7	12,9	1/1587
25-29	23,7	33,0	6,4	18,5	14,8	1/1087
30-34	19,9	21,8	7,4	17,2	25,9	1/763
35-39	14,0	11,0	9,3	26,2	22,2	1/248
40-44	7,4	2,2	9,6	21,3	12,9	1/79
>45	1,8	1,1	10,2	3,5	5,5	1/24

(nv) Nacidos vivos; (SD) Síndrome de Down

En relación al síndrome de Down, nuestros estudios revelan datos interesantes sobre la composición citogenética de este síndrome, detallado a continuación:

Tabla XV.5. Hallazgos citogenéticos en el síndrome de Down

Tipo	Número	Porcentaje (%)
Trisomía 21 simple	315	86,06
Trisomía en mosaico	37	10,01
Trisomía por translocación	6	1,64
Translocación en mosaico	2	0,55
Isocromosoma no detectado en sangre periférica [¿SD genético o mosaico?]	4	1,10
Total	366	

(SD) Síndrome de Down

Además, se ha encontrado relación entre la edad materna y el incremento de abortos. Entre los 17 y 40 años, un tercio de los abortos presentan aneuploidías (alteración del número de cromosomas). Existen evidencias de los efectos de la edad materna y la producción de fetos triploides (triple dosis cromosómica = 69 cromosomas) y fetos Turner (45,X). Las trisomías de los grupos cromosómicos D (13, 14 y 15) y G (21 y 22), como también la trisomía 16, son frecuentemente halladas en los estudios de abortos relacionados con la edad materna avanzada.

2.2.7. Factores genéticos del síndrome de Down

El avance en genética molecular ha aportado datos muy concretos sobre la actividad de los genes en el fenotipo. Con respecto al síndrome de Down se tiene mucha información en la actualidad sobre la relación genotipo-fenotipo.

La expresión bioquímica del síndrome consiste en el aumento de diferentes enzimas (ya que los genes se encuentran en triple dosis). Una de las más conocidas e importante es la superóxido dismutasa, codificada por el gen SOD-1, que cataliza el paso del anión superóxido hacia peróxido de hidrógeno. En condiciones normales esta enzima contribuye al sistema de defensa antioxidante del organismo (Paz-y-Miño et al., 2010a).

Entre los genes implicados en la aparición de trastornos asociados a este síndrome están: el gen COL6A1, cuya expresión incrementada se relaciona con defectos cardíacos; el gen ETS2, cuya expresión incrementada puede ser causa de alteraciones músculo esqueléticas; la presencia incrementada del gen CAF1A, que puede interferir en la síntesis del ADN; el exceso del gen CBS, lo cual puede causar alteraciones metabólicas y de los procesos de reparación del ADN; el exceso de proteínas codificadas del gen DYRK, que puede asociarse con el retardo mental; la sobreexpresión del gen CRYA1, que puede originar cataratas; la expresión aumentada del gen GART, lo cual puede alterar los procesos de síntesis y reparación del ADN; el gen IFNAR, que se relaciona con la síntesis de interferón, por lo que su exceso puede provocar alteraciones en el sistema inmunitario.

En estudios de genes (tales como el DF508, involucrado en la fibrosis quística), llevados a cabo en el Ecuador, se encontró evidencia de que la variación geográfica en nuestra población es una consecuencia del antecedente genético diferente, si se comparara con poblaciones a nivel mundial; fenómeno similar ocurre con otros genes, como el BCR/ABL en leucemias, el gen reparador del daño del ADN hMSH2 y el gen MTHFR en cáncer de próstata, entre otros genes estudiados por nuestro grupo de investigadores (Paz-y-Miño et al., 2002c; 2008a; López-Cortés et al., 2013).

2.3. Madres portadoras de enfermedades ligadas al sexo

Las enfermedades genéticas con herencia ligada al sexo tienen la probabilidad de ser transmitidas por la madre portadora del gen anormal a cualquiera de los embriones producidos en la fecundación en cada nuevo embarazo, con un riesgo de 25%; pero, si el sexo del feto es masculino, la probabilidad de que este sea afecto cambia automáticamente al 50%. Las hijas mujeres, en cambio, tienen la probabilidad de ser portadoras sanas del gen anormal en el 50%; podrán transmitir a su descendencia el gen anormal, con igual comportamiento que el antes descrito. En la actualidad se ha visto que la manifestación o no de un carácter ligado al sexo, podría estar relacionada con el fenómeno de herencia por impresión genómica; en este aspecto se han estudiado, sobre todo, el síndrome de Martin Bell o X frágil, el síndrome de Turner, algunas deficiencias inmunitarias y factores de coagulación.

Algunas enfermedades con herencia ligada al sexo son: ceguera para los colores, distrofia muscular de Duchenne, déficit de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, hemofilia, enfermedad de Christmas, osteodistrofia hereditaria, síndrome de Hunter (MPS II), síndrome de Lesh Nyhan. Muchos de estos casos (enfermedad de Fabry, síndrome de Hunter o de Lesh Nyhan) se pueden diagnosticar prenatalmente, pero en otros, tan solo se puede diagnosticar prenatalmente el sexo fetal, lo que permite manejar los riesgos genéticos de ser portador o afecto de la enfermedad y, a la pareja, decidir sobre el futuro de su embarazo (Nussbaum et al., 2008).

2.4. Autoinmunidad

Este es otro factor postulado como elevador del riesgo de mutaciones espontáneas. No se sabe a ciencia cierta el mecanismo que hace posible este efecto. Se ha visto que en los procesos autoinmunitarios existe la tendencia a asociaciones satelitales entre los cromosomas acrocéntricos (grupo D y G). Esta asociación es un fenómeno citogenético en el que los cromosomas acrocéntricos se ponen en contacto

íntimo con sus porciones satelitales. Aunque este fenómeno se presenta con alguna frecuencia en los exámenes cromosómicos rutinarios (nuestro laboratorio tiene una cifra de 2% de asociaciones satelitales), en los procesos autoinmunes es más frecuente. Se piensa que la asociación satelital predispone a la no disyunción cromosómica en metafase, dando como resultado cromosomopatías primarias.

Otro hecho observable en procesos autoinmunitarios, como por ejemplo la artritis reumatoidea, lupus, entre otros, es el aumento de roturas cromosómicas espontáneas (nuestro laboratorio tiene la cifra de 4 a 5% de fragilidad cromosómica espontánea), lo que también predispondría a aneuploidías diversas.

2.5. Polimorfismos cromosómicos

Los polimorfismos son variaciones interindividuales de la información genética que pueden presentarse a nivel génico, cromosómico, enzimático y proteico, que son bien toleradas por los portadores. Algunos estudios sobre polimorfismos cromosómicos señalan este factor como responsable de distintas patologías clínicas: retraso mental, malformaciones congénitas con o sin alteraciones cromosómicas, padres de malformados y problemas de fertilidad.

Los polimorfismos cromosómicos son variaciones en el patrón estructural normal de los cromosomas que, por lo general, no dan efectos fenotípicos en los portadores. Entre el 1,68% y 35,61% de la población general, según la región, presenta algún polimorfismo. Esta gran variabilidad de datos explica la dificultad en el estudio del posible papel de estas variantes.

Tabla XV.6. Variantes cromosómicas en la población de Quito (RNCAVCH)

Tipo	Número	Porcentaje (%)
Yq+	12	1,38
14p+	3	0,34
9qh+	3	0,34
15p+	2	0,23
22p+	2	0,23
Yq-	2	0,23
inv9	1	0,11
t(2;18)	1	0,11
t(5;14)	4	0,46
t(4;11)	2	0,23
t(6;7)	1	0,11
t(7;10)	1	0,11
t(13;14)	2	0,23
t(13;15)	1	0,11
t(8;x)	2	0,23
t(21;x)	1	0,11
Fragilidad espontánea	18	2,07
Microcromosomas	2	0,23
Total	868	100

Los polimorfismos afectan con especial frecuencia a las zonas heterocromáticas (zonas claras del bandeado tripsina / giemsa de los cromosomas) que corresponden a los organizadores nucleolares (regiones comprendidas entre el centrómero y los satélites, compuestos por ADN nucleolar) de los cromosomas acrocéntricos 13, 14, 15, 21 y 22;

las zonas polimórficas son también las constricciones secundarias de los cromosomas 1, 9, 16 y los brazos largos del cromosoma Y. La variabilidad observada o polimorfismo, se debe a la diferencia del tamaño de los satélites, en su número, en la longitud de los tallos satelitales y en el tamaño de los brazos cortos de los cromosomas acrocéntricos y de los brazos largos del cromosoma Y.

La mayoría de estudios sobre los efectos de los polimorfismos tienen relación con problemas reproductivos. En parejas con abortos, la repetición se ha encontrado entre el 4,1 al 27,8% de todas las posibilidades polimórficas, excepto el Yq+ (cromosoma Y con brazos largos aumentados de tamaño), con el que se ha asociado abortos en un 83%.

En un estudio citogenético sobre 3000 individuos que consultaron por diversos problemas, se encontró polimorfismos de los diferentes cromosomas en las siguientes proporciones:

Retraso psicomotor	7,56%
Alteraciones en la fertilidad	5,98%
Malformaciones	3,31%
Padres de individuos con malformaciones	4%

En definitiva, queda mucho por aclarar en relación a los polimorfismos cromosómicos y sus implicaciones clínicas, tal vez por las pocas series estudiadas. De todas maneras, existe ya una alerta en este sentido y muchos genetistas sugieren el estudio cromosómico en toda pareja que decida tener descendencia.

2.6. Historia familiar de enfermedades metabólicas

Existen muchos trastornos del metabolismo que son causa de subnormalidad. Muchos de estos tienen patrones hereditarios definidos y los riesgos de recurrencia en la descendencia de afectados o portadores del gen anormal, van desde el 25% para cada nuevo embarazo en las enfermedades con herencia autosómica recesiva, hasta el 50% en las dominantes. Algunas de las enfermedades más frecuentes y que producen graves trastornos físicos y mentales son: enfermedad de Fabry, Gaucher, Niemann-Pick, síndrome de Hurler, Hunter, Sanfilipo, gangliosidosis, glucogenosis, fenilcetonuria y cistinosis.

En la actualidad, se dan pasos acelerados en el diagnóstico prenatal de muchas de estas afecciones y aún se detectan heterocigotos (portadores sanos del gen anormal), lo que posibilita a las parejas conocer los riesgos genéticos a los que se enfrentan y proyectar su descendencia con mayores elementos de análisis.

2.7. Historia familiar de malformaciones

Aunque ya se trató sobre este aspecto al hablar de herencia poligénica, cabe resaltar ciertos criterios acerca de la alta predisposición genética que tiene la descendencia de parejas con un historial familiar de malformaciones.

Del total de recién nacidos con problemas malformativos congénitos y genéticos, el 2,5% presentan malformaciones mayores, con graves limitaciones de vida y desarrollo. Por lo general, en este tipo de afecciones se encuentra un mayor número de asociaciones malformativas, con mayores deficiencias fenotípicas en el afecto y mayores riesgos de recurrencia para los familiares. Ejemplos de malformaciones mayores son: anencefalia, espina bífida, Fallot, hidrocefalia y onfalocele.

Las malformaciones menores, representan el 3,5% en los recién nacidos; estas son relativamente de fácil corrección y, para efectos de riesgo de recurrencia, se rigen bajo los mismos criterios de herencia multifactorial. Prácticamente el riesgo es bajo y se maneja el valor del 2% de recurrencia para la mayoría. Ejemplos de malformaciones menores podrían ser: luxación congénita de cadera, pie equino y sindactilia cutánea (Nussbaum et al., 2008).

2.8. Infertilidad previa - abortos repetidos

Los defectos congénitos y genéticos, son solo un aspecto a considerar dentro de los riesgos de subnormalidad en la descendencia. Los problemas de infertilidad que afectan al 10% de parejas, pueden deberse a un sinnúmero de causas ambientales, anatómicas, traumáticas, genéticas y cromosómicas. Revisaremos brevemente estas dos últimas.

2.8.1. Infertilidad y esterilidad de origen genético

Esta se produce por alguna de las siguientes causas:

- a) Alteraciones en el desarrollo y diferenciación sexual [anatómicas], impedimento en la producción de gametos, interferencia en el desarrollo genital e interferencia en la fecundación.
- b) Falla en la migración de células germinales [azoospermia].
- c) Defectos en la células gonadales: División anormal de los cromosomas de los espermatozoides, en especial problemas de asinapsis [falta de apareamiento cromosómico en meiosis] dando un bloqueo del espermatocito I, que traduce en esterilidad y la desinapsis [alteración en el proceso de terminalización cromosómica] en meiosis, la que ocasiona gametos desequilibrados cromosómicamente. Estos dos tipos de alteraciones meióticas son hereditarias y familiares.
- d) Defectos de los espermatozoides que determinan inmovilidad o tetrazoospermia.
- e) Maduración alterada de las células germinales. En los hombres se ha detectado que este problema es de origen autosómico recesivo.

2.8.2. Infertilidad de origen cromosómico

Los problemas cromosómicos producen una serie de alteraciones fenotípicas, pero aparte de estas, también afectan la fertilidad de los individuos, ya que determinan alguno de los siguientes fenómenos:

- a) Alteraciones en el desarrollo y diferenciación sexual (anatómicas), impedimento en la producción de gametos, interferencia en el desarrollo genital e interferencia en la fecundación.
- b) Gonosomopatías: Síndrome de Klinefelter, Turner, XYY, XXYY, XXX, XXXX, XXXXX.
- c) Translocaciones gonosoma - autosoma.
- d) Translocaciones autosoma - autosoma.
- e) Subfertilidad, producida por todas las alteraciones cromosómicas.

Datos obtenidos en parejas e individuos con problemas de fertilidad y que han sido evaluados citogenéticamente por nosotros, se muestran en la siguiente tabla.

Tabla XV.7. Hallazgos cromosómicos en individuos con infertilidad y esterilidad

Hallazgo	Número	Porcentaje (%)
Normales	44	37,9
Variantes polimórficas	11	9,5
Fragilidad	7	6,0
Translocaciones	1	0,8
Cromosomopatías	24	20,7
- Síndrome de Turner	21	18,2
- Síndrome de Klinefelter	4	3,5
Microcromosoma	2	1,7
Otras	2	1,7
Total	116	

Del 8 al 45,9% de abortos espontáneos presentan las anomalías cromosómicas ya mencionadas; esto hace pensar en posibles cromosomopatías de los progenitores, siendo las más frecuentes:

Trisomías	42,0%
Triploidías	15,5%
Tetraploidías	4,2%
Otras (polimorfismos cromosómicos)	14,4%

El proceso a seguir en parejas con abortos repetidos, es el estudio cromosómico en sangre periférica de la pareja, el estudio cromosómico de meiosis gonadal, y de ser posible, de los restos abortivos.

Tabla XV.8. Hallazgos cromosómicos en parejas con abortos repetidos

Hallazgo	Número	Porcentaje (%)
Normales	36	61
Variantes polimórficas	15	25,5
Fragilidad	7	11,8
Translocaciones	1	1,7
Total	59	100

2.9. Polihidramnios y oligoamnios

En cualquiera de los dos casos debe sospecharse que el feto padece alguna malformación congénita mayor o menor. Por lo general, el polihidramnios se asocia a defectos de cierre del tubo neural (anencefalia, espina bífida abierta) y obstrucción digestiva (atresia esofágica, duodenal o yeyunal). El oligoamnios, en cambio, es frecuente en casos de emisión anormal de orina por el feto (agenesia renal, riñones poliústicos o multiústicos, hidronefrosis).

En los casos descritos, los defectos malformativos tendrán un riesgo de recurrencia empírica para cada tipo de malformación.

2.10. Alteraciones fetales

Con respecto a las alteraciones fetales, es importante conocer sobre el crecimiento retardado, la presentación fetal anormal y las anomalías del ritmo cardiaco.

2.10.1. Crecimiento fetal retardado

Se ha demostrado que algunas causas como la hipertensión, toxemia gravídica, desnutrición materna, entre otras, influyen en el retardo del crecimiento fetal. Cuando no existe evidencia sustancial de estos problemas, como causa de retraso en el crecimiento fetal, debe sospecharse malformaciones fetales, sean de origen multifactorial, genéticas o cromosómicas. El criterio es válido en los casos de crecimiento fetal retardado tipo I, en el cual el feto evidencia un retardo somático armónico y muy hipoplásico. Algunas alteraciones encontradas en casos de crecimiento intrauterino retardado (CIR), se presentan a continuación:

Tabla XV.9. Malformaciones y cromosopatías en el crecimiento intrauterino retardado

Tipo CIR	Casos	Cromosopatías (%)	Malformaciones (%)
Grupo control	2000	0,25	0,50
CIR conjunto	607	0,65	4,44
CIR tipo I	99	4,04	20,20
CIR tipo II	230	-	1,73
CIR tipo III	206	-	0,97
No clasificable	72	-	1,38

(CIR) Crecimiento intrauterino retardado

2.10.2. Presentación fetal anormal

Cualquier alteración persistente en la posición fetal, sobre todo en el tercer trimestre del embarazo, hace pensar en algún tipo de malformación fetal: hidrocefalia, tumores cervicales o abdominales, siameses. El seguimiento ecográfico adecuado solventará los casos de duda.

2.10.3. Anomalías del ritmo cardiaco fetal

Las bradicardias y arritmias, cuando son persistentes, hacen pensar en malformaciones cardíacas.

2.11. Enfermedad materna crónica

Se ha comprobado que muchas enfermedades aumentan el riesgo malformativo en la descendencia, así: la diabetes se asocia a una mayor incidencia de anencefalias y displasias caudales (síndrome de regresión caudal); los distiroidismos predisponen a anomalías cromosómicas en la descendencia. Otras enfermedades crónicas maternas como nefritis, hipertensión, anemia y hemoglobinopatías, han sido asociadas con mayores riesgos genéticos y malformativos.

2.12. Genes mutantes

En los numerales anteriores se expusieron varias alternativas que presentan mayor riesgo de mutación espontánea o de subnormalidad y malformación en la descendencia. Existen situaciones en las que no se evidencian claros factores desencadenantes de patologías y, aunque los resultados fenotípicos de un individuo sean anormales, compatibles con síndromes hereditarios o cromosómicos, el genetista no encuentra en los progenitores datos para un análisis objetivo de los riesgos. Por ejemplo, si una pareja tiene abortos a repetición o ha tenido más de un hijo con síndrome de Down o con alguna otra malformación, debería pensarse a priori en que los padres tienen una alteración cromosómica, pero al estudiarlos, estos han resultado normales. En estas o en similares situaciones y, sin otra causa que predisponga a una enfermedad, se ha postulado la existencia de “genes calientes” o genes que tienen predisposición a mutar espontáneamente. También se ha hablado de “genes mutadores”, es decir, genes que aumentan la frecuencia de mutación de otros genes. Este podría ser el caso de la predisposición individual o familiar a la no disyunción cromosómica, con sus consecuentes efectos.

3. DIAGNÓSTICO PRENATAL

El estudio del ambiente fetal ha despertado siempre curiosidad científica. Hasta hace poco, se tenía escasos conocimientos sobre el tema. Actualmente, con nuevas técnicas, se han llegado a comprender muchos aspectos de la relación madre-feto, como también se empiezan a detectar enfermedades en el útero y a manejar la terapia intrauterina. Muchas de las enfermedades que se han mencionado hasta el momento, de alguna forma producen alteraciones maternas o fetales que pueden ser detectadas o sospechadas, poniendo en alerta sobre los riesgos malformativos o genéticos del feto. Los procedimientos implicados con mayor frecuencia se revisan a continuación:

3.1. Procedimientos implicados en el diagnóstico prenatal

Existen varios pasos que se deben dar para que el diagnóstico prenatal sea confiable y completo.

3.1.1. Hematológico y análisis urinario

Muchos de los resultados obtenidos con estos simples análisis detectan enfermedades maternas más o menos graves, que son causa de discapacidad o malformación fetal. En los casos que ameriten se evaluará anticuerpos específicos: rubeola, toxoplasma, citomegalovirus, sífilis, VIH, glucosa, tipo sanguíneo y

proteínograma. Se podrá, según el caso, profundizar el estudio para detectar aminoácidos específicos de trastornos genéticos como: Fenilcetonuria o alcaptonuria.

3.1.2. Marcadores bioquímicos maternos

En los últimos años se intenta encontrar pruebas bioquímicas maternas que permitan detectar alteraciones fetales; en este sentido, se ha desarrollado la medida de alfa feto proteína (AFP) materna durante la gestación, que permite rastrear dos problemas:

- a) Cifras elevadas de AFP en sangre materna comprobadas posteriormente en líquido amniótico; se acompañan en un número elevado de problemas de cierre de tubo neural; pueden ser diagnosticados hasta el 70% de casos.
- b) Cifras bajas de AFP en sangre materna, se acompañan de un número aumentado de cromosopatías, especialmente la trisomía 21; si se demuestra una baja de la AFP se debe realizar un estudio cromosómico fetal, ya que la especificidad de la prueba de AFP materna es alta (93%) pero su sensibilidad (posibilidad de diagnóstico de síndrome de Down) es baja (20%).

3.1.3. Estudio cromosómico

En ciertos casos, se debe realizar el estudio cromosómico de la pareja o del individuo que se sospeche que porte una alteración cromosómica. El procedimiento a usar puede ser el cultivo de linfocitos T de sangre periférica o de cordón umbilical (funiculocentesis), cultivo de tejidos o fibroblastos en monocapa. Estos son procedimientos especializados mediante los cuales los linfocitos son cultivados por 72 horas bajo el estímulo de un agente inductor de mitosis (fitohemaglutinina); al cabo de este tiempo, se detienen las divisiones celulares con colchicina, las células se someten a un choque hipotónico de KCl al 0,54%, con lo que se consigue que los cromosomas se separen y puedan ser visualizados. Se fija la preparación (fijador Carnoy: Metanol/Ácido acético 3:1), se extienden y se tiñen los cromosomas para su estudio. Los estudios de tejidos son más complicados y largos; se obtiene el tejido (células fetales de líquido amniótico o vellosidades coriales, piel, riñón, músculo, etc.), se lo degrada y se lo pone en cultivo por 3 semanas; la cosecha es similar en la mayoría de aspectos al cultivo de linfocitos. Una vez extendidos los cromosomas en las placas portaobjetos, se pueden realizar técnicas especiales para identificar zonas específicas de los cromosomas; estas técnicas son de bandeamiento; la más común es el bandeamiento GTG, que utiliza tripsina y giemsa, en la que los cromosomas adquieren coloración oscura y clara según el tipo de composición química que tenga el ADN (zonas claras ricas en guanina y citosina, eucromatina, y zonas oscuras ricas en adenina y timina, heterocromatina) (Paz-y-Miño et al., 2012b).

Las técnicas de bandeamiento cromosómico se han desarrollado tanto que, de patrones cromosómicos con 400 bandas en cromosomas metafásicos, se ha pasado a obtener patrones cromosómicos de 800 a 1200 bandas en cromosomas prometafásicos y prometafásicos tempranos, con lo que el diagnóstico con la citogenética ha mejorado notablemente. Uno de estos síndromes es Martin Bell o X frágil. Este es un síndrome que se acompaña de retraso mental, trastornos de conducta, hiperactividad, macroorquidismo, frente amplia y un marcador cromosómico típico que es la rotura

terminal del cromosoma X (fraXq27.3). Por lo general, se encuentra en la población masculina con retraso mental. Las madres de estos pacientes pueden tener retraso mental. Por el patrón de transmisión hereditaria, es una enfermedad recesiva ligada al sexo (Nussbaum et al., 2008). A continuación presentamos una guía para identificar individuos con problemas de los cromosomas autosómicos o gonosómicos:

Características generales de las alteraciones de los autosomas

- a) Retardo mental entre moderado y grave.
- b) Anomalías físicas diversas más o menos graves: Dismorfismos craneofaciales, alteraciones del sistema nervioso, defectos musculoesqueléticos.
- c) Alteraciones de los dermatoglifos.
- d) Infertilidad.
- e) Retardo del crecimiento.
- f) Alteraciones psicomotoras.

Características generales de las alteraciones de los gonosomas

- a) Grados variables de retardo mental o normal.
- b) Malformaciones físicas menores o poco importantes.
- c) Problemas del aparato uro-genital.
- d) Esterilidad o infertilidad.
- e) Alteraciones en la talla [muy alto o muy bajo].
- f) Alteraciones de la conducta, el carácter o la personalidad.

Identificados los individuos que podrían portar una alteración, es indispensable tener claras las indicaciones del estudio cromosómico, como se explica a continuación:

Tabla XV.10. Indicaciones del estudio cromosómico

Estudio cromosómico en el individuo	Malformaciones múltiples Retraso psicomotor Retraso en peso y talla Alteraciones neurológicas Anomalías del desarrollo sexual y de la diferenciación Alteraciones de los dermatoglifos Talla baja sin otra patología (mujeres) Talla muy alta (varones)
Estudio cromosómico en la pareja	Abortos a repetición sin causa aparente Historia de cromosomopatías anteriores, hijos o familiares y antecedentes malformativos Infertilidad o esterilidad de causa desconocida

3.1.4. Amniocentesis o biopsia corial

Esta prueba sirve para estudiar directamente los cromosomas del feto. La amniocentesis se practica a las 16 semanas de embarazo (entre la 15 y 17), por punción transabdominal; se extrae líquido amniótico, se lo cultiva por unas tres semanas y se preparan los cromosomas en la forma descrita anteriormente; se pueden estudiar los cromosomas fetales, el sexo cromosómico o la existencia de cromosopatías. La amniocentesis tiene un riesgo de aborto, con técnica bien realizada, del 3,5%, el cual es mayor que el de cualquier mujer embarazada de 16 semanas (2%). Así mismo, existe un riesgo del 1 ó 2% de no obtener resultados u obtener resultados erróneos (especialmente mosaicismo por contaminación del cultivo con células maternas).

Tabla XV.11. Comparación entre biopsia corial y líquido amniótico

Biopsia corial	Líquido amniótico
Diagnóstico temprano (9 a 11 semanas)	Diagnóstico tardío (15 a 18 semanas)
Técnica directa	Cultivo a mediano plazo
Resultado en 5 días	Resultado en 3 semanas
Citogenética confiable 99,9%	Citogenética confiable 99,9%
Menor angustia materna	Mayor angustia materna
Utilidad para estudios bioquímicos	Utilidad para estudios bioquímicos
Utilidad para estudios enzimáticos	Utilidad para estudios enzimáticos
Factibilidad de estudios de ADN	Factibilidad de estudios de ADN
Bajo riesgo materno y fetal	Bajo riesgo materno y fetal
Pérdida fetal 1,5%	Pérdida fetal 1,5%
Menor número de metafases	Mayor número de metafases
Cromosomas de peor calidad	Cromosomas de mejor calidad
Peor calidad de bandas	Mejor calidad de bandas
Iguals indicaciones citogenética	Iguals indicaciones citogenéticas
Igual posibilidad diagnóstica	Igual posibilidad diagnóstica

La biopsia corial se realiza entre las 9 y 11 semanas de embarazo. Por vía vaginal se extrae vellosidades coriales que son analizadas directamente, luego de añadir colchicina, choque hipotónico, Carnoy y extensión de la muestra. La biopsia corial aumenta el riesgo de aborto entre 1,5 y 2% del porcentaje normal de la población de embarazadas que es del 4 al 5%. En la siguiente tabla se hace una comparación entre la técnica de líquido amniótico y biopsia corial.

Tabla XV.12. Indicaciones del diagnóstico prenatal citogenético

Embarazo en una mujer mayor de 35 años
Embarazo luego de abortos repetidos
Hijo anterior con una cromosopatía
Historia familiar de cromosopatías
Herencia ligada al sexo
Progenitor con una alteración cromosómica estructural equilibrada

3.1.5. Ultrasonografía

El desarrollo técnico en esta área permite, en la actualidad, detectar una serie de anomalías y malformaciones fetales que antes era imposible. Es indispensable que el equipo de ultrasonografía brinde nitidez y gran resolución para poder detectar malformaciones mayores y menores. Actualmente, se ha desarrollado la ecocardiografía

fetal, para detectar problemas malformativos del producto. Esta alternativa debería tomarse muy en cuenta en nuestro medio, donde los problemas de cardiopatías congénitas son frecuentes y han registrado, en muchos casos, un componente poligénico en la herencia, tornando aún más necesaria la evaluación familiar. En la siguiente tabla se aprecian las posibilidades de cardiopatías según el parentesco con los probandi.

Tabla XV.13. Frecuencia de cardiopatías congénitas según parentesco

Grado	Parentesco	Sujetos afectados (%)
Primer	Hermanos	2,5 a 3
	Hijos	3 a 4
	Padres	1,5 a 2
Segundo	Sobrinos	1 a 1,5
	Tíos	1 a 1,5
	Abuelos	0,5 a 1
Tercera	Primos hermanos	0,5

3.1.6. Fetoscopia

Es la visualización directa del feto mediante un fetoscopio. Esta técnica brinda actualmente una ayuda importante en los casos de sospecha de enfermedades que necesitan examen morfológico fetal directo, extracción de sangre fetal por funiculocentesis para estudios cromosómicos, enzimáticos o bioquímicos en un probable feto afecto; permite también realizar biopsia de piel fetal. Actualmente, se están utilizando los fetoscopios introducidos por vía vaginal para extracción de vellosidades coriales. Con estas muestras se puede diagnosticar hemofilias, hemoglobinopatías, inmunoglobulinopatías fetales, viremias o infecciones intrauterinas, epidermolisis bullosa letal y genodermatosis.

4. ALTERNATIVAS FRENTE AL RIESGO GENÉTICO

Las enfermedades genéticas y malformativas representan una dura carga social e individual, física y psíquica. Por esta razón, en muchos países del mundo se ha dado a la educación genética un apoyo muy importante dentro del campo de la salud pública. Organismos internacionales como la OMS o la OPS tienen desde hace algunos años contemplados, dentro de sus actividades, programas de Genética Médica.

Las alternativas que puede brindar la genética están inmersas, por tradición, en valores sociales y legislativos, no siempre adecuados a la realidad sanitaria de cada país. El genetista experto debe guiar su actividad preventiva en el plano eminentemente científico, sin anteponer sus valores en el consejo o asesoramiento que el paciente ha requerido. La obligación del genetista será dar el mayor número de datos y posibles efectos de las enfermedades genéticas y malformativas. La pareja o la embarazada será quien decida, sin presiones y libremente sobre el futuro de su vida reproductiva o sobre el embarazo en curso. Lo que la Genética Médica pretende, no es convertirse en una fórmula fácil de evadir los problemas de salud; todo lo contrario.

Mediante su desarrollo y el perfeccionamiento de técnicas, unas relativamente sencillas pero especializadas como el estudio cromosómico, otras algo más complicadas como el cultivo celular del líquido amniótico o la biopsia corial, hasta algunas técnicas sofisticadas de secuenciación de genes anormales y la posibilidad futura de tratamiento génico de enfermedades intrauterinamente, hacen de la Genética una rama seria, con objetivos claros de servicio científico a la humanidad. Planteada así la función del médico genetista, las personas podrán optar por alguna de las siguientes alternativas en la búsqueda de soluciones temporales o definitivas a la carga impuesta por un trastorno genético o malformativo, como posible causa de subnormalidad:

4.1. Esterilización o contracepción

La contracepción voluntaria en parejas con alto riesgo debe ser siempre tomada en cuenta en el asesoramiento genético o médico. Con los rápidos avances de las técnicas moleculares, citogenéticas, metabólicas y bioquímicas para el diagnóstico prenatal, es de esperarse que en un futuro muy próximo, se resuelvan problemas hasta hoy conflictivos para las parejas.

El problema de la esterilización de individuos con alto riesgo de transmisión hereditaria es algo más delicado. Sería ideal que, bajo una información real, científica y adecuada, cada persona en riesgo opte por este camino. Queda la interrogante, hasta hoy muy discutida, de qué hacer con los afectos de enfermedades genéticas graves, con riesgo de transmisión hereditaria alta o letales.

4.2. Interrupción terapéutica del embarazo

En muchos países la legislación contempla el aborto terapéutico como medida adecuada en los casos confirmados de problemas genéticos y malformativos que determinan una subnormalidad. El límite de edad gestacional para proceder a un aborto terapéutico, es a las 22 semanas de embarazo. La autorización está dada por dos médicos que han confirmado o diagnosticado el problema o, en su defecto, cuando es pedida por las parejas o mujeres que cursan un embarazo de alto riesgo malformativo o transmisión hereditaria.

En nuestro país existe una prohibición expresa sobre el aborto terapéutico. Se considera que este tema debió haber sido tratado con mayor conocimiento de causa e imparcialidad debido a que existen casos extremos en donde las experiencias de las madres deben ser de gran impacto en la decisión definitiva sobre el aborto terapéutico. Este es un tema preocupante a nivel nacional e internacional, tanto, que en los últimos Congresos de Genética (latinoamericanos y mundiales) se ha dado un tratamiento especial y preferencial a esta temática, sin que los científicos dedicados a la ética en la investigación lleguen a un consenso.

4.3. Asistencia neonatal adecuada

En muchos casos será necesario alertar al pediatra sobre posibles malformaciones que pueda presentar el feto. Este solo hecho sirve para que el pediatra siga la pista del recién nacido y se programen terapias neonatales adecuadas; caso contrario, podría perderse la oportuna acción médica preventiva.

4.4. Terapia intrauterina

Como se mencionó anteriormente, la genética está en posibilidad de corregir y tratar algunos problemas de causa molecular. La meta es localizar una cascada genética anormal, analizarla, silenciarla y reemplazar sus genes defectuosos por normales. Se están logrando importantes avances en este campo con la Ingeniería Genética, aunque todavía habrá que esperar para su utilización humana.

Algunas enfermedades fetales pueden corregirse con la administración de fármacos a la madre que mejoran el desarrollo fetal respiratorio, la insuficiencia cardíaca fetal, las deficiencias enzimáticas, minerales y avitaminosis o con corrección de la dieta materna en caso de fabismo, galactosemia, etc. Otra alternativa es la administración de sustancias por vía amniótica, como hormona tiroidea, nutrientes específicos en el crecimiento intrauterino retardado (CIR) o cardiotónicos. El abordaje terapéutico del feto a través del cordón umbilical es muy reciente y ha servido para tratamientos farmacológicos específicos, transfusiones sanguíneas, etc. El tratamiento quirúrgico intrauterino ha posibilitado corregir problemas como la hidrocefalia, obstrucción urinaria, hernia diafragmática y defectos de cierre del tubo neural.

4.5. Consejo o asesoramiento genético

Esta es sin duda una de las labores más importantes y al mismo tiempo más difíciles de la actividad de un médico genetista. Debe ser realizada por un experto genetista ya que el manejo de riesgos de recurrencia, la interpretación de los estudios genéticos, el desciframiento del tipo de herencia a partir del estudio del árbol genealógico y el manejo de otras destrezas y conocimientos indispensables para una buena orientación, son atributos casi exclusivos de su especialización.

El consejo o asesoramiento genético es tan importante como una receta acertada de un médico clínico o una operación exitosa de un cirujano; es la culminación de la relación médico-paciente-genetista. Por estas razones es indispensable considerar que el asesoramiento genético debe estar precedido por una comprensión profunda de los mecanismos hereditarios, de la enfermedad genética, de su pronóstico, evolución y tratamientos disponibles; se debe tener un diagnóstico exacto del problema, conocer perfectamente las formas de realizar un historial genético y las genealogías; conocer las alternativas que un individuo o una pareja podrá seguir frente a su problema, dar la información científica adecuada e imparcial; se deben además conocer los datos poblacionales de la frecuencia e incidencia de las patologías. Otras consideraciones adicionales importantes son: el peso o carga que impone la enfermedad al individuo, a la familia y a la sociedad, el riesgo de que se repita la enfermedad en la descendencia, de acuerdo al tipo de herencia y a su gravedad. Con estos antecedentes, los objetivos que cumple el asesoramiento genético en el individuo son:

- a) Reducir el dolor y el sufrimiento que causa la enfermedad (terapia psíquica individual y familiar).
- b) Reducir la ansiedad y los sentimientos de minusvalía.
- c) Ayudar al paciente a sobrellevar la enfermedad.
- d) Plantear los posibles tratamientos y alternativas.

Los objetivos del asesoramiento genético en la pareja son:

- a) Ayudar a la pareja a tomar sus propias decisiones sobre su reproducción.
- b) Dar opciones sobre la planificación familiar.
- c) Reducir la ansiedad y los sentimientos de culpa.
- d) Educar a la pareja y a la familia sobre la enfermedad en cuestión y la forma de afrontarla.
- e) Favorecer mecanismos adaptativos que ayuden a sobrellevar problemas genéticos.
- f) Estimular a las parejas para que tomen sus propias decisiones.

Las indicaciones del asesoramiento genético se detallan en el siguiente cuadro:

Tabla XV.14. Indicaciones del asesoramiento genético

Enfermedades	Herencia
Enfermedades monogénicas	Autosómicas dominantes Autosómicas recesivas Ligadas al sexo
Enfermedades poligénicas Malformaciones diversas	Menores o mayores Aisladas o asociadas
Consanguinidad Exposición a agentes genotóxicos o mutagénicos Cáncer familiar	Químicos, fármacos

En relación a las cromosomopatías, el asesoramiento genético será específico según el tipo de alteración. En términos generales, el riesgo de recurrencia de un problema cromosómico simple está por debajo del 1%. El síndrome de Down constituye un buen ejemplo de cómo se comporta una alteración citogenética en relación con los riesgos de tener descendencia afectada; esta dependerá del tipo de alteración citogenética que se presente en los hijos afectados; además, si uno de los padres es portador de una anomalía cromosómica estructural, aumenta el riesgo de una descendencia anormal.

En la siguiente tabla se aprecia que el riesgo de recurrencia varía según el tipo de hallazgo citogenético en el primer hijo afecto o en los padres. Las mujeres que previamente han tenido un hijo con trisomía 21, tienen un riesgo de recurrencia adicional del 1 al 2%. El riesgo es de 30 a 50 veces mayor que el habitual si la madre tiene un hijo con síndrome de Down cuando es menor de 25 años, y de 5 veces más si está entre las edades de 25 a 29 años. Esto podría deberse a que uno de los progenitores es portador de una translocación equilibrada. En términos generales, puede decirse que 1 de cada 60 mujeres con un hijo con esta enfermedad, engendrará posteriormente otro hijo de similares características.

Los últimos estudios realizados en personas con síndrome de Down en el Ecuador se relacionan con el *Primer estudio biopsicosocial clínico genético de las personas con discapacidad*, dentro del programa gubernamental “Misión Solidaria Manuela Espejo”. Ver el Capítulo VII, “Origen genético de las discapacidades en el Ecuador”.

Tabla XV.15. Riesgo de recurrencia en el síndrome de Down

Tipo	Otras series (%)	Series Ecuador (%)	Riesgo de recurrencia	
			Sin cariotipo	Con cariotipo
Trisomía primaria	94,5	94,4	5 a 50 veces más que la población	1 a 2
Todos los demás tipos	5,5	5,6	5 a 50 veces más	Tipo
t	3,5	5,5		
t heredadas D/G	51	-	-	-
t 13/21, t 14/21, t 15/21	44	-	-	-
MPTE	-	-	-	10
PPTE	-	-	-	5
t G/G (21/22)	5,6	-	-	-
MPTE	-	-	-	7
PPTE	-	-	-	3
t G/G (21/21)	1,4	-	-	-
MPTE	-	-	-	100
PPTE	-	-	-	100
t esporádica	49	100	1 a 2%	1 a 2
t D/G	66	66,6	1 a 2%	1 a 2
t G/G	44	33,4	1 a 2%	1 a 2

(t) Translocación; (MPTE) Madre portadora de translocación equilibrada; (PPTE) Padre portador de translocación equilibrada

5. TÉCNICAS UTILIZADAS PARA EL DIAGNÓSTICO PRENATAL

Existen actualmente varias técnicas para diagnóstico prenatal que permiten estudiar al feto en su composición cromosómica, enzimática, bioquímica y molecular mediante estudios del ADN. Entre las técnicas utilizadas actualmente para el diagnóstico prenatal y que han aparecido secuencialmente, están:

- Estudio en líquido amniótico (LA), punción transabdominal. Entre las 15 y 18 semanas de embarazo.
- Estudio de velocidades coriales o biopsia corial (BC), transvaginal. Entre las 9 y 11 semanas de gestación.
- Fetoscopia y estudio de LA, transabdominal. Entre las 15 y 22 semanas de embarazo.
- Estudio de BC transabdominal. Entre las 15 y > 22 semanas de gestación.
- Fetoscopia y estudio de BC, transvaginal. Entre las 9 y 11 semanas de embarazo.
- Funiculocentesis, estudio directo de sangre del cordón. Entre las 18 y > 22 semanas de gestación.
- Celomacentesis, estudio de las células fetales de la cavidad celómica, técnica desarrollada por Davor Junkovic en Londres, que se realiza entre las 6 y 10 semanas de embarazo, con una efectividad de hasta el 70%.

Cualquiera de las técnicas anteriormente anotadas sirve para estudios cromosómicos, enzimáticos, bioquímicos y moleculares. La diferencia entre una y otra

está en el grado de complejidad de cada técnica, la edad gestacional en que se la realiza y sus riesgos. El siguiente cuadro muestra las posibilidades de diagnóstico prenatal según el tipo de afección que se busque (Tabla XV.16).

Para un diagnóstico prenatal se recomienda cumplir los siguientes requisitos: evaluación clínico-genética de la pareja, explicación de las alternativas para el diagnóstico prenatal, de los riesgos de la prueba (1 a 2% de pérdida fetal en los 15 días posteriores a la extracción de la muestra), de las posibilidades de falsos negativos y falsos positivos (0,1 a 1%), de la probabilidad de no encontrar metafases o de no crecimiento celular (1 a 3%) y de la real efectividad del diagnóstico prenatal que, combinando las tres técnicas tradicionales: amniocentesis con estudio cromosómico, bioquímico-enzimático (AFP) y ecosonografía, puede cubrir un 30% de posibilidades malformativas fetales. Toda técnica de diagnóstico prenatal debe realizarse bajo vigilancia ecosonográfica.

Tabla XV.16. Probabilidad del diagnóstico prenatal según la causa del problema

Causa	Frecuencia	Diagnóstico	Procedimiento
Cromosómica	0,6%	100%	Líquido amniótico, biopsia corial, funiculosentesis
Monogénicas	1,4%	< 40%	Líquido amniótico, biopsia corial, funiculocentesis (ADN, enzimas, bioquímicos)
Poligénicas	3,0%	90%	Ecosonograma, multifactoriales radiológicos, fetoscopia, inmunológicos, enzimáticos, bioquímicos

En el país se contaba con la tecnología del líquido amniótico y de la biopsia corial para estudios cromosómicos y algunos enzimáticos. Con el avance del análisis de enfermedades genéticas y cromosómicas, actualmente, existe la capacidad de analizar más enfermedades que hace 30 años.

Hasta la fecha, los datos que tenemos sobre diagnóstico prenatal en Quito se concentran en la siguiente tabla:

Tabla XV.17. Diagnóstico prenatal en líquido amniótico y vellosidades coriales

Indicación citogenética	Casos	Muestra			
		LA	BC	Normal	Anormal
Hijo previo SD	23	22	1	22	1: [47,XX,+21]
Alta edad materna	55	55	1	51	4: [47,XY,+21]; [47,XXY]; [45,XO]; [46,XX,+mic]
Hijo previo polimalformado	12	12		12	
Translocaciones	7	7			7: t(2;18); t(4;11); t(5;14); t(6;7); t(8;X); t(13;15); t(11;14)
Abortos previos	6	6		6	
Angustia materna	8	8		7	1
Total	111	110	2	98	13

[SD] Síndrome de Down; [LA] Líquido amniótico; [BC] Biopsia corial

Una lista de indicaciones para el estudio cromosómico en la pareja e indicaciones del diagnóstico prenatal en líquido amniótico o biopsia corial se presenta en el siguiente cuadro.

Indicaciones para el estudio cromosómico en la pareja

- a) Abortos a repetición [> 1] sin causa aparente.
- b) Historia de cromosomopatías anteriores, en hijos o familiares y antecedentes malformativos.
- c) Infertilidad o esterilidad de causa desconocida.

Indicaciones del diagnóstico prenatal en líquido amniótico o biopsia corial

- a) Embarazo en una mujer mayor de 35 años.
- b) Embarazo posterior a abortos a repeticiones.
- c) Historia familiar de cromosomopatías.
- d) Progenitor con una anomalía cromosómica estructural equilibrada.

En este capítulo se ha pretendido resolver algunas dudas sobre los riesgos genéticos y malformativos en el embarazo en particular y paralelamente, llamar la atención sobre aspectos que de una u otra manera contribuyan al desarrollo de la Genética Médica y posibiliten mejorar o prevenir la salud en nuestra comunidad.

Algunas enfermedades que necesitan una guía médica y genética adecuada, con sus posibles alternativas, se recogen en la Tabla XV.18.

De lo revisado anteriormente, se puede concluir que la Genética de Poblaciones sirve en la práctica para ubicar comunidades genéticamente emparentadas, para estudiar polimorfismos genéticos, hallar cercanías o alejamientos génicos, encontrar patrones génicos comunes asociados a enfermedades o fenómenos biológicos peculiares de grupos poblacionales aislados o racialmente emparentados. La Genética de Poblaciones sirve además, para comprender los fenómenos de migración, flujo de genes, intercambio de información genética, selección natural, al azar o artificial y la evolución de las especies.

En Medicina (clínica, legal y forense) la información de genealogías, frecuencia de enfermedades, asociaciones de marcadores genéticos, bioquímicos, enzimáticos y proteicos, permite hacer cálculos bastante aproximados de riesgos de recurrencia de enfermedades, ubicar poblaciones con mayor riesgo de enfermedades, resolver problemas de paternidad y poder realizar un buen asesoramiento y consejo genético. Finalmente, el estudio de los polimorfismos en las poblaciones humanas es útil para la construcción de mapas de ligamiento y para establecer distancias entre los diferentes genes en el genoma humano (Nussbaum et al., 2008).

Tabla XV.18. Alternativas frente al riesgo genético**Interrupción terapéutica del embarazo**

- a) Defectos del cierre del tubo neural: anencefalia, encefalocele e hidrocefalia
- b) Cromosomopatías: todas las que se acompañan de minusvalía severa
- c) Malformaciones renales: agenesia, poliquistosis
- d) Enfermedades genéticas graves: bioquímicas, metabólicas o hematológicas

Tratamiento en útero

- a) Anemia, eritroblastosis e hidrops
- b) Hipotiroidismo y bocio
- c) Hidronefrosis bilateral
- d) Hidrocefalia obstructiva
- e) Hernia diafragmática
- f) Insuficiencia cardíaca fármaco convertible

Inducción pretermino

- a) Bandas amnióticas
- b) Crecimiento fetal retardado tipo II
- c) Gastrosquisis
- d) Hidrocefalia obstructiva progresiva
- e) Hidronefrosis obstructiva
- f) Hidrops fetal

Cesárea electiva

- a) Siameses
- b) Hidrocefalia
- c) Higroma quístico
- d) Mielomeningocele grande o roto
- e) Onfalocele
- f) Teratoma sacrocoxígeo

Corrección post parto inmediato

- a) Atresia digestiva
- b) Hernia diafragmática
- c) Íleo meconial
- d) Defectos de cierre de tubo neural. Higroma
- e) Riñón multiquístico

6. NUEVA ERA DEL DIAGNÓSTICO PRENATAL EN EL ECUADOR

Una de las preocupaciones más grandes de la mujer embarazada es si su hijo nacerá bien: íntegro, sano, con sus sentidos normales y plena capacidad mental.

Tradicionalmente, las técnicas de evaluación del producto del embarazo eran limitadas: palpar y oír. El desarrollo de la medicina introdujo métodos sofisticados como los rayos X y la ecosonografía, para evaluar intraútero cientos de enfermedades. Hacia los años ochenta del siglo XX se desarrolló el diagnóstico prenatal cromosómico y genético, a través del estudio del líquido amniótico extraído de la madre. La técnica incluye la evaluación adicional de la proteína AFP que informa si el estuche óseo del cerebro y columna vertebral están intactos. Juntas la ecosonografía, cromosomas y AFP dan una información diagnóstica del feto hasta un 35% de problemas malformativos y discapacitantes.

La ecosonografía detecta hasta el 85% de problemas malformativos y el líquido amniótico hasta unas 500 enfermedades cromosómicas. Pero esto no es suficiente. Aun hay mucho por hacer ya que se conocen 9 mil enfermedades del ADN y solo mil tienen diagnóstico.

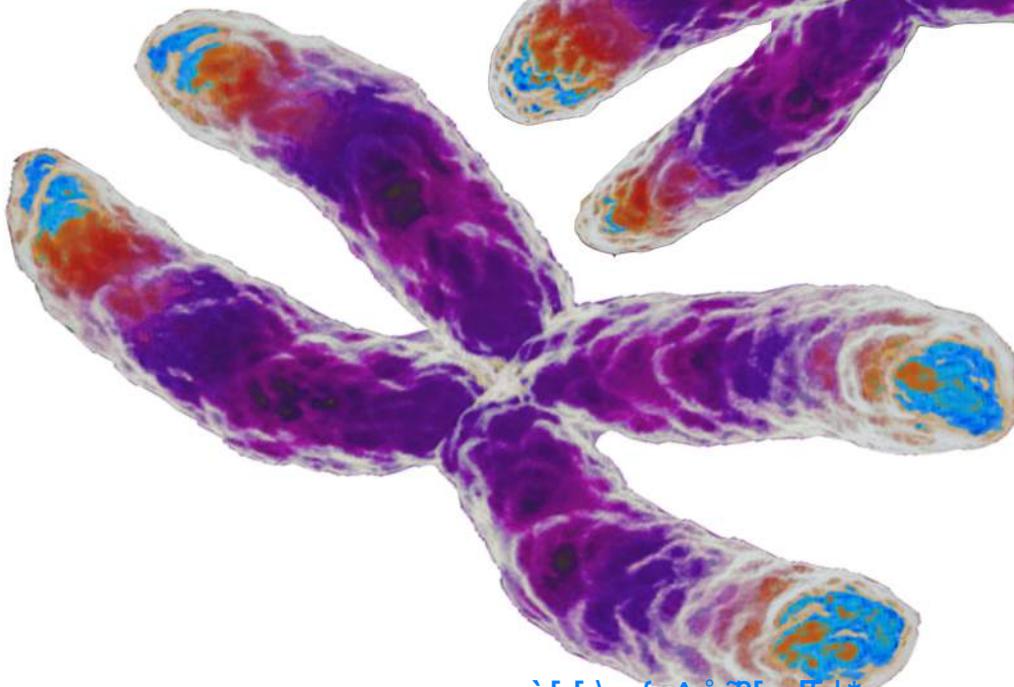
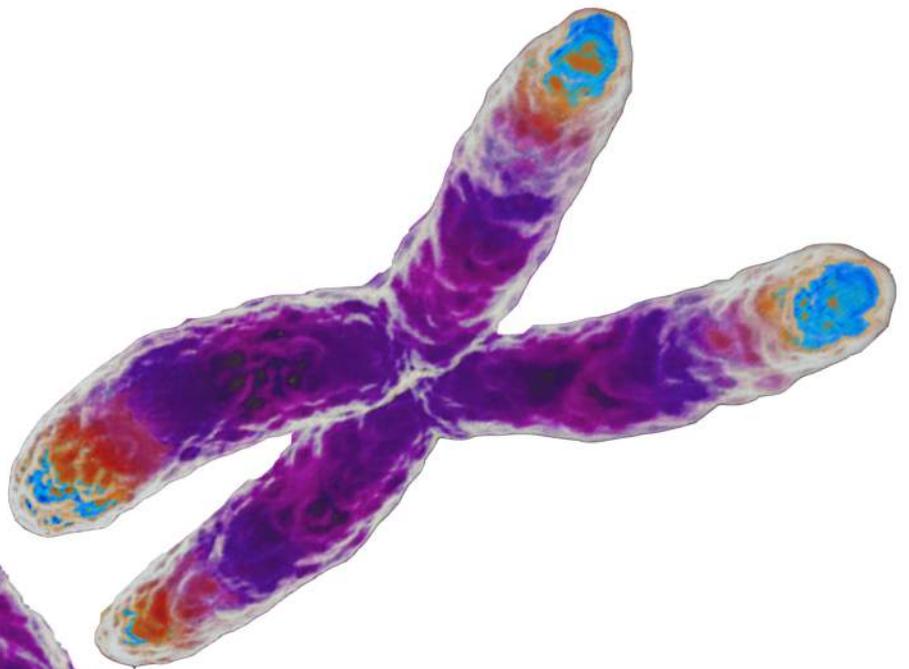
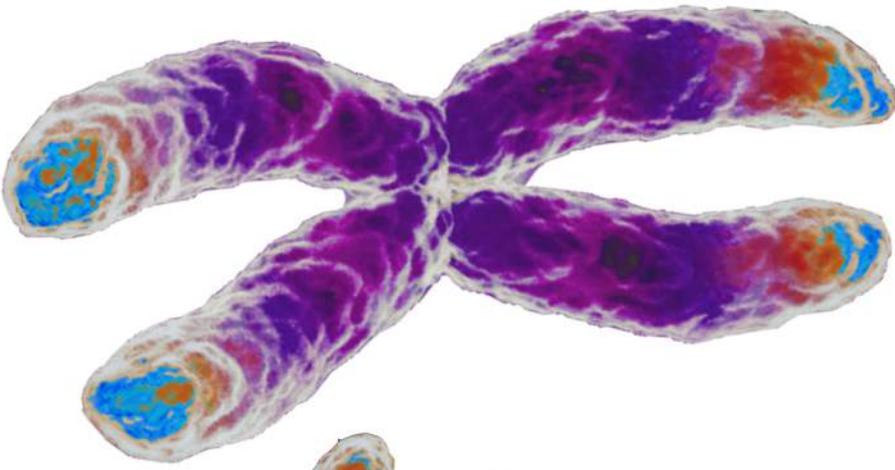
Hoy, combinando los conocimientos en Microelectrónica y Biología Molecular se han creado los biomicrochips (biochips), unión de ADN a lectores electrónicos de alta sensibilidad. Los biochips podrían evaluar el genoma completo de un feto, pero, por ahora, los primeros biochips para el diagnóstico prenatal se han desarrollado para las 150 enfermedades más comunes del ADN; adelante acogido por la comunidad científica y por las madres beneficiadas con complacencia y mucha esperanza.

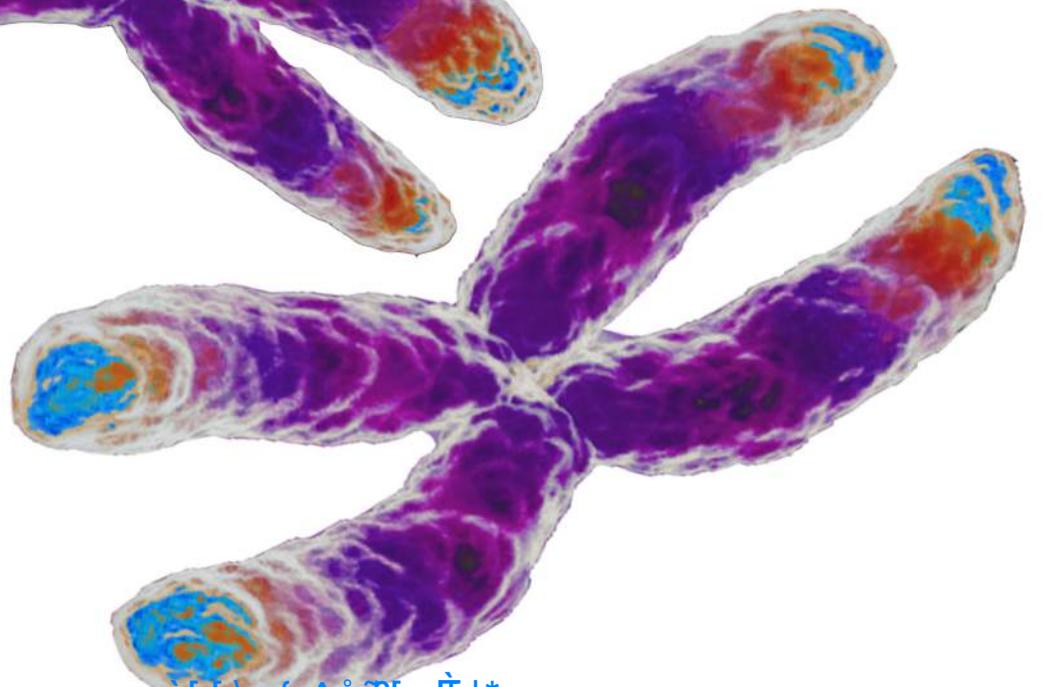
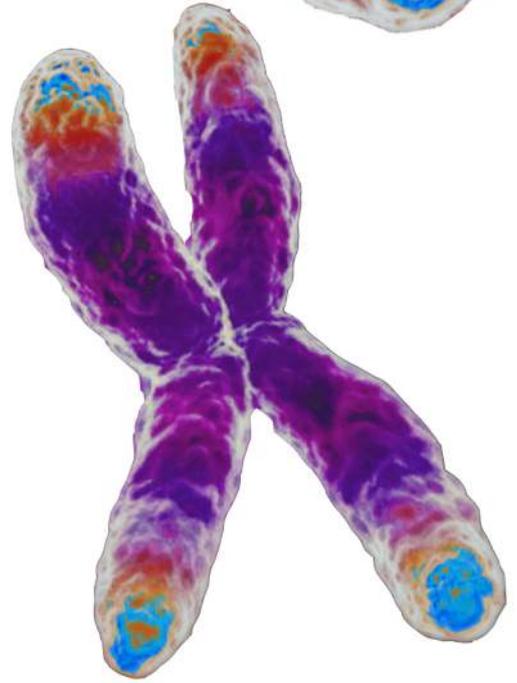
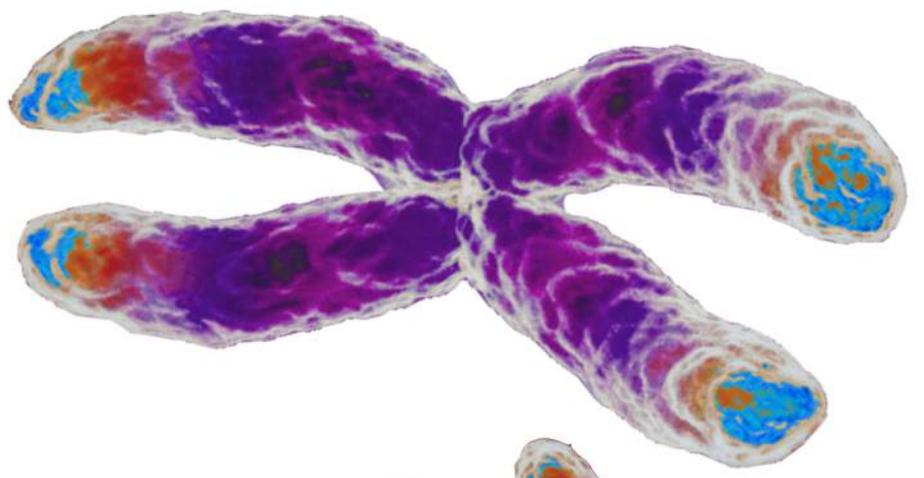
El diagnóstico prenatal tiene objeciones que lindan con la moral. Injustamente se lo asocia al aborto porque al diagnosticar prenatalmente un problema grave, 99% de madres suelen solicitar una interrupción terapéutica de su embarazo, y eso está prohibido en el Ecuador por caducas leyes. De todas maneras, ante un diagnóstico de embarazo con malformaciones o enfermedades genéticas graves, las familias y las mujeres buscan y terminan en una interrupción terapéutica, incluso al margen de la ley. Este es justamente el tema central a ser resuelto desde el punto de vista ético y científico, no moral.

Pese a los 30 años de vigencia de las técnicas del diagnóstico prenatal, en el Ecuador muy pocos centros las ofrecen y, por los costos altos, son casi inaccesibles. Ni se diga los biochips que no existen en el país ni hay planes de implementarlos. El diagnóstico prenatal (DP) es un derecho de las mujeres, de la salud reproductiva, es una posibilidad de tener hijos sanos y debería ser parte de los programas de salud pública y prevención de discapacidades.

16

ASPECTOS BIOÉTICOS EN LA INVESTIGACIÓN





ã[\ • { ^ ãæ[• ð ! *

CAPÍTULO XVI

ASPECTOS BIOÉTICOS EN LA INVESTIGACIÓN

Las regulaciones bioéticas en las diversas áreas de investigación han permitido de cierta forma controlar la metodología experimental en los diferentes laboratorios.

1. REGULACIÓN DE LAS INVESTIGACIONES A NIVEL MUNDIAL

Durante las últimas cuatro décadas se ha adquirido un conocimiento amplio sobre el ADN, sus funciones y sus alternativas de manipulación molecular, lo que ha creado nuevas ramas en la Biología y en la Medicina: la Ingeniería Genética y la Biotecnología. Estas ramas han permitido la construcción artificial de moléculas de ADN que pueden transmitir información genética entre células u organismos que no tienen relación alguna, es decir, que se han obviado experimentalmente las barreras que la naturaleza ha puesto para el intercambio genético entre organismos no emparentados biológicamente. Esto ha determinado que entre los investigadores surjan debates encaminados a la autoevaluación y autorregulación de esta depurada tecnología genética que, al decir de algunos, conlleva riesgos inconvenientes para las especies, la evolución y la ecología.

El debate entre científicos y no científicos se ha centrado en la validez o no de las investigaciones biotecnológicas, sus resultados y aplicaciones. Muchos han considerado que el asunto posee un tinte político importante frente al que es pertinente pensar si la ciencia ha adquirido dimensiones suficientes como para dejarla en manos de los propios científicos o si se debería permitir que sea regulada, normalizada y controlada por los no científicos.

La tecnología del ADN recombinante se puede resumir en las siguientes disciplinas: manipulación de genes procariontes, transferencia de genes intraespecie e interespecie, mapeo y expresión artificial de ADN procarionte o eucarionte, amplificación y regulación génica, manipulación de genes eucariontes, ingeniería genética humana, terapia génica, tecnología reproductiva y embrionaria, clonación de genes e individuos y manipulación genética de embriones, entre las principales (Strachan & Rear, 2010).

Frente al desarrollo de la biotecnología, la avalancha de datos y experimentos fue tan grande en un momento determinado que los científicos, en la reunión denominada “*Asilomar Conference on DNA Recombinant Molecules*” (1975), resolvieron parar las investigaciones hasta aclararse algunas cuestiones fundamentales en la investigación biomolecular, sobre todo en referencia a algunos experimentos que resultarían arriesgados. Las tendencias se polarizaron en los científicos, unos veían como beneficiosa la manipulación genética y sus perspectivas, como eran la producción de fármacos más eficaces y baratos, la mejor comprensión de las causas de ciertas enfermedades genéticas y del cáncer, la producción alimentaria más abundante, la producción de hormonas, terapia génica e incluso nuevos enfoques al problema de la energía. Al otro extremo se ubicaron las tendencias pesimistas que consideraban a la Biotecnología como un peligro, ya que su poco conocimiento podría encaminar a la

humanidad a epidemias extrañas producidas por agentes patógenos de nueva creación, amenaza de catastróficos desequilibrios ecológicos y confección de nuevas armas para militaristas y terroristas con consecuencias políticas nefastas como el dominio y control de la humanidad. Paralelamente a la decisión de detener las investigaciones biotecnológicas se conformaron grupos de científicos y no científicos para evaluar el producto obtenido hasta ese momento, con los siguientes tres objetivos:

- a) Analizar los potenciales riesgos biológicos y ecológicos de los distintos tipos de moléculas de ADN recombinante que se puedan obtener.
- b) Promocionar el desarrollo de procedimientos que minimicen la difusión de estas moléculas entre los seres vivos, especialmente el hombre y los animales.
- c) Establecer una normativa a seguir por los investigadores que trabajen en moléculas de ADN recombinante que entrañen peligro potencial.

Estas tres tareas se concretaron como respuesta a las tendencias pesimistas entre los investigadores y como una autocrítica severa a los experimentos hasta entonces realizados. Se ha argumentado que los peligros biológicos y ecológicos de la manipulación biotecnológica surgen inadvertidamente y que los daños sociales pueden ser producto de mentes maléficas. Hay que considerar que los posibles daños causados por la investigación en Ingeniería Genética, no serían ni son la única causa de peligros para la humanidad. Los beneficios obtenidos en la manipulación genética son enormes, basta anotar las vacunas obtenidas por Ingeniería Genética o la terapia genética, en desarrollo (Paz-y-Miño, 2013). Sin embargo, un hecho es cierto: nunca, hasta la fecha, se ha producido un acontecimiento funesto en la investigación del ADN recombinante ni en sus aplicaciones. Por esto, la comunidad científica consideró necesario llevar a cabo una investigación orientada a reducir eficazmente el grado de duda actual acerca del riesgo de determinados experimentos y crear comités de vigilancia, normalización y evaluación de la experimentación biotecnológica. Surgió así el concepto de contención biológica, es decir, el uso de cepas microbiológicas genéticamente deficiente con mayor control en su manipulación.

1.1. Normas de tipo físico

En relación a las normas de tipo físico que existen en los diversos laboratorios a nivel mundial, existen 4 niveles de bioseguridad que se basan en el tipo de muestras y materiales utilizados, siendo el nivel 1 el más leve y el nivel 4 el más estricto. Sus diferencias son las siguientes:

1.1.1. Nivel P₁

Empleo de técnicas estériles, prohibiciones expresas (no comer, no fumar, etc.) y esterilización de los desechos antes de ser eliminados.

1.1.2. Nivel P₂

Normas similares a las anteriores, más el ingreso al laboratorio únicamente de personal autorizado que conozca los riesgos a los que está expuesto.

1.1.3. Nivel P₃

Iguales indicaciones que las anteriores, pero las investigaciones se deben realizar en laboratorios con presión negativa, y separados de otras áreas de trabajo. No se permitirá la salida fuera del laboratorio de organismos viables, a menos que permanezcan en recipientes irrompibles, sellados y descontaminados exteriormente.

1.1.4. Nivel P₄

Nivel de máxima seguridad, destinado al trabajo con organismos altamente patógenos o peligrosos. Aislamiento de las zonas de trabajo; apertura de recipientes en gabinetes o campanas de bioseguridad tipo IV. Pocos laboratorios deberán ser autorizados para este tipo de trabajo.

1.2. Normas de tipo biológico

Existen tres sistemas EK:

1.2.1. Sistema EK₁

Empleo de cepas microbiológicas no patógenas, incapaces de colonizar al ser humano; empleo de vectores no autorreproducibles como el fago lambda.

1.2.2. Sistema EK₂

Empleo de cepas genéticamente alteradas que sean incapaces de vivir en condiciones normales fuera del laboratorio y que tengan una probabilidad de supervivencia fuera de éste de 10^{-8} .

1.2.3. Sistema EK₃

Iguales medidas que las anteriores y además que los recombinantes genéticos sean probados en animales.

Con el propósito de tener mayor seguridad en el trabajo biotecnológico, se han creado cepas bacterianas de *Escherichia coli* X1776 con 15 deficiencias genéticas que le proporcionan destrucción de bacterias y de su información génica, si se intenta cultivarlas fuera del laboratorio, aumento de la sensibilidad de las células a determinadas condiciones físicas y ambientales, y dificultad de transmisión de la información genética a otros microorganismos. Como se puede apreciar, las normas de bioseguridad para el trabajo en biotecnología de alto riesgo son rigurosas y permiten efectuar, con bastante seguridad, estas investigaciones.

En muchos países ya existen regulaciones legales para tratar los temas anotados; en el nuestro, hay un vacío legal al respecto. Se ha intentado regular la acción médica en casos conflictivos, como aquellos en los que se deba planificar las actividades de un hospital o evaluar un caso en particular en función de las demandas sociales y prioridades médicas e individuales.

En Biomedicina, existen algunos aspectos puntuales a plantear en relación a manipulación genética de embriones. Se sabe que esta orienta a:

- d) Alterar los mecanismos de reproducción: Sea contracepción, fertilización artificial y clonación de individuos.
- e) Manipulación sobre los cigotos y embriones: Aborto y parto inducido.
- f) Manipulación perinatólógica: Uso de órganos y experimentación terapéutica.
- g) Eugenesia y eutanasia.
- h) Manejo, intercambio y uso de los recursos genéticos de órganos y tejidos.

2. AVANCES EN LA TECNOLOGÍA DEL ADN RECOMBINANTE

El desarrollo de la tecnología del ADN recombinante ha desembocado al sueño de los genetistas humanos, esto es el poder reemplazar genes anormales por normales. Para este aspecto los tratados bioéticos son rigurosos. De las cuatro categorías de la Ingeniería Genética Humana expuestas a continuación, tan solo la primera ha sido aceptada como válida para la investigación en terapia génica:

- a) Terapia de células somáticas: Su intención es corregir defectos genéticos en alteraciones somáticas.
- b) Terapia en células germinales: Su finalidad será corregir defectos genéticos en células germinales.
- c) Incremento de una característica genética específica: Pretenderá estimular la producción de un producto génico, por ejemplo la hormona de crecimiento.
- d) Ingeniería genética eugénica: Una vez conocido el genoma humano, pretenderá alterar o mejorar características humanas complejas, sean de origen mono o poligénico.

Un punto importante a ser tratado en relación a los aspectos éticos de la manipulación genética es el impacto que la biotecnología tiene sobre los países en vías de desarrollo; y la dependencia tecnológica y aún política que este tiene por permanecer al margen de ciertas tecnologías de vanguardia. Habrá que meditar sobre la propiedad de los descubrimientos del ADN recombinante, su comercialización y el mantenimiento o no de su carácter secreto. La reunión sobre el ambiente en Río de Janeiro con su documento sobre "Biodiversidad y bioprotección", y la llamada "Agenda 21" (1992), son pasos importantes en la protección de la rica biodiversidad genética de nuestros pueblos, de las regulaciones sobre acceso a recursos genéticos, control, propiedad y restricciones. Se habla actualmente de los riesgos de los bioprospectores y aun de un biopiratero de las reservas genéticas humanas y de otras especies. Mientras los países "en desarrollo" no planifiquen su desarrollo tecnológico, la dependencia científica y económica hacia los "poseedores de la ciencia" será mayor. El acceso a la tecnología y a los conocimientos científicos, cuya potencialidad no entrañe riesgo de muerte, no produzca cambios en la identidad biológica e individual de la especie y garantice una vida productiva y digna, es un derecho de toda la humanidad y su utilización en beneficio de todos es un imperativo.

El uso indebido de la información genética en los momentos actuales, ha producido fenómenos socialmente extraños y que constituyen problemas éticos especiales, estos son: la discriminación genética de los individuos afectados, la discriminación genética de los familiares de afectados, la discriminación genética de poblaciones de riesgo detectadas mediante pesquizaje poblacional, la discriminación de enfermos crónicos e incurables (VIH, cáncer, demencia senil, ataxia, etc.); y el bioaqueo de muestras biológicas (como la venta de ADN de población Huaorani por empresas extranjeras). Este fenómeno relativamente nuevo en nuestra sociedad, pone en alerta sobre el mal uso de la información científica que, de una u otra manera ha tergiversado el hecho genético, ha incluido juicios de valor y ha llegado al máximo del absurdo al tratar de justificar investigaciones, negocios y ganancias a costa del trabajo genético serio.

Se debe considerar también que la investigación biotecnológica y de genética molecular no son las únicas causas de desastres biológicos o ecológicos como pretenden sostener los defensores de posiciones extremas. El propio desarrollo y tecnificación de las sociedades puede ocasionar mayor daño a la humanidad en comparación con el beneficio de las técnicas referidas; por ejemplo, la desaparición de especies animales y vegetales no es y no ha sido necesariamente consecuencia de la investigación básica; tómese en cuenta la presión que ejercen en su contra determinados grupos ecologistas en la actualidad. Las aplicaciones de la investigación biomédica serán bienvenidas cuando no atenten contra la evolución de las especies y estén orientadas a la utilización eficaz de la tecnología, a mejorar la calidad de vida y a asegurar el futuro de la sociedad.

En vista de que muchos de los temas que se plantean incluyen juicios de valor, el debate de las tendencias biotecnológicas debe salir del campo estricto de la ciencia, considerando que no existen "conocimientos prohibidos" y que el conocimiento científico ha sido y es el motor del adelanto de la sociedad. Sería muy difícil evaluar lo que se puede ganar o perder con un nuevo conocimiento, pero resultaría aún más difícil evaluar el precio de no tenerlo; así mismo, sería preferible normalizar los conocimientos y los productos que la sociedad tiene antes que privarla de los beneficios de su uso.

3. ACCIONES DE LA GENÉTICA EN LA SALUD PÚBLICA

La Genética Médica está orientada a identificar los principales problemas de salud en la comunidad con la finalidad de realizar acciones encaminadas a prevenir las enfermedades genéticas, prestar los servicios asistenciales y preventivos a individuos o familiares afectados o en riesgo de padecer o transmitir a su descendencia enfermedades genéticas. Puntualizando y siguiendo con los criterios de la OMS y la OPS, las actividades de la genética en la comunidad tratan de alcanzar dos objetivos:

- a) Reducir la prevalencia al nacimiento de las enfermedades genéticas y defectos congénitos.
- b) Mejorar la calidad de vida, reduciendo al mínimo el daño al individuo y a su familia.

Para alcanzar estos objetivos se recomienda: detectar las poblaciones de riesgo mediante el estudio adecuado de las genealogías de los casos índice, detectar

poblaciones de mujeres gestantes de edad avanzada, ubicar zonas geográficas y grupos étnicos predispuestos o de riesgo, implantar programas de diagnóstico prenatal y asesoramiento genético como parte de los programas generales de salud del país y como un programa nacional especial de control y prevención de las enfermedades genéticas.

Prevención primaria

- a) Desalentar las gestaciones en mujeres mayores de 40 años.
- b) Disminuir los niveles de exposición a mutágenos y teratógenos.
- c) Llevar adelante programas para el control de defectos frecuentes en las poblaciones y que disminuyen la capacidad productiva y de vida de los individuos, como son los defectos de cierre del tubo neural, dislocación congénita de cadena, entre otros.

Prevención secundaria

- a) Servicios y centros de genética que proporcionen el diagnóstico adecuado de los casos índice y de las poblaciones en riesgo.
- b) Asesoramiento genético al individuo y a la población de riesgo.
- c) Diagnóstico prenatal de las enfermedades genéticas, en especial las más frecuentes.

Prevención terciaria

- a) Educación genética a los trabajadores de la salud y a la población.
- b) Formación de recursos humanos en genética.
- c) Investigación de los principales problemas de la salud genética comunitaria en investigación genética básica.

Para esto se debe contar con un sistema de registro de alteraciones genéticas y malformaciones congénitas. Con este propósito se organizó el Registro Nacional Colaborativo de Alteraciones y Variantes Cromosómicas Humanas; resta formar un sistema nacional de registro de malformaciones congénitas y genéticas, que integre bases de datos de instituciones de salud públicas y privadas (Paz-y-Miño, 1993a).

Recientemente, en nuestro país se está fomentando e implementando un programa nacional de diagnóstico, prevención y control de enfermedades genéticas por parte del Ministerio de Salud Pública. A pesar de ello, las acciones que se han venido realizando a nivel de instituciones públicas y privadas han sido parciales, dependiendo más de los criterios personales de los genetistas, que de una Política Estatal; cabe anotar que la Sociedad Ecuatoriana de Genética Humana (SEGH) ha dado ya algunos pasos para organizar la atención de los individuos afectados de patologías genéticas con el fin de que se mantenga una estructura común. Las actividades de genética, en los diferentes centros hospitalarios o universitarios; se pueden resumir a las siguientes:

- a) Diagnóstico de casos índice.
- b) Búsqueda de antecedentes familiares.
- c) Diagnóstico y asesoramiento genético.
- d) Detección de ciertos grupos de riesgo.
- e) Detección sistemática de defectos en recién nacidos.
- f) Diagnóstico prenatal.
- g) Consulta a expuestos a mutagénicos y teratógenos.
- h) Educación continuada.
- i) Investigación clínica y ciertas investigaciones básicas.
- j) Formación de personal (especialistas en biomedicina y genética humana).

17

BIODIVERSIDAD Y BIOSEGURIDAD EN LA GENÉTICA



α [] { √ ∞ ∫ • ∫ ! *

CAPÍTULO XVII

BIODIVERSIDAD Y BIOSEGURIDAD EN GENÉTICA

A inicios de los años noventa, investigadores extranjeros determinaron, en un grupo de indios cayapas de la provincia de Esmeraldas, una característica genética de la inmunidad exclusiva de esa población (HLA) (Rickards et al., 1994). Todos nos preguntamos ¿Qué ventajas trajo esta investigación a los cayapas? ¿Sabían aquellas personas con qué fines eran investigados? ¿Hubo participación de científicos ecuatorianos en aquellas pruebas? ¿Conocían las autoridades del país que se llevaba a cabo tal investigación?

Este hecho que parece aislado, se está convirtiendo en un fenómeno frecuente en los países que, como el nuestro, están sujetos a presiones científicas, económicas, ideológicas y políticas. Tales acciones, si están fuera del respeto a los conocimientos científicos tradicionales y milenarios o son conocimientos captados para un buen rédito económico, o, peor aún, en búsqueda de especímenes biológicos o muestras de tejidos humanos, se las ha calificado acertadamente como biopiratería, biosaqueo y colonialismo científico. Antes de buscar responsabilidades en estos casos, debemos buscar mecanismos de defensa de nuestra identidad biológica, genética y en suma nacional. El propósito de este capítulo es revisar algunas de las implicaciones bioéticas, de bioprotección y biodiversidad, que tienen algunos de los comportamientos investigativos y proyectos internacionales, que de alguna manera podrían estar atentando contra algunos grupos humanos. Pero también se pretende desmitificar cuestiones genéticas y tecnológicas que han sido manejadas mal y que podrían repercutir en una posición contraria a la actividad científica seria, solidaria y en defensa de la propia humanidad.

1. BIOPROTECCIÓN Y BIODIVERSIDAD

En primer lugar es importante aclarar el significado de los términos “bioseguridad” y “bioprotección”. Es preferible hablar de bioprotección antes que de bioseguridad, debido a que la palabra “bioseguridad” está entendida como una serie de conceptos, aseveraciones y alternativas, que permitirían de alguna manera establecer un marco teórico, legal y de consenso nacional, internacional y de investigadores, para proteger o denunciar aquellos trabajos investigativos, bioprospección o biosaqueo de muestras biológicas o especímenes. En definitiva, encontrar una fórmula para asegurar los recursos genéticos y los conocimientos tradicionales o científicos que de ellos se deriven. Esta concepción de la bioseguridad conduce directamente al aspecto legal de la propiedad intelectual, de las patentes y aun el respeto a un código bioético en las investigaciones.

En el convenio sobre biodiversidad que varios países firmaron en Río de Janeiro, Brasil (1992), en la Conferencia de Naciones Unidas sobre el Ambiente y el Desarrollo, y que luego fue ratificado por el Ecuador (1993), se discutió otro documento, que es la Agenda 21, en la que se detalla las estrategias del Gobierno, necesarias para el desarrollo sustentable de los pueblos. En su fondo y forma de alguna manera estos dos documentos son instrumentos base para la bioprotección. Otro de los documentos en esta línea es la Decisión 391, aprobada en Venezuela bajo el amparo del Acuerdo de Cartagena (1996).

La segunda acepción de bioseguridad y la más utilizada, hace relación a las normas, reglamentos y acuerdos que los científicos tienen sobre la protección individual y poblacional en relación a los posibles riesgos que entrañaría el trabajo con las técnicas de Biología Molecular, Genética y Biotecnología.

Entendido así el término bioseguridad, y por la utilización que ya se le ha dado más en relación a seguridad laboral y de riesgos biológicos, sería preferible hablar de “bioprotección”, este término está más en conformidad con la primera definición que se ha intentado y no prestaría a confusiones. En este documento se utilizará por lo tanto este término: bioprotección.

Se entiende como biodiversidad la innumerable variedad de especies biológicas existentes, cada una diferenciada de la otra por su información genética, su anatomía/morfología, sus cualidades fisiológicas, bioquímicas y su rol dentro del ambiente. Pero el concepto a la luz de los nuevos conocimientos científicos puede extenderse a la variación no solo a nivel de interespecies, sino también en intraespecies, así por ejemplo: la variación genética que los seres humanos presentan y que les confiere características biológicas especiales como: etnicidad, susceptibilidad a enfermedades, resistencia a enfermedades, adaptabilidad al medio, entre otros. Es decir, el concepto puede convertirse en un asunto individual. Cada individuo por si mismo representa una unidad diversa, corroborado por el criterio científico que no existen individuos iguales. En este sentido la genética ha aportado datos valiosos.

Otro término que interesa en relación a la bioprotección y biodiversidad es el recurso genético, que en Río de Janeiro se lo definió como “Todo material de origen vegetal, animal, microbiano o de otro tipo que contenga unidades funcionales de la herencia”, se agrega que recurso genético es todo “material genético de valor real o potencial”, incluida cualquier porción del organismo que contenga unidades funcionales de la herencia, esto es ADN, ARN, cromosomas, plásmidos, fagos, en suma secuencias genéticas y epigenéticas. Aquí existe una limitación en el universo de acción de material genético, así, todo lo que sea extracto de plantas, fluidos corporales, entre otros, que no contengan material de la herencia, estarían excluidos de la definición y por lo tanto merecerían otro tratamiento.

Desde el punto de vista que nos compete, esto significaría que podría ser utilizado sin restricción o que se debería regular su utilización, explotación, bioprospección, colección y biodisponibilidad.

2. ASPECTOS TEÓRICOS DE LA BIODIVERSIDAD Y BIOPROTECCIÓN

Al inicio de este capítulo se ha conceptualizado el término bioprotección. A continuación, se tratará de algunos aspectos que se consideran importantes para aclarar la posición que la mayoría de investigadores genetistas tiene en relación a lo que serían las investigaciones compartidas, la seguridad en la investigación, la bioética y los beneficiarios.

Muchos de los criterios que se expondrán han sido discutidos en varios congresos latinoamericanos de Genética, y coinciden en su esencia con los planteamientos de la

Conferencia del Ambiente en Río de Janeiro, de la Agenda 21 de 1992 y de la Decisión 391 del Acuerdo de Cartagena. Entre los puntos destacados están:

- a) Buscar la aprobación de individuos y poblaciones para tomar sus muestras, lo que se conoce como “consentimiento informado”. Algunas dudas quedan al respecto: ¿Quién da el consentimiento, el individuo, el grupo implicado, la sociedad, el gobernante o el Estado? ¿Cómo se explicará el proyecto? ¿Los procedimientos tienen riesgos? ¿Cómo repercutirá la investigación en la comunidad?
- b) Se ha cuestionado si los investigadores tienen o no la facultad de extraer muestras biológicas de las poblaciones. En este sentido, la mayoría de investigadores pensamos que es válido el investigar con muestras biológicas, siempre y cuando las investigaciones estén encaminadas a proteger al individuo, mejorar su calidad de vida, defender su patrimonio cultural, tradicional, no atentar contra su esencia genética o biológica, y cuidar su biodiversidad.
- c) Se ha hablado de “custodios de los recursos genéticos”, con lo que se pretende que el Estado, en caso de utilizar recursos que estén en una zona privada o comunal, consulte a sus pobladores sobre sus planes de prospección o explotación de los recursos, y en el mejor de los casos se realice un contrato entre los colectores y los custodios, o el propio Estado.

En algunos casos la variabilidad genética de los seres humanos ha sido utilizada en forma poco ética, sobre todo porque los beneficios que las personas esperan de su “aporte voluntario de muestras biológicas”, está cargado a la esperanza de una mejor vida, de resolución de problemas básicos de salud, económicos y de otra índole. Pero curiosamente, mientras las poblaciones esperan esos beneficios, sus bioprospectores utilizan esas mismas limitaciones vitales para canjear, argüir, comprar, biopiratar o regatear con las poblaciones la obtención de sus preciadas muestras, sobre todo de sangre y pelo. El caso de la mujer Ngöbe (guaymí) de Panamá, tal vez es el más sonado y pone en alerta sobre las apropiaciones de recursos genéticos humanos. La personalidad de la mujer guaymí, mantenida en secreto por sus “descubridores”, denota lo complicado del manejo de esta temática. Esta mujer al parecer presenta una especial susceptibilidad genéticamente comandada a un tipo de retrovirus, similar al virus VIH del SIDA; el virus se lo conoce como linfotropical tipo II de indígenas guaymí. Este virus, en su relación con el huésped humano, produce un tipo de leucemia (cáncer sanguíneo) y por ende tiene un interés investigativo especial, ya que proporcionaría nuevas pistas en el entendimiento de los mecanismos de oncogénesis y de infección viral. Su material genético guardaría algún tipo de información valiosa desde el punto de vista de susceptibilidad a la infección por retrovirus.

El caso de los cayapas y de los guaymí nos abren interrogantes interesantes en la discusión de lo que es biodiversidad y bioprotección desde el punto de vista genético. Existen algunas cuestiones que se deben considerar al respecto, que podrían servir de guía en la bioprotección y que son el espíritu de los documentos de Río de Janeiro, Agenda 21 y Decisión 391: El reconocimiento de los derechos soberanos de los estados sobre sus recursos naturales y genéticos; los aspectos relacionados con la conservación *in situ* y *ex situ* de la especie o sus tejidos; el uso sustentable de los recursos biológicos que aseguren la supervivencia humana; el acceso a los recursos genéticos y a la tecnología relevante; el acceso a los beneficios derivados de esas tecnologías o de sus hallazgos; la seguridad o riesgo que implica la actividad con organismos modificados genéticamente; la elaboración

y adaptación de políticas globales de conservación de la diversidad biológica y de la bioprospección; la integración del concepto de diversidad biológica en las políticas sectoriales existentes; la protección de los recursos que tengan carácter de biodiversos; la legislación, evaluación y modernización de los convenios internacionales encaminados a lograr una participación equitativa; los acuerdos sobre propiedad intelectual, patentes, derechos y regalías por el uso y comercialización de los hallazgos genéticos; la educación poblacional y comunitaria para la bioprotección y la mantención de la biodiversidad; el acceso a información de primera mano e intercambio científico para el desarrollo regional; y la protección y reconocimiento de los conceptos y conocimientos tradicionales de las poblaciones.

3. FUNDAMENTOS GENÉTICOS DE LA BIODIVERSIDAD HUMANA

Uno de los problemas que más ha inquietado a la especie humana y a las llamadas “razas”, es la similitud o diferencia de su componente genético. Frecuentemente, diversos grupos poblacionales han reivindicado sus diferencias, enfrascando a la humanidad en riñas absurdas. Los argumentos biológicos vertidos en relación a las diferencias han creado confusión, más entre los no científicos que entre los científicos. El tema parece que se está aclarando.

La posibilidad de variación de la información genética humana es extremadamente amplia, no existen individuos iguales, ni aún los posibles clones humanos serían iguales; la mezcla de 23 cromosomas de origen paterno y 23 maternos durante la fecundación, asegura una variabilidad de 2×10^{23} ; más aún, la variabilidad aumenta si se considera que un solo cromosoma humano contiene veinte mil millones de bits de información, es decir, 4000 volúmenes de quinientas páginas, lo que equivaldría a unos quinientos millones de palabras; esta cifra se debe multiplicar por 46 que es el número de cromosomas humanos, con lo que la información genética del hombre es asombrosamente enorme. Pero esta aparente y gran variación de la información hereditaria no es muy real, más bien la información genética tiende a mantenerse estable en toda la especie humana y los cambios (mutaciones genéticas) se presentan en proporciones muy bajas (1×10^{-8}) y, cuando aparecen se producen enfermedades genéticas (8000 conocidas hasta la fecha). Existen pequeñas variaciones entre los seres humanos que provienen de diferencias en su material de la herencia, pero que no atentan contra la uniformidad e igualdad de la especie humana y que han ayudado a comprender algunos fenómenos humanos interesantes, como riesgos de enfermedad, resistencia, predisposición, entre otros.

¿Cómo se puede saber si somos iguales o diferentes genéticamente unos con otros? La primera cuestión es considerar lo que significa "especie", es decir, un grupo poblacional semejante en sus características biológicas, físicas, químicas, entre otros. (psíquicas en el hombre), que no presentan dificultades reproductivas al mezclarse. De lo que se conoce, ningún grupo poblacional humano ha mostrado dificultad o incompatibilidad reproductiva, significando eso, que la sustancia base de su naturaleza humana, es decir el material de la herencia (ADN), es igual para todos. El cruzamiento adecuado y efectivo de los diferentes grupos humanos significa que sus características biológicas, físicas y psíquicas son también iguales. Entonces, desde el punto de vista de la definición de especie, los humanos de aquí, de Asia, de Europa y de África somos y pertenecemos a la misma especie: *Homo sapiens sapiens*, y nadie ha logrado demostrar

lo contrario. La segunda cuestión a considerar es el concepto de "raza", o sea, un subgrupo de individuos que presentan, o mejor, que acumulan características "físicas" especiales; así, según la coloración de la piel habrán muchos grupos: blancos, negros, amarillos, rojos, etc. La Antropología moderna se encargó mal o bien de agrupar a la especie humana en caucasoides, mongoloides, negroides. Estos términos reflejan la inseguridad de la clasificación, ya no se habla de "caucásicos o blancos", ya que nadie está seguro de su pureza. Entre unos y otros seres humanos nos confundimos en uno u otro grupo, no existen grupos puros; así, en el África existe una población de individuos de piel negra que por sus características biológicas y bioquímicas se la ha clasificado dentro de los caucasoides. El término "raza" es más bien de carácter físico-biológico, pero mal usado política y socialmente, por lo que ahora se tiende a usar más bien los términos: etnogrupos, genogrupos y etnoculturas.

¿Cómo la Genética ha aportado en la comprensión de estas semejanzas y diferencias entre los etnogrupos? Los genetistas, investigando características cuantificables, han descubierto que ciertos grupos poblacionales (genogrupos) presentan en mayor o menor grado un rasgo; se podría entonces hablar de biodiversidad del genoma humano, así, los grupos sanguíneos son un buen indicador de nuestros parecidos, por ejemplo, los guaymí y los san blas, indígenas de Panamá; los Sumo de Nicaragua; los aguaruna y ticuna del Perú, que alguna vez se los consideró puros, son 100% del grupo sanguíneo O, aunque presentan otras características que los hacen mestizos, al igual que el resto de amerindios; mientras que la población europea del norte son O (47%), A (42,4%), B (8,3%) y AB (1,4%), y los alemanes 36,5, 42,5, 14,5 y 6,5% respectivamente. La población ecuatoriana, según nuestras investigaciones y otras analizadas, comprueban la variedad de grupos sanguíneos: en los indígenas la mayoría son O (95,37%), pero hay A (3,35%), B (1,05%) y AB (0,23%). El estudio de otros grupos sanguíneos como el factor RH, el MN, de otros factores hemáticos como las hemoglobinas, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, transferrina y las proteínas plasmáticas de la población ecuatoriana nos hacen parecidos a los mongoloides (amerindios) y en menor grado a los caucasoides, aunque existen concentrados negroides. En definitiva, genéticamente somos similares a la población mundial, acumulamos ciertos "marcadores genéticos", que nos dan especiales características (polimorfismos genéticos), manifestadas en un diferente riesgo de padecer ciertas enfermedades como el cáncer de piel, estómago, mama, próstata, la dislocación congénita de cadera, los pabellones auriculares pequeños (microtia), mayor riesgo a determinadas infecciones, o que podrían relacionarse con resistencia a enfermedades virales, bacteriana, micóticas, parasitarias, crónico-degenerativas, entre otros problemas (Santiana, 1947; 1953).

Con el apareamiento de las nuevas técnicas de la Genética Molecular, se ha logrado determinar que el propio ADN presenta cierta variación interindividual o interétnica en la longitud de algunas de sus porciones (genes), fenómeno llamado polimorfismo de ADN, que se presenta en más del 1% de individuos. Muchos grupos poblacionales presentan estos polimorfismos del ADN, lo que ha servido para reevaluar proximidades o lejanías poblacionales. También con las técnicas de genética molecular se ha estudiado el ADN de unos orgánulos celulares que tienen ADN, llamados mitocondrias, encontrándose también polimorfismos de su ADN, es decir, variación del tamaño de porciones específicas. Además, se han descubierto genes que presentan variación en su tamaño (número de amplificaciones de nucleótidos) y que se relacionan con enfermedades específicas como la enfermedad de Huntington.

Los polimorfismos genéticos que presentan las poblaciones son el substrato teórico para la bioprospección. El hallar genes o información genética relacionada con riesgos diferenciales para padecer enfermedades o que aclaren puntos de discusión evolutiva, son el motorpreciado de los proyectos encaminados al estudio de la similitud o diversidad genética de la información humana.

4. MITOS Y VERDADES DE LA MANIPULACIÓN GENÉTICA

El desarrollo de la Genética Molecular y la micromanipulación celular en las dos últimas décadas ha sido abrumador, tanto que los descubrimientos hechos por esta ciencia han revolucionado al mundo. Hoy en día se habla con libertad de los productos de la manipulación de genes pero, ¿Qué existe de verdad en relación a esta tecnología?

Para empezar en este complicado tema, precisemos algunos aspectos. El material genético de cada individuo es único. La información genética que los organismos poseen y que han adquirido durante millones de años de evolución es imposible recuperarla si la especie ha desaparecido, por lo que no se puede regenerar especies por almacenamiento de sus tejidos o de sus genes. Desde el punto de vista biológico no se puede mezclar células cuyo contenido genético sea diferente. De lograrlo, el nuevo individuo está determinado a morir y no podrá reproducirse. Los cruces entre especies biológicas próximas (burro y yegua = mula) son excepciones en la naturaleza, y así mismo son infértiles. Lo que si se ha logrado mezclar en experimentos, son fragmentos más o menos grandes de ADN formando ADN quimérico, o introducir genes enteros en bacterias, virus y usarlos como vehículos para producir individuos transgénicos con características nuevas, ninguno diseminado en la sociedad. De igual forma, el Instituto Craig Venter logró crear una célula bacteriana controlada por un genoma sintetizado químicamente (Gibson et al., 2010). Estas técnicas se han restringido a ciertas especies inferiores y no a los humanos, con excepción de las nuevas técnicas de terapia genética en que se ha logrado a través del conocimiento exacto de un gen humano, introducirlo en enfermos y curar su dolencia.

5. PROYECTOS PARA CONOCER LA TOTALIDAD DEL GENOMA HUMANO

El desarrollo de las técnicas de manipulación de células con fines beneficiosos para la humanidad empezó antes de 1799, cuando ya se realizaban, aunque en forma rudimentaria, embarazos por inseminación artificial. Pero las técnicas de micromanipulación celular, utilizadas científicamente y con éxito, datan de 1944, cuando se logra la primera fertilización *in vitro*; luego en 1952 se logra clonar un sapo a partir de células de renacuajo; en 1953 se conoce la estructura del ADN; luego en 1959 se logra la primera fertilización artificial; en 1970 se consigue clonar embriones de ratón; en 1979 se clona embriones de cordero, se realiza el primer análisis de ADN y se produce insulina por ingeniería genética; hasta que en 1993 se clona embriones humanos y se inicia la terapia génica.

La manipulación genética y celular ha producido logros importantes: producción de fármacos y vacunas artificiales, caracterización de genes responsables de enfermedades, producción biotecnológica de hormonas, transferencia de células fetales para la cura de enfermedades como el Parkinson, la diabetes, lesiones de médula espinal y anemias se ha

logrado también diagnóstico preciso de enfermedades genéticas, muchas aun antes de implantar embriones fecundados artificialmente. Se ha logrado detectar genes productores de cáncer (oncogenes), se conoce la acción de genes que producen “suicidio” celular, estos se los está utilizando actualmente para terapia del cáncer.

Para llegar a estos conocimientos y técnicas científicas se debió pasar por intrincados caminos como los cultivos celulares, el estudio de la ultraestructura del material de la herencia (ADN), la manipulación genética y la ingeniería genética. El complicado aparataje de la investigación subcelular, al mismo tiempo que ha provocado la "revolución genética", ha iniciado una carrera, en algunos casos inescrupulosa, en la descarnada lucha por patentar los conocimientos científicos, en especial los genéticos.

En 1988, Watson, antes galardonado con el premio Nobel, inició un insólito programa de investigación para catalogar la totalidad de los genes humanos: el Proyecto Genoma Humano, aglutinando a los investigadores en la Organización HUGO (*Human Genome Organization*). Para el inicio del programa se asignó una suma similar a los bits de información almacenados en el ADN, 3 billones de dólares; 200 millones de dólares anuales hasta el año 2003, cuando concluyó el primer borrador del proyecto. Este programa que se inició por interés científico “puro”, se ha visto empañado por intereses políticos, económicos e industriales. Para algunos personajes, una inversión tan grande debía rendir frutos, llegándose a plantear que lo que hay en juego es una llave hacia los secretos de la salud, pero también una mina de oro: las empresas que dominen dicho conocimiento tendrán garantizada una increíble rentabilidad futura, una vez que se aplique dicha información a la Medicina Genética.

6. EL NUEVO NEGOCIO DEL CAPITALISMO

Desde que se realizó el primer trasplante de células fetales de hígado a un enfermo con una deficiencia de la inmunidad (1968), y luego que se realizó la primera síntesis de ADN en un laboratorio (1970), se han preparado hormonas y fármacos, se han creado bancos de tejidos y células, y se han injertado genes. Los investigadores encuentran cada vez mayor número de aplicaciones a la tecnología de la Genética Molecular, y sus patrocinadores han puesto costos, claro está, inaccesible al común de las personas. Estos conocimientos manejados como negocio, son un peligro. Cada vez que se haga una intervención quirúrgica o se efectúe un diagnóstico que requiera el uso de conocimientos genéticos o de micromanipulación celular, habrá que pagar derechos a los propietarios. En el fondo se está jugando un "monopolio" con el cuerpo humano. Se trata de comprar genes o sus partes aun cuando no se sabe exactamente para qué sirven, con la esperanza sí, de que un día darán mucho dinero. La búsqueda del gen representa el nuevo negocio del capitalismo del siglo XXI. Los científicos se han visto atraídos para formar sus propias empresas o trabajar para las grandes multinacionales del gen. El descubrimiento de un gen se lo patenta, simplemente, porque la ubicación de un gen humano cuesta unos 50 mil dólares al año. La genética de patentes es agresiva; actúa más sobre las ventas que sobre el individuo.

El interferón, la eritropoyetina, factor VIII, la insulina, vacunas, el gen FQ, entre otros, son sustancias producidas genéticamente y comercializadas. Los propietarios de los genes han invertido cantidades gigantescas en la obtención secreta de la “medicina genética”. Una multinacional californiana invirtió 1600 millones de dólares para preparar

hormona de crecimiento. El mercado genético proporciona ventas por más de 30000 millones de dólares anuales. Los fabricantes de Intrón A (usado para tratar 16 enfermedades, incluida la leucemia) han manejado 600000 dólares para su creación. En 1980, se confirió permiso para patentar seres vivos producidos por manipulación genética: se han patentado ya microorganismos, plantas, animales y mamíferos transgénicos.

Otro grupo de científicos del gen organizó también un proyecto genético paralelo al HUGO, es el Proyecto de Diversidad del Genoma Humano (PDGH), en el que todos los grupos étnicos están incluidos: negros, indios y blancos. Para los retractores de este proyecto, su objetivo es investigar la variedad de la información genética que presentan los grupos étnicos indígenas en peligro de extinción, por lo que se haría prioritario obtener su ADN para almacenarlo, usarlo o patentarlo de ser el caso. O dicho de otra manera, preservar la diversidad genética humana a través de la inmortalización de líneas celulares o en bancos de genes.

El PGH y el PDGH lograron secuenciar la totalidad de los 23000 genes. Cuando surgió la idea del Proyecto Genoma Humano no se habló de qué genes humanos se secuenciarían. Científicos del mundo quedaron un tanto consternados al percibir que se secuenciarían los "genes de los rubios" y los descubrimientos serían patentados. Ante estos sucesos, el grupo de científicos franceses hizo su propio proyecto genoma, en el que consideraba las variaciones de los genogrupos o etnogrupos y sus polimorfismos de ADN y además, divulgaba los resultados a través de la ONU.

El nuevo negocio del capitalismo se ve justamente mermado desde inicios del 2013, año en el que el Gobierno de Estados Unidos prohibió patentar genes y sus técnicas de análisis, es por ello que ahora es posible realizar pruebas genéticas como por ejemplo los genes BRCA1 y BRCA2, en los laboratorios alrededor del mundo.

7. BIOPIRATEO Y PATENTES

Lo que ha ocurrido con el descubrimiento de genes nuevos, de los polimorfismos del ADN, de genes de predisposición a enfermedades o de resistencia a las mismas, es que grupos de investigadores con tecnologías sofisticadas están saqueando muestras biológicas de nuestras poblaciones indígenas ricas en polimorfismos del ADN, ya que se las considera codiciados laboratorios biológicos, que les proporcionan datos interesantes para sus registros, jamás devueltos para provecho local. Al no tener nuestros científicos el apoyo ni el dinero necesarios para estos trabajos, la brecha y dependencia científico-tecnológica se agranda, por lo que se hace imperioso regular e investigar nuestra biodiversidad para autobeneficio y hacer una bioprotección eficaz.

El peligro de patentar conocimientos trae terribles injusticias. En Perú existe un algodón natural de colores variados, cuya exportación significaba considerables ingresos al país, hasta que un laboratorio detectó, aisló y manipuló el gen de los colores y patentó sus semillas y "plantas genéticas". Artículos periodísticos dan cuenta de atentados contra los conocimientos tradicionales y etnoculturales a los que estamos sometidos, así el caso en Ecuador de las plantas conocidas como sangre de drago y ayahuasca, son las más próximas. El golpe de las patentes a las economías poco desarrolladas hará que cada vez más los países en vías de desarrollo se sumerjan en la oscuridad genética y biotecnológica. Al mismo tiempo, las multinacionales de los genes han puesto su mira en nuestros países.

Desorganizados, a oscuras, sin leyes de protección de nuestra biodiversidad y sin apoyo serio a la investigación, somos presa fácil para el saqueo de nuestros genes o para experimentaciones, sea en plantas con posibles substratos curativos del cáncer, del VIH o resistentes a plagas, sea en animales con características genéticas especiales como resistencia a enfermedades, sobrevida larga, bioactivos, entre otros; o en los propios seres humanos, donadores de preciosas muestras biológicas, únicas, raras, nuestras. Ante el poderío económico y ante nuestro solapado silencio, nos hemos convertido en preciados laboratorios biogenéticos, conejillos de indias.

8. BIOBOICOT

Enfrentar a los apropiadores de los genes es el reto para todos, investigador y no investigador. Debemos por un lado proteger nuestra biodiversidad, nuestra "ecogenética", y por otro lado investigar nuestros propios y fascinantes genes. Los resultados de estas investigaciones deben servirnos a nosotros y a toda la humanidad. La investigación en la biodiversidad genética de las especies, incluido el hombre, abre una nueva discusión bioética, demanda un autocontrol severo, exige inversión en investigación local para el desarrollo científico-tecnológico independiente. Solo el apoyo a la investigación nacional nos librará del saqueo biológico y de la sumisión a las patentes. Solo la investigación oportuna y seria logrará detener el bioboicot.

9. CONCIENCIA BIOPROTECTORA

Un punto importante a ser tratado en relación a los aspectos éticos de la manipulación genética es el impacto que la biotecnología tiene sobre el "tercer mundo"; y la dependencia tecnológica y aún política que este tiene por permanecer al margen de ciertas tecnologías de vanguardia. Habrá que meditar sobre la propiedad de los descubrimientos del ADN recombinante, su comercialización y el mantenimiento o no de su carácter secreto. Mientras los países "en desarrollo" no planifiquen su desarrollo tecnológico, la dependencia científica y económica hacia los "poseedores de la ciencia" será mayor. El acceso a la tecnología y a los conocimientos científicos, cuya potencialidad no entrañe riesgo de muerte, no produzca cambios en la identidad biológica e individual de la especie y garantice una vida productiva y digna, es un derecho de toda la humanidad y su utilización en beneficio de todos es un imperativo. En este punto entonces es importante plantear algunas consideraciones: el desarrollo de la tecnología molecular es un tema estrictamente científico y no debe ser confundido con los intereses comerciales. Lastimosamente, en la práctica esto no ocurre y muchos inventos, descubrimientos e investigaciones están guiados por el interés económico real o potencial, y es en ese momento en que la esencia de la investigación se altera y es sustituida por intereses foráneos al quehacer científico. La cooperación entre científicos y empresas productoras de los descubrimientos es algo reclamado reiteradamente por los gobiernos y las instituciones dedicadas a investigación; algunos científicos reclaman la práctica científica dentro de un contexto bioético, de respeto a las soberanías de los pueblos, sus tradiciones, cultura, diversidad y a la no utilización privada de conocimientos beneficiosos para toda la humanidad.

El uso indebido de la información genética en los momentos actuales ha producido fenómenos socialmente extraños y que constituyen problemas éticos

especiales, estos son la discriminación genética de: los individuos afectos, los familiares de afectos, las poblaciones de riesgo detectadas mediante pesquizaje poblacional, de enfermos crónicos e incurables, la bioprospección con fines económicos, las patentes de invenciones genéticas y las patentes de organismos vivos. Este fenómeno relativamente nuevo en nuestra sociedad, pone en alerta sobre el mal uso de la información científica que, de una u otra manera ha tergiversado el hecho genético, ha incluido juicios de valor peligrosos y ha llegado al máximo del absurdo al tratar de justificar investigaciones, negocios y ganancias a costa del trabajo genético serio.

10. NORMAS DE BIOSEGURIDAD

Una de las preocupaciones constantes de las personas que trabajan en áreas de laboratorio es la protección personal o lo que se conoce como bioseguridad. La OMS ha reglamentado el uso de los laboratorios, su diseño y seguridades, tanto para el personal, como para la maquinaria y los reactivos. Además, cada laboratorio, según su complejidad y tipo de trabajo, debe adoptar normas más o menos estrictas, según sea el caso (OMS, 2005). El laboratorio de genética, en muchas situaciones, funciona como cualquier otro laboratorio pero, se convierte en un laboratorio especial debido al tipo de muestras que se manipulan y los procedimientos que se aplican.

Las normas de bioseguridad se las puede dividir en tres tipos: 1) riesgos que entrañan los reactivos, 2) riesgos que entrañan las muestras y, 3) riesgos para el personal. Se ha llegado a este tipo de control del trabajo genético, por los potenciales riesgos que este entraña. De acuerdo a esto, se estipula diferentes niveles de trabajo investigativo y cada uno, más complejo que el anterior, demanda medidas de control de los individuos, de los reactivos y de las muestras manipuladas, con la finalidad de minimizar potenciales riesgos del trabajo biomédico.

10.1. Riesgos que entrañan los reactivos

Muchos reactivos utilizados en Genética son potencialmente tóxicos, genotóxicos o mutagénicos, por lo que su manipulación debe ser idónea, evitando el contacto directo con la piel y mucosas. El uso de pinzas, guantes, etc., es indispensable. La misma recomendación debe considerarse con los reactivos que produzcan gases o que sean volátiles. Se debe tomar en cuenta que la rotulación de los reactivos, su taponamiento y su manipulación tienen que ser cuidadosas. En relación a los agentes físicos que pueden producir efectos adversos, debe regularse su uso en relación a los requerimientos, leyes o normas nacionales e internacionales, esto es especialmente válido para el uso de sustancias que produzcan algún tipo de radiación (OMS, 2005).

10.2. Riesgos que entrañan las muestras

Las muestras que se usan en Genética deben ser bien manipuladas. Básicamente, al trabajar con cultivos de células deben guardarse las normas de asepsia y esterilización comunes. Los frascos de cultivo, pipetas y cualquier otro tipo de materiales que estarán en contacto directo con la muestra, deben ser perfectamente lavados y esterilizados. Actualmente, los frascos de cultivo para células son descartables y de plástico no tóxico; en caso de uso de material de vidrio, el lavado con jabón desionizado y luego, la corrección del pH, dan buenos resultados. Es ideal el trabajo con campanas de

bioseguridad tipo II (flujo laminar), en las que se asegura el trabajo estéril con la muestra y los medios de cultivo. La contaminación es tal vez el mayor problema del trabajo con cultivos celulares y, pese a todas las medidas de asepsia, se recomienda el uso de medios de cultivo con antibióticos y aún antimicóticos (OMS, 2005).

10.3. Riesgos para el personal

Una buena conducta con respecto al personal que labora dentro del laboratorio, es llevar una ficha médica detallada en la que se registre el tiempo de trabajo, el tipo de trabajo, los reactivos y muestras que maneja cada persona. Debe darse a este personal las facilidades y comodidades indispensables; el trabajo debe ser una actividad satisfactoria, social, psíquica y biológica. Es necesario destinar un lugar para cambio y almacenamiento de ropas y utensilios personales y sitios para reuniones, descanso y alimentación. Las muestras que llegan al laboratorio deben ser manipuladas con guantes, en el caso de ser sangre u otras secreciones corporales contaminantes; como es conocido, las muestras de sangre periférica entrañan riesgo de contagio de infecciones. Todas las medidas de bioseguridad para el personal están encaminadas a evitar accidentes, exposiciones a radiaciones, infecciones, intoxicaciones, quemaduras o envenenamientos (OMS, 2005).

Referencias en internet

Annals of Hematology (Springer)	www.springer.com
Annals of the New York Academy of Sciences	www.nyas.org
Artículo: Alzheimer en el Ecuador	www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20724907
Artículo: El VIH en el Ecuador	www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16485782
Artículo: Gen CYP1A1 en el Ecuador	www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15920291
Artículo: Genotóxicos en el Ecuador	www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22496977
Artículo: Glifosato en el Ecuador	www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21714381
Artículo: Hemocromatosis en el Ecuador	www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15517265
Artículo: Hidrocarburos en el Ecuador	www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18991910
Artículo: Pesticidas en florícola del Ecuador	www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15279831
Artículo: Variantes cromosómicas en Ecuador	www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23091347
Base de datos CATH	www.cathdb.info
Base de datos de ARNpi	www.pirnabank.ibab.ac.in
Base de datos de miARNs	www.mirbase.org
Base de datos de SNPs	www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP
Base de datos Pfam	www.pfam.sanger.ac.uk
Base de datos PyMOL	www.pymol.org
Base de datos sobre genes	www.genecards.org
Cancer Research UK	www.cancerresearchuk.org
Clasificación estructural de proteínas (SCOP)	www.scop.mrc-lmb.cam.ac.uk/scop
Estudio Latinoamericano de malformaciones	www.eclamc.org
European Bioinformatics Institute	www.embl.org
Genetics and Molecular Biology	www.gmb.org.br
Human Biology	www.digitalcommons.wayne.edu/humbiol/
Human Mutation (Wiley)	www.wiley.com
Instituto de Investigaciones Biomédicas	iib.udla.edu.ec
Instituto Nacional de Estadísticas y Censos	www.inec.gob.ec
J Craig Venter Institute	www.jcvi.org
Ministerio de Salud Pública	www.salud.gob.ec
Misión Solidaria Manuela Espejo	www.manuelaespejo.com.ec
Mutation Research (Elsevier)	www.elsevier.com
National Center for Biotechnology	www.ncbi.nlm.nih.gov
Online Mendelian Inheritance in Man	www.omim.org
Organización del Genoma Humano	www.hugo-international.org
Organización Mundial de la Salud	www.who.int/es
Proyecto del Genoma del Neardental	www.eva.mpg.de/neardental/
Proyecto del Genoma Humano	www.genome.gov/10001772
Proyecto del Varioma Humano	www.humanvariomeproject.org
Proyecto ENCODE	www.genome.gov/10005107
Proyecto Genográfico	genographic.nationalgeographic.com
Proyecto Genoma 1000	www.1000genomes.org
Proyecto HapMap	www.hapmap.org
Red Latinoamericana de Genética Humana	www.relagh.org
Reviews on Environmental Health	www.degruyter.com/view/j/reveh
Royal Swedish Academy of Sciences	www.kva.se/en/
The American Journal of Medical Sciences	www.journals.lww.com/amjmedsci
The European Molecular Biology Laboratory	www.embl.de
UCSC Genome Browser	genome.ucsc.edu
Universal protein resource	www.uniprot.org
Universidad de las Américas	www.udla.edu.ec
Wellcome Trust Sanger Institute	www.sanger.ac.uk

Nuestras publicaciones científicas

LIBROS Y ARTÍCULOS CIENTÍFICOS INTERNACIONALES DEL IIB

Cabrera-Andrade A, López-Cortés A, Muñoz MJ, Jaramillo-Koupermann G, Rodríguez O, Leone PE, Paz-y-Miño C. Association of genetic variants of membrane receptors related to recognition and induction of immune response with *Helicobacter pylori* infection in Ecuadorian individuals. *International Journal of Immunogenetics*. 2014. [In press].

De Braekeleer E, Douet-Guilbert N, Guardiola P, Rowe D, Mustjoki S, Zamecnikova A, Al Bahar S, Jaramillo G, Berthou C, Bown N, Porkka K, Ochoa C, De Braekeleer M. Acute lymphoblastic leukemia associated with RCSD1-ABL1 novel fusion gene has a distinct gene expression profile from BCR-ABL1 fusion. *Leukemia*. 2012; doi:10.1038/leu.2012.332.

De Thoisy B, Goncalves da Silva A, Ruíz García M, Tapia A, Ramírez O, Arana M, Quse V, Paz-y-Miño C, Tobler M, Pedraza C, Lavergne A. Population history, phylogeography, and conservation genetics of the last Neotropical mega-herbivore, the lowland tapir (*Tapirus terrestris*). *BMC Evolutionary Biology*. 2010;10:278.

Gaviria A, Sánchez ME, Morejón G, Vela M, Aguirre V, Burgos G, Zambrano A, Leone PE, Paz-y-Miño C. Characterization and haplotype analysis of 11 Y-STR loci in Ecuadorian population. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*. 2013. e1-e2.

González-Andrade F, López-Pulles R, Espín VH, Paz-y-Miño C. High altitude and microtia in Ecuadorian patients. *The Journal of Neonatal-Perinatal Medicine*. 2010;109–16.

Jota M, Lacerda D, Sandoval J, Vieira P, Santos-Lopes S, Bisso-Machado R, Paixao-Cortes V, Revollo S, Paz-y-Miño C, Fujita R, Salzano F, Bonatto S, Bortolini M, Santos F, Genographic Consortium. A new subhaplogroup of native American Y-chromosomes from the Andes. *American Journal of Physical Anthropology*. 2011;146:553–9.

López-Cortés A, Jaramillo-Kouperman G, Muñoz MJ, Cabrera A, Echeverría C, Rosales F, Vivar N, Paz-y-Miño C. Genetic polymorphisms in MTHFR (C677T, A1298C), MTR (A2756G) and MTRR (A66G) genes associated with pathological characteristics of prostate cancer in the Ecuadorian population. *The American Journal of the Medical Sciences*. 2013; PMID: 23459165.

Paz-y-Miño C, Carrera C, López-Cortés A, Muñoz MJ, Cumbal N, Castro B, Cabrera A, Sánchez ME. Genetic polymorphisms in apolipoprotein E (Apo E) and glutathione peroxidase 1 (GPX-1) genes in the Ecuadorian population affected with Alzheimer's disease. *The American Journal of Medical Sciences*. 2010;340:373–377.

Paz-y-Miño C, Cumbal N, Araujo S, Sánchez ME. Alterations and chromosomal variants in the Ecuadorian population. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2012; doi: 10.1155/2012/432302.

Paz-y-Miño C, Cumbal N, Sánchez ME. Genotoxicity studies performed in the Ecuadorian population. *Molecular Biotechnology*. 2012; doi: 10.1155/2012/598984.

Paz-y-Miño C, López-Cortés A, Muñoz MJ, Cabrera A, Castro B, Sánchez ME. Incidence of the L858R and G719S mutations of the epidermal growth factor receptor oncogene in an Ecuadorian population with lung cancer. *Cancer Genetics and Cytogenetics*. 2010;196:201–203.

Paz-y-Miño C, López-Cortés A, Muñoz MJ, Castro B, Cabrera A, Sánchez ME. Relationship of a hRAD54 gene polymorphism (2290 C/T) in the altitude Ecuadorian population with chronic myelogenous leukemia. *Genetics and Molecular Biology*. 2010;33:646–9.

Paz-y-Miño C, López-Cortés A. *Glifosato: Genética, Salud y Ambiente*. Imprenta Hojas y Signos. Primera edición. Quito, Ecuador. 2011.

Paz-y-Miño C, Muñoz MJ, López-Cortés A, Cabrera A, Palacios A, Castro B, Paz-y-Miño N, Sánchez ME. Frequency of polymorphisms pro198leu in GPX-1 gene and ile58thr in MnSOD gene in the altitude Ecuadorian population with bladder cancer. *Oncology Research*. 2010;18:395–400.

Paz-y-Miño C, Muñoz MJ, Maldonado A, Valladares C, Cumbal N, Herrera C, Robles P, Sánchez ME, López-Cortés A. Baseline determination in social, health, and genetic areas in communities affected by glyphosate aerial spraying in the Northeastern Ecuadorian border. *Reviews on Environmental Health*. 2011;26:45–51.

Paz-y-Miño C, Ocampo L, Sánchez ME. Manual de prácticas de Genética Molecular y Citogenética Humana. Instituto de Investigaciones Biomédicas. Universidad de las Américas. Quito, Ecuador. 2011.

Paz-y-Miño C, Sánchez ME, Araujo S, Ocampo L, Espín VH, Leone PE. Cytogenetic and molecular characterization of hematological neoplasm in an Ecuadorian population. *Open Journal of Blood Diseases*. 2013;3:108–115.

Paz-y-Miño C, Tapia A, Arévalo M, Muñoz MJ, Llumipanta W, Oleas G, Sánchez ME. Polymorphic variants of the mitochondrial cytochrome b gen (CYB) in the Ecuadorian population. *Revista Española de Antropología Física*. 2008;28:95–101.

Paz-y-Miño C. Darwin, Evolución y Biomedicina. Imprenta Hojas y Signos. Quito, Ecuador. 2009.

Paz-y-Miño C. Transgénicos: Una cuestión científica. Imprenta Hojas y Signos. Quito, Ecuador. 2013.

Quiñones LA, Lavanderos MA, Cayun JP, García-Martin E, Agúndez JA, Caceres DD, Roco AM, Morales JE, Herrera L, Encina G, Isaza C, Redal MA, Larovere LE, NW Soria, Eslava-Schmalbach J, Castañeda-Hernández G, López-Cortés A, Magno LA, López M, Chiurillo M, Rodeiro I, Castro de Guerra D, Terán E, Estévez C, Lares-Assef F. Perception of the usefulness of drug/gene pairs and barriers for pharmacogenomics in Latin America. *Current Drug Metabolism*. E-Pub ahead of print. 2014. DOI: 10.2174/1389200215666140202220753.

LIBROS Y ARTÍCULOS CIENTÍFICOS INTERNACIONALES PREVIOS AL IIB

Arnold R, Carpenter D, Kirk D, Koh D, Armour M, Cebrian M, Cifuentes L, Khwaja M, Ling B, Makaliano I, Paz-y-Miño C, Peralta G, Prasad R, Singh K, Sly P, Tohyama C, Woodward A, Zheng B, Maiden T. Meeting report: threats to human health and environmental sustainability in the pacific basin. *Environmental Health Perspectives*. 2007;115:1770–1775.

Benítez A, Paz-y-Miño C, Gallego J, Giménez A. Modificación del riesgo genético en una gran familia portadora de distrofia miotónica utilizando técnicas moleculares. *Progresos en Diagnóstico Prenatal*. 1995;7:251–6.

Benítez JC, Paz-y-Miño C, Escudero A, La Puente L, Ruiz M. Diagnóstico citogenético de pacientes con anemia de Fanconi utilizando metabolitos de ciclofosfamida como agente clastogénico. *Sangre*. 1986;31:513–28.

Leone PE, Giménez P, Collantes JC, Paz-y-Miño C. Analysis of HFE gene mutations (C282Y, H63D, and S65C) in the Ecuadorian population. *Annals of Hematology*. 2005;84:103–5.

Leone PE, Mendiola M, Alonso J, Paz-y-Miño C, Pestaña A. Implications of a RAD54L polymorphism (2290C/T) in human meningiomas as a risk factor and/or a genetic marker. *BMC Cancer*. 2003;4:3–6.

Leone PE, Pérez JC, Morillo S, Paz-y-Miño C. Low incidence of follicular lymphoma and t (14;18) (q32;q21) by polymerase chain reaction analysis: observations on Ecuadorian patients. *Cancer Genetics and Cytogenetics*. 2002;137:72–4.

Leone PE, Vega ME, Jervis P, Pestaña A, Alonso J, Paz-y-Miño C. Two new mutations and three novel polymorphisms in the RB1 gene in Ecuadorian patients. *The American Journal of Human Genetics*. 2003;48:639–41.

- Paz-y-Miño C, Dávalos MV, Sánchez ME, Arévalo M, Leone PE. Should gaps be included in chromosomal aberration analysis? Evidence based on the comet assay. *Mutation Research*. 2002;516:57–61.
- Paz-y-Miño C, Arévalo M, Leone PE. B3/A3 rearrangement in a patient with chronic myeloid leukemia. *Leukemia & Lymphoma*. 2003;44:375–6.
- Paz-y-Miño C, Arévalo M, Muñoz MJ, Leone PE. CYP1A1 genetic polymorphisms in Ecuador, South America. *Disease Markers*. 2005;21:57–9.
- Paz-y-Miño C, Arévalo M, Sánchez ME, Leone PE. Chromosome and DNA damage analysis in individuals occupationally exposed to pesticides with relation to genetic polymorphism for CYP 1A1 gene in Ecuador. *Mutation Research*. 2004;8:562:77–89.
- Paz-y-Miño C, Benítez J, Ayuso C, Sanchez A. Ring chromosome 6: clinical and cytogenetic behaviour. *The American Journal of Medical Genetics*. 1990;35:481–3.
- Paz-y-Miño C, Burgos R, Morillo S, Santos JC, Fiallo F, Leone PE. BCR-ABL rearrangement frequencies in chronic myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia in Ecuador, South America. *Cancer Genetics and Cytogenetics*. 2002;132:65-7.
- Paz-y-Miño C, Bustamante G, Dávalos V, Sánchez ME, Leone PE. Cytogenetic monitoring in a population occupationally exposed to pesticides in Ecuador. *Environmental Health Perspectives*. 2002;110:1077-80.
- Paz-y-Miño C, Fiallo F, Morillo S, Acosta A, Giménez P, Ocampo L, Leone PE. Analysis of the polymorphism [gIVS12-6T->C] in the hMSH2 gene in lymphoma and leukemia. *Leukemia & Lymphoma*. 2003;44:505–8.
- Paz-y-Miño C, Leone PE, Chavez M, Bustamante G, Córdova A, Gutiérrez S, Peñaherrera MS, Sánchez ME. Follow up study of chromosome aberrations in lymphocytes in hospital workers occupationally exposed to low levels of ionizing radiation. *Mutation Research*. 1995;335:245–51.
- Paz-y-Miño C, Leone PE. *Genética y Biología Molecular en la investigación básica y aplicada*. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Quito, Ecuador. 1999.
- Paz-y-Miño C, Leone PE. *Situación y perspectivas de desarrollo de la Genética Humana en el Ecuador*. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Quito, Ecuador. 1997.
- Paz-y-Miño C, Leone PE. Three novel somatic mutations in the NF2 tumor suppressor gene [g816T>A; g1159A->G; gIVS11-1G>T]. *Human Mutations*. 2000;15:487.
- Paz-y-Miño C, López-Cortés A, Arévalo M, Sánchez ME. Monitoring of DNA damage in exposed individuals to petroleum hydrocarbons in Ecuador. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2008;1140:121–8.
- Paz-y-Miño C, Morillo S, Celi P, Witte T, Leone PE. 2005. CCR5delta32, CCR2-64I, and SDF1-3'A polymorphisms related to resistance to HIV-1 infection and disease in the Ecuadorian population. *Human Biology*. 2005;77:521–6.
- Paz-y-Miño C, Neira M, Baldeón MA, Boada C, Durango J, Lugo P, Peñaherrera MS, Proaño K, Sánchez ME, Leone PE. Estudio genético y citogenético en individuos con retardo del crecimiento. *Endocrinología Bolivariana*. 1995;4:23–6.
- Paz-y-Miño C, Ocampo L, Narváez R, Narváez L. Chromosome fragility in lymphocytes of women cervical uterine lesions produced by human papillomavirus. *Cancer Genetics and Cytogenetics*. 1992;59:173–6.

Paz-y-Miño C, Peñaherrera MS, Sánchez ME, Córdova A, Gutiérrez S, Ocampo L, Leone PE. Comparative study of chromosome aberrations induced with aphidicolin in women affected by breast cancer and cervix uterine cancer. *Cancer Genetics and Cytogenetics*. 1997;94:120–4.

Paz-y-Miño C, Pérez C, Burgos R, Dávalos MV, Leone PE. Delta AF508 Mutation in Ecuador, South America. *Human Mutations*. 1999;14:348–50.

Paz-y-Miño C, Pérez JC, Dávalos V, Sánchez ME, Leone PE. Telomeric association in cigarette smokers exposed to low levels of X-rays. *Cancer Genetics and Cytogenetics*. 2001;490:77–80.

Paz-y-Miño C, Pérez JC, Fiallo F, Leone PE. A polymorphism in the hMSH2 gene [gIVS12-6T->C] associated with non-Hodgkin lymphomas. *Cancer Genetics and Cytogenetics*. 2002;132:1–5.

Paz-y-Miño C, Sánchez ME, del Pozo M, Baldeón MA, Córdova A, Gutiérrez S, Peñaherrera MS, Neira M, Ocampo L, Leone PE. Telomeric association in women with breast and uterine cervix cancer. *Cancer Genetics and Cytogenetics*. 1997;94:214–6.

Paz-y-Miño C, Tapia A, Arévalo M, Muñoz MJ, Llumipanta W, Oleas G, Sánchez ME. Polymorphic variants of the mitochondrial cytochrome b gene (CYB) in the Ecuadorian population. *Revista Española de Antropología Física*. 2008;28:95–101.

Paz-y-Miño C, Witte T, Robles P, Llumipanta W, Díaz M, Arévalo M. Association among polymorphisms in the steroid 5alpha-reductase type II (SRD5A2) gene, prostate cancer risk, and pathologic characteristics of prostate tumors in an Ecuadorian population. *Cancer Genetics and Cytogenetics*. 2009;189:71–7.

Paz-y-Miño C. *Genética Humana: Conceptos básicos e investigaciones en el Ecuador*. Quito, Ecuador. 1995.

Paz-y-Miño C. La Genética Médica en el Ecuador: situación y perspectivas de desarrollo. *Brazilian Journal of Genetics*. 1997;20:55–62.

Paz-y-Miño C. Medical genetics services in Latin America: Ecuador. *World Health Organization*. 1998;14–6.

Paz-y-Miño C. Riesgos genéticos y malformativos en el embarazo. Centro de Estudio de Población y Paternidad Responsable (CEPAR). Quito, Ecuador. 1987.

Paz-y-Miño, C. Genetic services in Ecuador. *Community Genetics*. 2004;7:137–141.

Referencias bibliográficas

Abreu MT, Fukata M, Arditi M. TLR signaling in the gut in health and disease. *The Journal of Immunology*. 2005;174:4453–60.

Achyut BR, Ghoshal UC, Moorchung N, Mittal B. Association of Toll-like receptor 4 (Asp299Gly and Thr399Ileu) gene polymorphisms with gastritis and precancerous lesions. *Human Immunology*. 2007;68:901–7.

Afaq F, Mukhtar H. Effects of solar radiation on cutaneous detoxification pathways. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2001;63:61–9.

Agostinho M, Arruda V, Basseres D, Bordin S, Soares M, Menezes R, Costa F, Saad S. Mutation analysis of the HFE gene in Brazilian populations. *Blood Cells Molecular Diseases*. 1999;15:324–7.

Aguirre M, Vázquez E, Barquera R, Vallejo C, Mestanza M, Zurita C. Estudio de HLA classes I e II em trinta pacientes equatorianos com artrite reumatoide em comparação com alelos de indivíduos sadios e afetados com outras doenças reumáticas. *Tissue Antigens*. 2011;79:123–9.

Aka P, Mateuca R, Buchet J-P, Thierens H, Kirsch-Volders M. Are genetic polymorphisms in OGG1, XRCC1 and XRCC3 genes predictive for the DNA strand break repair phenotype and genotoxicity in workers exposed to low dose ionising radiations? *Mutation Research*. 2004;556:169–81.

Akhtiamov MG, Kaïrakbaev MK. Incidence of esophageal cancer on the plains and in the mountainous regions of the Kazakh SSR. *Voprosy Onkologii*. 1983;29:49–53.

Aktas D, Guney I, Alikasifoglu M, Yüce K, Tuncbilek E, Ayhan A. CYP1A1 gene polymorphism and risk of epithelial ovarian neoplasm. *Gynecologic Oncology*. 2002;86:124–8.

Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. *Molecular Biology of the Cell*, Fourth Edition. *Molecular Biology*. 2002;1616.

Alfaro A, Castrejón L, Rodríguez M. Cáncer de piel, estudio epidemiológico a 10 años en derechohabientes del ISSTE en Nuevo León. *Dermatología Revista Mexicana*. 2010;54:321–5.

Algood HMS, Cover TL. Helicobacter pylori persistence: an overview of interactions between H. pylori and host immune defenses. *Clinical Microbiology Reviews*. 2006;19:597–613.

Allis D, Jenuwein T, Reinberg D. *Epigenetics*. CSHL Press. 2007.

Almeida OP, Shimokomaki CM. Apolipoprotein E4 and Alzheimer's disease in São Paulo-Brazil. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*. 1997;55:1–7.

Alves-Silva J, da Silva Santos M, Guimarães PEM, Ferreira ACS, Bandelt H-J, Pena SDJ, et al. The Ancestry of Brazilian mtDNA Lineages. *The American Journal of Human Genetics*. 2000;67:444–61.

Alzheimer's Disease International (ADI). The global voice on dementia. [Disponible en línea]: www.alz.co.uk/research/statistics. Fecha de acceso: junio del 2012.

Amiel J, Lyonnet S. Hirschsprung disease, associated syndromes, and genetics: a review. *Journal of Medical Genetics*. 2001;38:729–39.

Andres S, Schmidt H-MA, Mitchell H, Rhen M, Maeurer M, Engstrand L. Helicobacter pylori defines local immune response through interaction with dendritic cells. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. 2011;61:168–78.

Araujo S, Cañarte C, Sánchez ME, Paz-y-Miño C. Daño genético por exposición solar-ultravioleta en pescadores de la costa ecuatoriana. *Revista Ecuatoriana de Medicina Eugenio Espejo*. 2013;2:20–6.

- Arbour NC, Lorenz E, Schutte BC, Zabner J, Kline JN, Jones M, et al. TLR4 mutations are associated with endotoxin hyporesponsiveness in humans. *Nature Genetics*. 2000;25:187–91.
- Ayala F, Kiger J. *Genética Moderna*. Omega. Barcelona, España. 1984.
- Bailliet G, Rothhammer F, Carnese FR, Bravi CM, Bianchi NO. Founder mitochondrial haplotypes in Amerindian populations. *The American Journal of Human Genetics*. 1994;55:27–33.
- Baird PA, Anderson TW, Newcombe HB, Lowry RB. Genetic disorders in children and young adults: a population study. *The American Journal of Human Genetics*. 1988;42:677–93.
- Baldwin ET, Bhat TN, Gulnik S, Hosur M V, Sowder RC, Cachau RE, et al. Crystal structures of native and inhibited forms of human cathepsin D: implications for lysosomal targeting and drug design. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1993;90(14):6796–800.
- Bales KR, Dodart JC, DeMattos RB, Holtzman DM, Paul SM. Apolipoprotein E, amyloid, and Alzheimer disease. *Molecular interventions*. 2002;2:339,363–75.
- Ballesta F, Baldellou A. *Cromosopatías autosómicas*. Barcelona, España. 1971.
- Ballinger SW, Schurr TG, Torroni A, Gan YY, Hodge JA, Hassan K, et al. Southeast Asian mitochondrial DNA analysis reveals genetic continuity of ancient mongoloid migrations. *Genetics*. 1992;130:139–52.
- Banco Central del Ecuador (BCE). *Cifras económicas del Ecuador*. [Disponible en línea] URL: www.bce.fin.ec. Fecha de acceso: abril de 2009.
- Bánfai B, Jia H, Khatun J, Wood E, Risk B, Gundling WE, et al. Long noncoding RNAs are rarely translated in two human cell lines. *Genome Research*. 2012;22:1646–57.
- Baquero H, Guevara G, Giraldo M, Osorio L. Aberraciones cromosómicas en trabajadores expuestos a radiaciones ionizantes. *Revista Ciencias de la Salud*. 2004;2:8–14.
- Baraitser M, Winter R. *Clinical Genetics*. Wolfe Medical Publications Ltd. Londres, Inglaterra. 1983.
- Barreiro LB, Neyrolles O, Babb CL, Tailleux L, Quach H, McElreavey K, et al. Promoter variation in the DC-SIGN-encoding gene CD209 is associated with tuberculosis. *Plos Medicine*. 2006;3:230–5.
- Bartch M, Knutsen T, Spurbeck J. *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. Tercera edición. Lippincott-Raven. 1997.
- Bartolomé S, Bermúdez A, Daban J. Electrophoresis of chromatin on nondenaturing agarose gels containing Mg²⁺. Self-assembly of small chromatin fragments and folding of the 30-nm fiber. *The Journal of Biological Chemistry*. 1995;270:22514–21.
- Barton JC, Sawada-Hirai R, Rothenberg BE, Acton RT. Two novel missense mutations of the HFE gene (I105T and G93R) and identification of the S65C mutation in Alabama hemochromatosis probands. *Blood Cells Molecules Diseases*. 1999;25:147–55.
- Bayo N. Reacción celular ante la radiación. *Radiobiología 1*. 2001;9–11.
- Bellé R, Le Bouffant R, Morales J, Cosson B, Cormier P, Mulner-Lorillon O. Sea urchin embryo, DNA-damaged cell cycle checkpoint and the mechanisms initiating cancer development. *Journal de la Societe de Biologie*. 2007;3:317–27.
- Benachour N, Séralini G-E. Glyphosate formulations induce apoptosis and necrosis in human umbilical, embryonic, and placental cells. *Chemical Research in Toxicology*. 2009;22:97–105.
- Berg J, Tymoczko J, Stryer L. *Biochemistry*. Quinta edición. New York: W H Freeman. 2002.

- Berger EA, Murphy PM, Farber JM. Chemokine receptors as HIV-1 coreceptors: roles in viral entry, tropism, and disease. *Annual Review of Immunology*. 1999;17:657–700.
- Bernstein J. ¿Qué argumentos teóricos llevan a predecir la existencia de una partícula subatómica? *American Scientist Magazine*. 2011.
- Berrington A, Darby S, Weiss H, Doll R. 100 years of observation on British radiologist: mortality from cancer and other causes. *British Journal of Radiology*. 2001;74:509–19.
- Bianchi N, Bailliet G. Further comments on the characterization of founder Amerindian mitochondrial haplotypes. *The American Journal of Human Genetics*. 1997;61:244–6.
- Biffi G, Tannahill D, McCaffert J, Balasubramanian S. Quantitative visualization of DNA G-quadruplex structures in human cells. *Nature Chemistry*. 2013;5:182–6.
- Bird T. Alzheimer Disease Overview. *Lifelong Learning*. 2010;6:86–8.
- Bird TD. Genetic aspects of Alzheimer disease. *Genetics in Medicine*. 2008.
- Blot WJ, Brinton LA, Fraumeni JF, Stone BJ. Cancer mortality in U.S. counties with petroleum industries. *Science*. 1977;198:51–3.
- Bochud P-Y, Hawn TR, Aderem A. Cutting edge: a Toll-like receptor 2 polymorphism that is associated with lepromatous leprosy is unable to mediate mycobacterial signaling. *The Journal of Immunology*. 2003;170:3451–4.
- Bodger K, Crabtree J. *Helicobacter pylori* and gastric inflammation. *British Medical Bulletin*. 1998;54:139–50.
- Boffetta P, Jourenkova N, Gustavsson P. Cancer risk from occupational and environmental exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Cancer Causes Control CCC*. 1997;8:444–72.
- Bohne J, Cathomen T. Genotoxicity in gene therapy: an account of vector integration and designer nucleases. *Current Opinion In Molecular Therapeutics*. 2008;10:214–23.
- Borgaonkar D. Ethical issues in Medical Genetics. *Delaware Medical Journal*. 1987;59:217–20.
- Borgstahl GE, Parge HE, Hickey MJ, Johnson MJ, Boissinot M, Hallewell RA, et al. Human mitochondrial manganese superoxide dismutase polymorphic variant Ile58Thr reduces activity by destabilizing the tetrameric interface. *Biochemistry*. 1996;35:4287–97.
- Borrego S, Sáez ME, Ruiz a, Gimm O, López-Alonso M, Antiñolo G, et al. Specific polymorphisms in the RET proto-oncogene are over-represented in patients with Hirschsprung disease and may represent loci modifying phenotypic expression. *Journal of Medical Genetics*. 1999;36:771–4.
- Bradley P, Misura KMS, Baker D. Toward high-resolution de novo structure prediction for small proteins. *Science*. 2005;309:1868–71.
- Brambilla A, Villa C, Rizzardi G, Veglia F, Ghezzi S, Lazzarin A, et al. Shorter survival of SDF1-3'A/3'A homozygotes linked to CD4+ T cell decrease in advanced human immunodeficiency virus type 1 infection. *The Journal of Infectious Diseases*. 2000;182:311–5.
- Broder C, Collman R. Chemokine receptors and HIV. *Journal of Leukocyte Biology*. 1996;1:20–9.
- Brookmeyer R, Gray S, Kawas C. Projections of Alzheimer's disease in the United States and the public health impact of delaying disease onset. *American Journal of Public Health*. 1998;88:1337–42.
- Brown T. *Genomes*. Segunda edición. Oxford: Wiley-Liss. 2002.

- Browne SE, Beal MF. Oxidative damage in Huntington's disease pathogenesis. *Antioxidants Redox Signaling*. 2006;8:2061–73.
- Brutsaert TD. Limits on inferring genetic adaptation to high altitude in Himalayan and Andean populations. *High Altitude Medicine & Biology*. 2001;2:211–25.
- Bufill E, Bartés A, Moral A. Factores genéticos y ambientales que pueden influir en la forma senil de la enfermedad de Alzheimer: estudio de casos y controles anidado. *Neurología*. 2009;42:108–12.
- Burton D, Butler M, Hyde J, Phillips D, Skidmore C, Walker I. The interaction of core histones with DNA: equilibrium binding studies. *Nucleic Acids Research*. 1978;5:3643–63.
- Busby A, Abramsky L, Dolk H, Armstrong B, Addor M-C, Anneren G, et al. Preventing neural tube defects in Europe: a missed opportunity. *Reproductive toxicology Elmsford NY*. 2005;20:393–402.
- Cabrera A, Castro B, López-Cortés A, Muñoz MJ, Leone PE, Tamariz M, Rodríguez O, Paz-y-Miño C. Asociación de variantes genéticas en receptores de membrana relacionados con respuesta inmunitaria e infección por *Helicobacter pylori* en individuos ecuatorianos. *Revista Metro Ciencia*. 2013;21:43–49.
- Cabrera A, Tobar W, Vega F, Villacís P. Prevalencia de *Helicobacter pylori* en pediatría y su relación con las condiciones socioeconómicas. *Revista Ecuatoriana de Pediatría*. 2002;8–11.
- Cadet J, Sage E, Douki T. Ultraviolet radiation-mediated damage to cellular DNA. *Mutation Research*. 2005;571:3–17.
- Caldecott KW, McKeown CK, Tucker JD, Ljungquist S, Thompson LH. An interaction between the mammalian DNA repair protein XRCC1 and DNA ligase III. *Molecular and Cellular Biology*. 1994;14:68–76.
- Campbell D, Cox D, Crum J, Foster K, Christie P, Brewster D. Initial effects of the grounding of the tanker Braer on health in Shetland. The Shetland Health Study Group. *BMJ British Medical Journal*. 1993;307:1251–5.
- Cañarte C, Salum G, Piacentini R. Índice UV para ciertos lugares geográficos de Latinoamérica. Congreso de RADLA. Buenos Aires, Argentina. 2005.
- Cañarte C. Fotodermatosis y fotocarcinogénesis en pescadores de la costa del Pacífico. Datos de la Fundación Ecuatoriana de la Psoriasis. Quito, Ecuador. 2008a.
- Canedo P, Corso G, Pereira F, Lunet N, Suriano G, Figueiredo C, Pedrazzani C, Moreira H, Barros H, Carneiro F, Seruca R, Roviello F, Machado JC. The interferon gamma receptor 1 (IFNGR1) -56C/T gene polymorphism is associated with increased risk of early gastric carcinoma. *Gut*. 2008;57:1504–8.
- Carballo M, Folle G, Martínez-López W. Genética Toxicológica. Inestabilidad cromosómica. Buenos Aires, Argentina. 2006;245–69.
- Carlomagno F, De Vita G, Berlingieri MT, De Franciscis V, Melillo RM, Colantuoni V, et al. Molecular heterogeneity of RET loss of function in Hirschsprung's disease. *The European Molecular Biology Organization Journal*. 1996;15:2717–25.
- Carnaud C, Lee D, Donnars O, Park SH, Beavis A, Koezuka Y, et al. Cutting edge: Cross-talk between cells of the innate immune system: NKT cells rapidly activate NK cells. *The Journal of Immunology*. 1999;163:4647–50.
- Carrano V. Chromosome aberrations and radiation-induced cell death. I. Transmission and survival parameters of aberrations. *Mutation Research*. 1973;3:341–53.
- Casado A, Encarnación López-Fernández M, Concepción Casado M, De La Torre R. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in vascular and Alzheimer dementias. *Neurochemical Research*. 2008;33:450–8.

- Caspersson T, Zech L, Johansson C. Analysis of human metaphase chromosome set by aid of DNA-binding fluorescent agents. *Experimental Cell Research*. 1999;253:302–4.
- Castilla EE, Orioli IM. Prevalence rates of microtia in South America. *International Journal of Epidemiology*. 1986;15:364–8.
- Castro LDP, Coelho LG. *Helicobacter pylori* in South America. *Canadian journal of gastroenterology Journal canadien de gastroenterologie*. 1998;12:509–12.
- Chakravarti A, Lyonnet S. *Hirschsprung disease. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. Editorial McGraw-Hill Companies. 2002.
- Chang J, Liu T, Lin S. Rapid diagnosis of the HLA-H gene Cys282Tyr mutation in hemochromatosis by polymerase chain reaction—a very rare mutation in the Chinese population. *Blood*. 1997;89:3492–3.
- Charos AE, Reed BD, Raha D, Szekely AM, Weissman SM, Snyder M. A highly integrated and complex PPAR γ C1A transcription factor binding network in HepG2 cells. *Genome Research*. 2012;22:1668–79.
- Chávez E, Sarmiento F, López M, Kakarieka E, Vial M, Gotteland M. Niveles de interleuquina-8 en biopsias gástricas de niños colonizados por *Helicobacter pylori*. *Revista Médica de Chile*. 1998;126:139–43.
- Cheng C, Alexander R, Min R, Leng J, Yip KY, Rozowsky J, et al. Understanding transcriptional regulation by integrative analysis of transcription factor binding data. *Genome Research*. 2012;22:1658–67.
- Cheong JY, Cho SW, Chung SG, Lee JA, Yeo M, Wang HJ, et al. Genetic polymorphism of interferon-gamma, interferon-gamma receptor, and interferon regulatory factor-1 genes in patients with hepatitis B virus infection. *Biochemical Genetics*. 2006;44:246–55.
- Chevallier N, Vizzavona J, Marambaud P, Baur CP, Spillantini M, Fulcrand P, et al. Cathepsin D displays in vitro beta-secretase-like specificity. *Brain Research*. 1997;750:11–9.
- Chistyakov D, Savostanov K, Zotova E, Nosikov V. Polymorphisms at the SOD2 and SOD3 genes and their relation to diabetic neuropathy in type 1 diabetes mellitus. *BMC Medical Genetics* 2001;2–4.
- Church S, Grant J, Meese E, Trent J. Sublocalization of the gene encoding manganese superoxide dismutase (MnSOD/SOD2) to 6q25 by fluorescence in situ hybridization and somatic cell hybrid mapping. *Genomics*. 1992;14:823–5.
- Cisneros E, Pupo J, Céspedes E. Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: III Glutación peroxidasa. *Revista Cubana de Investigación Biomédica*. 1997;16:10–5.
- Clapp R, Howe G, Mizrahi S. La extracción de petróleo y los impactos humanos a la salud en la concesión de Texaco en Ecuador. Una revisión bibliográfica. Ecuador. 2006.
- Clochard J, Schaefer C. The evolution of radiological risk management: an overview. *Journal of Radiological Protection*. 2000;20:101–110.
- Comisión Internacional para la Protección Contra Mutágenos y Carcinógenos Ambientales (ICPEMC). 2005.
- Consejo de Desarrollo de las Nacionalidades y Pueblos del Ecuador (CODENPE). [Disponible en línea] URL: www.codenpe.gob.ec. Fecha de acceso: 5 de mayo de 2013.
- Cook P, Brazell I. Conformational constraints in nuclear DNA. *Journal of Cell Science*. 1976;22:287–302.

- Cordeiro-Silva M, Barbosa A, Santiago M, Provetti M, Rabbi-Bortolini E. Prevalence of 35delG/GJB2 and del (GJB6-D13S1830) mutations in patients with non-syndromic deafness from a population of Espírito Santo-Brazil. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*. 2010;76:428–32.
- Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Small GW, et al. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science*. 1993;261:921–3.
- Cordero L. Anomalías Congénitas. Departamento de Patología. Facultad de Medicina. Universidad de Cuenca. Cuenca, Ecuador. 1975.
- Cowell IG, Dixon KH, Pemble SE, Ketterer B, Taylor JB. The structure of the human glutathione S-transferase pi gene. *The Biochemical Journal*. 1988;255:79–83.
- Crum JE. Peak expiratory flow rate in schoolchildren living close to Braer oil spill Effect of medical audit on prescription of palliative radiotherapy. *British Molecular Journal*. 1993;56:23–4.
- Cullen LM, Gao X, Eastal S, Jazwinska EC. The hemochromatosis 845 G-->A and 187 C-->G mutations: prevalence in non-Caucasian populations. *The American Journal of Human Genetics*. 1998;62:1403–7.
- Cuneo MJ, London RE. Oxidation state of the XRCC1 N-terminal domain regulates DNA polymerase β binding affinity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2010;107:6805–10.
- Da Rocha S, Ferguson-Smith A. Genomic imprinting. *Current Biology*. 2004;14:646–9.
- Daban J, Bermúdez A. Interdigitated solenoid model for compact chromatin fibers. *Biochemistry*. 1998;37:4299–304.
- De Angelis F, Garzoli A, Battistini A, Iorio A, De Stefano GF. Genetic response to an environmental pathogenic agent: HLA-DQ and onchocerciasis in northwestern Ecuador. *Tissue Antigens*. 2012;79:123–9.
- De Gruijl FR. Photocarcinogenesis: UVA vs UVB. *Methods in Enzymology*. 2000;319:359–66.
- Dean M, Carrington M, Winkler C, Huttley GA, Smith MW, Allikmets R, et al. Genetic Restriction of HIV-1 Infection and Progression to AIDS by a Deletion Allele of the CKR5 Structural Gene. *Science*. 1996;273:1856–62.
- Debets-Ossenkopp YJ, Reyes G, Mulder J, Aan De Stegge BM, Peters JTAM, Savelkoul PHM, et al. Characteristics of clinical *Helicobacter pylori* strains from Ecuador. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2003;51:141–5.
- Degtyarenko KN, Kulikova TA. Evolution of bioinorganic motifs in P450-containing systems. *Biochemical Society Transactions*. 2001;29:139–47.
- Del Castillo FJ, Rodríguez-Ballesteros M, Alvarez A, Hutchin T, Leonardi E, de Oliveira C a, et al. A novel deletion involving the connexin-30 gene, del(GJB6-d13s1854), found in trans with mutations in the GJB2 gene (connexin-26) in subjects with DFNB1 non-syndromic hearing impairment. *Journal of Medical Genetics*. 2005;42(7):588–94.
- Del Castillo I, Villamar M, Moreno-Pelayo MA, Del Castillo FJ, Alvarez A, Tellería D, et al. A deletion involving the connexin 30 gene in nonsyndromic hearing impairment. *The New England Journal of Medicine*. 2002;346:243–9.
- Delgado A, Galán E, Lapunzina P, Guillén-Navarro E, Penchaszadeh V, Romeo C, Emaldi, A. Asesoramiento genético en la práctica médica. Editorial Médica Panamericana. Madrid, España. 2012.

- Dexeus S, Carrera J, Alegre M, Salvador C, Solé M. El riesgo de nacer. El desafío del diagnóstico prenatal. Editorial Labor. Barcelona, España. 1989.
- Dianov GL, Prasad R, Wilson SH, Bohr VA. Role of DNA polymerase beta in the excision step of long patch mammalian base excision repair. *The Journal of Biological Chemistry*. 1999;274:13741–3.
- Díaz-Valecillos M, Fernández J, Rojas A, Valecillos J, Cañizales J. Alteraciones cromosómicas en trabajadores expuestos a radiaciones ionizantes. *Investigación Clínica*. 2004;45:3.
- Dinehart SK, Smith LM, McMurry ST, Anderson TA, Smith PN, Haukos DA. Toxicity of a glufosinate- and several glyphosate-based herbicides to juvenile amphibians from the Southern High Plains, USA. *Science of the Total Environment*. 2009;407:1065–71.
- Dipierrri JE, Alfaro E, Martínez-Marignac VL, Bailliet G, Bravi CM, Cejas S, et al. Paternal directional mating in two Amerindian subpopulations located at different altitudes in northwestern Argentina. *Human Biology an International Record of Research*. 1998;70:1001–10.
- Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P. Histological classification of gastritis and *Helicobacter pylori* infection: an agreement at last? *The International Workshop on the Histopathology of Gastritis. Helicobacter*. 1997;S17–S24.
- Djebali S, Davis CA, Merkel A, Dobin A, Lassmann T, Mortazavi A, et al. Landscape of transcription in human cells. *Nature*. 2012;489:101–8.
- Dodel R, Du Y, Depboylu C, Kurz A, Eastwood B, Farlow M, Oertel WH, Muller U, Riemenschneider M. A polymorphism in the cystatin C promoter region is not associated with an increased risk of AD. *Neurology*. 2002;58:664.
- Dorsett Y, Tuschl T. siRNAs: applications in functional genomics and potential as therapeutics. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2004;3:318–29.
- Dufloth RM, Costa S, Schmitt F, Zeferino LC. DNA repair gene polymorphisms and susceptibility to familial breast cancer in a group of patients from Campinas, Brazil. *Genetics and molecular research GMR*. 2005;4:771–82.
- Duke SO, Powles SB. Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. *Pest Management Science*. 2008;64:319–25.
- Dunham I, Kundaje A, Aldred SF, Collins PJ, Davis CA, Doyle F, et al. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature*. 2012;489:57–74.
- Egozcue J. *Genética Médica*. Barcelona, España. 1978.
- El-Omar EM, Ng MT, Hold GL. Polymorphisms in Toll-like receptor genes and risk of cancer. *Oncogene*. 2008;27:244–52.
- El-Omar EM, Rabkin CS, Gammon MD, Vaughan TL, Risch HA, Schoenberg JB, et al. Increased risk of noncardia gastric cancer associated with proinflammatory cytokine gene polymorphisms. *Gastroenterology*. 2003;124:1193–201.
- Emison E, McCallion A, Kashuk C, Bush R, Grice E, Lin S. A common sex-dependent mutation in a RET enhancer underlies Hirschsprung disease risk. *Nature*. 2005;434.
- Epstein P, Selber J. A life cycle analysis of its health and environmental impacts. The Center for Health and the Global Environment. Boston, USA. [Disponible en línea] URL: <http://chge.med.harvard.edu/publications/documents/oilfullreport.pdf>. 2002.
- Eriksson M, Hardell L, Carlberg M, Akerman M. Pesticide exposure as risk factor for non-Hodgkin lymphoma including histopathological subgroup analysis. *International Journal of Cancer*. 2008;123:1657–63.

- Ernst PB, Gold BD. The disease spectrum of *Helicobacter pylori*: the immunopathogenesis of gastroduodenal ulcer and gastric cancer. *Annual Review of Microbiology*. 2000;54:615–40.
- Ersoy, N. Molecular genetics of Huntington's disease: When size does matter. *Journal of Cell and Molecular Biology*. 2007;6:1–8.
- Estivill X, Bancells C, Ramos C. Geographic distribution and regional origin of 272 cystic fibrosis mutations in European populations. The Biomed CF Mutation Analysis Consortium. *Human Mutation*. 1997;10:135–54.
- Estudio Colaborativo Latino Americano de Malformaciones Congénitas (ECLAMC). Publicaciones científicas de ECLAMC en Pubmed [Disponible en línea] URL: www.eclamc.org. Fecha de acceso: 20 de septiembre de 2013.
- Everall JD, Dowd PM. Influence of environmental factors excluding ultra violet radiation on the incidence of skin cancer. *Bulletin du Cancer*. 1978;65:241–7.
- Farpón R, Bañales J. Hipoacusias hereditarias: asesoramiento genético. *Acta de Otorrinolaringología Española*. 2011;277:1–12.
- Farrer LA, Cupples LA, Haines JL, Hyman B, Kukull WA, Mayeux R, et al. Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease: A Meta-analysis. October. 1997;278:1349–56.
- Feder JN, Gnirke A, Thomas W, Tsuchihashi Z, Ruddy DA, Basava A, et al. A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nature Genetics*. 1996;13:399–408.
- Feinberg H, Castelli R, Drickamer K, Seeberger PH, Weis WI. Multiple modes of binding enhance the affinity of DC-SIGN for high mannose N-linked glycans found on viral glycoproteins. *The Journal of Biological Chemistry*. 2007;282:4202–9.
- Feinberg H, Mitchell DA, Drickamer K, Weis WI. Structural basis for selective recognition of oligosaccharides by DC-SIGN and DC-SIGNR. *Science*. 2001;294:2163–6.
- Fernández R. Identificación y caracterización molecular de nuevos loci de susceptibilidad para la enfermedad de Hirschsprung y el cáncer medular de tiroides. Universidad de Sevilla. 2004;20–4.
- Ferri C, Sousa R, Albasese E. World Alzheimer report 2009-executive summary. *Alzheimer's disease international*. Editorial Pince M Jackson J. 2009;1–22.
- Fire A, Xu S, Montgomery MK, Kostas SA, Driver SE, Mello CC. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*. 1998;391:806–11.
- Fitze G, Appelt H, König IR, Görgens H, Stein U, Walther W, et al. Functional haplotypes of the RET proto-oncogene promoter are associated with Hirschsprung disease (HSCR). *Human Molecular Genetics*. 2003;12:3207–14.
- Fitze G, Schreiber M, Kuhlisch E, Schackert H, Roesner D. Association of RET Protooncogene codon 45 polymorphism with Hirschsprung disease. *The American Journal of Human Genetics*. 1999;65:1469–73.
- Fontdevila A. El mantenimiento de la variabilidad genética de las poblaciones. *Investigación y Ciencia (Scientific American)*. 1978;20:94–103.
- Frucht DM, Fukao T, Bogdan C, Schindler H, O'Shea JJ, Koyasu S. IFN-gamma production by antigen-presenting cells: mechanisms emerge. *Trends in Immunology*. 2001;22:556–60.
- Fujimoto A, Totoki Y, Abe T, Boroevich KA, Hosoda F, Nguyen HH, et al. Whole-genome sequencing of liver cancers identifies etiological influences on mutation patterns and recurrent mutations in chromatin regulators. *Nature genetics*. 2012;44:760–4.

- Fukata M, Abreu MT. Role of Toll-like receptors in gastrointestinal malignancies. *Oncogene*. 2008;27:234–43.
- Galecki P, Smigielski J, Florkowski A, Bobińska K, Pietras T, Szemraj J. Analysis of two polymorphisms of the manganese superoxide dismutase gene (Ile-58Thr and Ala-9Val) in patients with recurrent depressive disorder. *Psychiatry Research*. 2010;179:43–6.
- Gamboa R, Hernandez-Pacheco G, Hesiquio R, Zuñiga J, Massó F, Montaña LF, et al. Apolipoprotein E polymorphism in the Indian and Mestizo populations of Mexico. *Human Biology an International Record of Research*. 2000;72:975–81.
- Garaj-Vrhovac V, Zeljezic D. Comet assay in the assessment of the human genome damage induced by γ -radiation in vitro. *Radiology and Oncology*. 2004;1:43–7.
- García-Ruíz P, Echeverría A, García A. Nuevas opciones terapéuticas en la enfermedad de Alzheimer. *Revista de Neurología*. 2006;42:478–81.
- Gay NJ, Gangloff M. Structure and function of Toll receptors and their ligands. *Annual Review of Biochemistry*. 2007;76:141–65.
- Geijtenbeek T, Engering A, Van Kooyk Y. DC-SIGN, a C-type lectin on dendritic cells that unveils many aspects of dendritic cell biology. *Journal of Leukocyte Biology*. 2002;71:921–31.
- GeneCards. The human gene compendium. [Disponible en línea] URL: www.genecards.org. 2014.
- Gérin M, Siemiatycki J, Désy M, Krewski D. Associations between several sites of cancer and occupational exposure to benzene, toluene, xylene, and styrene: results of a case-control study in Montreal. *American Journal of Industrial Medicine*. 1998;34:144–56.
- Gerstein M, Kundaje A, Hariharan M, Landt S, Yan K-K, Cheng C, et al. Architecture of the human regulatory network derived from ENCODE data. *Nature*. 2012;489:91–9100.
- Gervais F, Singaraja R, Xanthoudakis S, Gutekunst C, Leavitt B, Metzler M, Hackam A, Tam J, Vaillancourt J, Houtzager V, Rasper D, Roy S, Hayden M, Nicholson D. Recruitment and activation of caspase-8 by the Huntingtin-interacting protein Hip-1 and a novel partner Hippi. *Nature Cell Biology*. 2002;4:95–105.
- Ghildiyal M, Seitz H, Horwich MD, Li C, Du T, Lee S, et al. Endogenous siRNAs derived from transposons and mRNAs in *Drosophila* somatic cells. *Science*. 2008;320:1077–81.
- Gibson DG, Glass JI, Lartigue C, Noskov VN, Chuang R-Y, Algire MA, et al. Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome. *Science*. 2010;329:52–6.
- Goihman-Yahr M. Skin aging and photoaging: an outlook. *Clinical Dermatology*. 1996;14:153–60.
- Golberg P. Procedimiento de la búsqueda de donantes histocompatibles emparentados para trasplantes renales en pacientes de la población de Sao Paulo, Brazil. 1999.
- Goldstein D, Bendit J. An epidemiological study of an oil mist exposure. *Archives of Environmental Health*. 1970;21:600–3.
- Gómez N, Salvador A, Vargas P, Zapatier J, Álvarez J. Seroprevalencia de *Helicobacter pylori* en la población infantil Ecuatoriana. *Revista de Gastroenterología de Perú*. 2004;24:230–3.
- González-Púmariega M, Tamayo V, Sánchez-Lamar A. Ultraviolet radiation and its incidence in the human health. *Theoria*. 2009;18:69–80.
- Goode EL, Ulrich CM, Potter JD. Polymorphisms in DNA repair genes and associations with cancer risk. *Cancer epidemiology biomarkers prevention a publication of the American Association for Cancer Research cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2002;11:1513–30.

- Goodfellow P. Imprinting and the very young. *Current Biology*. 1991;1:11–2.
- Gottlieb MS, Shear CL, Seale DB. Lung cancer mortality and residential proximity to industry. *Environmental Health Perspectives*. 1982;45:157–64.
- Granadillo V, Tahan J, Barrios L, Marcano L. Niveles de mercurio, plomo y vanadio en el cerebro, riñones, hígado y pulmones de fetos anencefálicos en la costa oriental del lago de Maracaibo. *Trace Elements and Electrolysis*. 1998.
- Greenpeace. Efectos del petróleo sobre la salud. [Disponible en línea] URL: <http://www.greenpeace.es/gp2/informes/petro-salud.pdf>. Madrid, España. 2003.
- Grifa A, Wagner C, D'Ambrosio L, Melchionda S, Bernardi F, Lopez-Bigas N, Rabionet R, Arbones M, Monica M, Estivill X, Zelante L, Lang F, Gasparini P. Mutations in GJB6 cause nonsyndromic autosomal dominant deafness at DFNA3 locus. *Nature Genetics*. 1999;23:16–8.
- Gudesblatt M, Tarsy D. Huntington's disease: A clinical review. *Neurology Reviews*. 2011. S1.
- Güerci A, Grillo C. Evaluación del efecto genotóxico por exposición crónica a dosis bajas de radiación ionizante a través de un modelo *in vitro*. *Radiobiología*. 2007;7:166–73.
- Güerci A, Zuñiga L, Marcos R. El valor predictivo del ensayo cometa en la evaluación de la radiosensibilidad individual en sangre periférica. *Theoria*. 2006;15:41–52.
- Guevara MJ, López-Cortés A, Jaramillo-Kouperman G, Cabrera A, Rodríguez C, Franco D, Galindo G, Saltos F, Velasteguí A, Vargas P, Leone P, Paz-y-Miño C. Polimorfismos genéticos del proto-oncogén RET asociados con la enfermedad de Hirschsprung en niños ecuatorianos. *Revista Médica Vozandes*. 2012;23:97–104.
- Hall IM, Shankaranarayana GD, Noma K-I, Ayoub N, Cohen A, Grewal SIS. Establishment and maintenance of a heterochromatin domain. *Science*. 2002;297:2232–7.
- Hall J. Genomic imprinting: review and relevance to human diseases. *The American Journal of Human Genetics*. 1990;46:857–73.
- Hamanishi T, Furuta H, Kato H. Functional variants in the glutathione peroxidase-1 (GPX-1) gene are associated with increased intima-media thickness of carotid arteries and risk of macromolecular disease in Japanese type 2 diabetic patients. *Diabetes*. 2004;53:2455–60.
- Hamazaki H. Cathepsin D is involved in the clearance of Alzheimer's beta-amyloid protein. *FEBS Letters*. 1996;396:139–42.
- Hanaoka M, Kubo K, Yamazaki Y, Miyahara T, Matsuzawa Y, Kobayashi T, et al. Association of high-altitude pulmonary edema with the major histocompatibility complex. *Circulation*. 1998;97:1124–8.
- Hannon GJ, Rossi JJ. Unlocking the potential of the human genome with RNA interference. *Nature*. 2004;431:371–8.
- Hanson EH, Imperatore G, Burke W. HFE gene and hereditary hemochromatosis: a HuGE review. *Human Genome Epidemiology. American Journal of Epidemiology*. 2001;154:193–206.
- Haricharan RN, Georgeson KE. Hirschsprung disease. *Seminars in pediatric surgery*. 2008;17:266–75.
- Harris DP, Haynes L, Sayles PC, Duso DK, Eaton SM, Lepak NM, et al. Reciprocal regulation of polarized cytokine production by effector B and T cells. *Nature Immunology*. 2000;1:475–82.
- Harris H, Watkins JF. Hybrid cells derived from mouse and man: artificial heterokaryons of mammalian cells from different species. *Nature*. 1965;205:640–6.

- Harvey JS, Lyons BP, Page TS, Stewart C, Parry JM. An assessment of the genotoxic impact of the Sea Empress oil spill by the measurement of DNA adduct levels in selected invertebrate and vertebrate species. *Mutation Research*. 1999;441:103–14.
- Hayes JD, Flanagan JU, Jowsey IR. Glutathione transferases. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 2001;45:51–88.
- Hayes RB, Songnian Y, Dosemeci M, Linet M. Re: Benzene and lymphohematopoietic malignancies in humans. *American Journal of Industrial Medicine*. 2001;117–26.
- Helisalmi S. Molecular genetics of Alzheimer's disease. With special emphasis on presenilin, amyloid beta precursor protein and apolipoprotein E genes. Series of reports Kuopio University Hospital. Kuopio University Hospital. 1998;44.
- Henkler F, Luch A. Adverse health effects of environmental chemical agents through non-genotoxic mechanisms. *Journal of Epidemiology and Community Health*. 2011;65:1.
- Hermida E. El parto en la América prehispánica. *Panorama Médico*. 1991;32–3.
- Hermida E. Malformaciones en las culturas pre-incas y prehispánicas. *Panorama Médico*. 1992;26–7.
- Hermida E. Paleopatología ecuatoriana. Gemelos *Dicephalus dibrachius*. *Panorama Médico*. 1986;16–7.
- Holmström P, Marmur J, Eggertsen G, Gåfväls M, Stål P. Mild iron overload in patients carrying the HFE S65C gene mutation: a retrospective study in patients with suspected iron overload and healthy controls. *Gut*. 2002;51:723–30.
- Horsthemke B, Buiting K. Genomic imprinting and imprinting defects in humans. *Advances in Genetics*. 2008;61:225–46.
- Huang W, Qiu C, Von Strauss E, Winblad B, Fratiglioni L. Prevalence and malignancy of Alzheimer disease. *Archives of Neurology*. 2004. p. 730.
- Hukkanen J, Pelkonen O, Hakkola J, Raunio H. Expression and regulation of xenobiotic-metabolizing cytochrome P450 (CYP) enzymes in human lung. *Critical Reviews in Toxicology*. 2002;32:391–411.
- Human Genome Organization (HGO). [Disponible en línea] URL: www.hugo-international.org/. Fecha de acceso: 30 de marzo de 2013.
- Human Variome Project (HVP). [Disponible en línea] URL: www.humanvariomeproject.org/2013. Fecha de acceso: 30 de marzo de 2013.
- Hung R, Hall J, Boffeta P. Genetic polymorphisms in the base excision repair pathway and cancer risk. *American Journal of Epidemiology*. 2005;162:925–42.
- Huntington T, Macdonald ME, Ambrose CM, Duyao MP, Myers RH, Lin C, et al. A Novel Gene Containing a Trinucleotide That Is Expanded and Unstable on Huntington's Disease Chromosomes. *Cell*. 1993;72:971–83.
- Hurme M, Lahdenpohja N, Santtila S. Gene polymorphisms of interleukins 1 and 10 in infectious and autoimmune diseases. *Annals of Medicine*. 1998;30:469–73.
- Hurting A, San Sebastián M. Incidence of childhood leukemia and oil exploitation in the Amazon basin of Ecuador. *International Journal of Occupational and Environmental Health*. 2004;10:245–50.
- Ichimura Y, Habuchi T, Tsuchiya N, Wang L, Oyama C, Sato K, et al. Increased risk of bladder cancer associated with a glutathione peroxidase 1 codon 198 variant. *The Journal of Urology*. 2004;172:728–32.
- Informe Yana Curi: Impactos de la actividad petrolera en poblaciones rurales de la Amazonia ecuatoriana. Instituto de Epidemiología y Salud Comunitaria "Manuel Amunarriz". Coca, Ecuador. 2000.

- Instituto de Investigaciones Biomédicas (IIB). Archivos digitales. Universidad de las Américas. 2014.
- Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC). VII censo de población y VI de vivienda 2010. [Disponible en línea] URL: <http://www.inec.gov.ec/home>. Fecha de acceso: 17 de enero de 2013.
- International Agency for Research on Cancer (IARC). Evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to man: occupational exposures to petroleum refining; crude oil and major petroleum fuels. Lyon, France. [Disponible en línea] URL: www.iarc.fr. Fecha de acceso: 1989.
- International Commission Radiological Protection (ICRP). Draft recommendations of International Commission Radiological Protection. 2007;1–104.
- Jacquier M, Arango D, Villareal E, Torres O, Serrano ML, Cruts M, et al. APOE epsilon4 and Alzheimer's disease: positive association in a Colombian clinical series and review of the Latin-American studies. *Archivos de neuropsiquiatria*. 2001;59:11–7.
- Janowski R, Kozak M, Jankowska E, Grzonka Z, Grubb A, Abrahamson M, et al. Human cystatin C, an amyloidogenic protein, dimerizes through three-dimensional domain swapping. *Nature Structural Biology*. 2001;8(4):316–20.
- Jeong B-H, Lee K-H, Lee Y-J, Yun J, Park Y-J, Kim Y-H, et al. Genetic polymorphism in exon 2 of cathepsin D is not associated with vascular dementia. *Acta Neurologica Scandinavica*. 2011;123:419–23.
- Jiménez-Jiménez F, Alonso-Navarro H, Ayuso-Peralta L. Estrés oxidativo y enfermedad de Alzheimer. *Revista de Neurología*. 2006;42:419–27.
- Jochnick C, Normand R, Zaidi S. Rights violations in the Ecuadorian Amazon: the human consequences of oil development. *Health & Human Rights*. 1994;1:82–100.
- Jülicher S, Bongartz M, Luty AJ, Kremsner P, Kun JF. Functional analysis of a promoter variant of the gene encoding the interferon-gamma receptor chain I. *Immunogenetics*. 2003;54:675–80.
- Kaldor J, Harris J, Glazer E. Statistical association between cancer incidence and major-cause mortality, and estimated residential exposure to air emissions from petroleum and chemical plants. *Environmental Health Perspectives*. 1983;54:319–32.
- Kang TJ, Chae GT. Detection of Toll-like receptor 2 (TLR2) mutation in the lepromatous leprosy patients. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. 2001;31:53–8.
- Kaplan M, Brandt-Rauf P, Axley J, Shen T, Sewell G. Residential release of number 2 fuel oil: a contributor to indoor air pollution. *American Journal of Public Health*. 1993;83:84–8.
- Kawahara T, Kuwano Y, Teshima-Kondo S, Kawai T, Nikawa T, Kishi K, et al. Toll-like receptor 4 regulates gastric pit cell responses to *Helicobacter pylori* infection. *The Journal of Medical Investigation*. 2001;48:190–7.
- Kenneson A, Van Naarden Braun K, Boyle C. GJB2 (connexin 26) variants and nonsyndromic sensorineural hearing loss: A HuGE review. *Genetics in Medicine*. 2002;4:258–74.
- Kenny S, Tam P, Garcia-Barcelo M. Hirschsprung's disease. *Seminars in Pediatric Surgery*. 2010;19:194–200.
- Ketterer B. A bird's eye view of the glutathione transferase field. *Chemicobiological Interactions*. 2001;138:27–42.
- Ketting RF, Haverkamp TH, Van Luenen HG, Plasterk RH. Mut-7 of *C. elegans*, required for transposon silencing and RNA interference, is a homolog of Werner syndrome helicase and RNase D. *Cell*. 1999;99:133–41.

- Kiely T, Donaldson D, Grube A. Pesticides industry sales and usage 2000 and 2001 market estimates. Washington DC, USA. 2004. US Environmental Protection Agency. 2004.
- Kim HM, Park BS, Kim J-I, Kim SE, Lee J, Oh SC, et al. Crystal structure of the TLR4-MD-2 complex with bound endotoxin antagonist Eritoran. *Cell*. 2007;130:906–17.
- Kim M. Beta conformation of polyglutamine track revealed by a crystal structure of Huntingtin N-terminal region with insertion of three histidine residues. *Prion*. 2013;7(3).
- Kimmerling J. Amazon Crude. Brickfron Graphics. New York, USA. 1993.
- Kiryarov G, Manamshjan T, Polyakov V, Fais D, Chenstov J. Levels of granular organization of chromatin fibres. *FEBS Letters*. 1976;67:323–7.
- Klattenhoff C, Theurkauf W. Biogenesis and germline functions of piRNAs. *Development Cambridge England*. 2008;135:3–9.
- Knowles PP, Murray-Rust J, Kjaer S, Scott RP, Hanrahan S, Santoro M, et al. Structure and chemical inhibition of the RET tyrosine kinase domain. *The Journal of Biological Chemistry*. 2006;281(44):33577–87.
- Koch O, Awomoyi A, Usen S, Jallow M, Richardson A, Hull J, et al. IFNGR1 gene promoter polymorphisms and susceptibility to cerebral malaria. *The Journal of Infectious Diseases*. 2002;185:1684–7.
- Kowalczyk M, Srebniak M, Tomaszewska A. Chromosome abnormalities without phenotypic consequences. *Journal of Applied Genetics*. 2007;48:157–66.
- Kozmin SG, Pavlov YI, Kunkel TA, Sage E. Roles of *Saccharomyces cerevisiae* DNA polymerases Poleta and Polzeta in response to irradiation by simulated sunlight. *Nucleic Acids Research*. 2003;31:4541–52.
- Kraehenbuhl J, Corbett M. Keeping the gut microflora at bay. *Science*. 2004;303:1624–5.
- Krebs J, Goldstein E, Kilpatrick S. *Lewin's Genes X*. Jones & Bartlett Publishers. Décima edición. 2009.
- Kremer B, Clark C, Almqvist E, Raymond L, Graf P, Jacova C, Mezei M, Hardy M, Snow B, Martin W, Hayden M. Influence of lamotrigine on progression of early Huntington disease: a randomized clinical trial. *Neurology*. 1999;53:1000–11.
- Kusters JG, Van Vliet AHM, Kuipers EJ. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* Infection. *Clinical Microbiology Reviews*. 2006;19:449–90.
- Ladewig E, Okamura K, Flynt AS, Westholm JO, Lai EC. Discovery of hundreds of mirtrons in mouse and human small RNA data. *Genome Research*. 2012;22:1634–45.
- Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, Tuschl T. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science*. 2001;294:853–8.
- Lalic H, Lekic A, Radosevic-Stasic B. Comparison of chromosome aberrations in peripheral blood lymphocytes from people occupationally exposed to ionizing and radiofrequency radiation. *Acta Medica Oyakama*, 2001;55:117–27.
- Lamdegert J, Jansen in de Wal N, van Ommen G, Baas F, de Vijlder J, van Duijn P, van der Ploeg M. Chromosomal localization of a unique gene by non-autoradiographic in situ hybridization. *Nature*. 1985; 317:175–7.
- Lantieri F, Griseri P, Ceccherini I. Molecular mechanisms of RET-induced Hirschsprung pathogenesis. *Annals of Medicine*. 2006a;38:11–9.

- Lantieri F, Griseri P, Puppo F, Campus R, Martucciello G, Ravazzolo R, et al. Haplotypes of the human RET proto-oncogene associated with Hirschsprung disease in the Italian population derive from a single ancestral combination of alleles. *Annals of Human Genetics*. 2006b;70:12–26.
- Lanza DL, Yost GS. Selective dehydrogenation/oxygenation of 3-methylindole by cytochrome p450 enzymes. *Drug metabolism and disposition the biological fate of chemicals*. 2001;29:950–3.
- Leboute APM, De Carvalho MWP, Simoes AL. Absence of the delta ccr5 mutation in indigenous populations of the Brazilian Amazon. *Human Genetics*. 1999;105:442–3.
- Lee RC, Ambros V. An extensive class of small RNAs in *Caenorhabditis elegans*. *Science*. 2001;294:862–4.
- Leffon B, Pérez-Candahía B, Loureiro J, Méndez J, Pásaro E. Papel de los polimorfismos para enzimas de reparación en el daño del ADN inducido por estireno y estireno-7, 8-óxido, *Revista Toxicología*. 2004;21:92–7.
- Lei XG, Cheng W-H, McClung JP. Metabolic regulation and function of glutathione peroxidase-1. *Annual Review of Nutrition*. 2007;27:41–61.
- Leone PE, Giménez P, Collantes JC, Paz-y-Miño C. Analysis of HFE gene mutations (C282Y, H63D, and S65C) in the Ecuadorian population. *Annals of Hematology*. 2005;84:103–5.
- Levy J. Infection by human immunodeficiency virus: CD4 is not enough. *The New England Journal of Medicine*. 1996;335:1528–30.
- Lewis HA, Zhao X, Wang C, Sauder JM, Rooney I, Noland BW, et al. Impact of the deltaF508 mutation in first nucleotide-binding domain of human cystic fibrosis transmembrane conductance regulator on domain folding and structure. *The Journal of Biological Chemistry*. 2005;280(2):1346–53.
- Ley TJ, Mardis ER, Ding L, Fulton B, McLellan MD, Chen K, et al. DNA sequencing of a cytogenetically normal acute myeloid leukaemia genome. *Nature*. 2008;456:66–72.
- Lian ZH, Yang HY, Li Z. Neural tube defects in Beijing-Tianjin area of China. Urban-rural distribution and some other epidemiological characteristics. *Journal of Epidemiology & Community Health*. 1987;41:259–62.
- Lillienberg L, Högstedt B, Järholm B, Nilson L. Health effects of tank cleaners. *American Industrial Hygiene Association Journal*. 1992;53:375–80.
- Lin C, Wang ST, Wu CW, Chuo LJ, Kuo YM. The association of a cystatin C gene polymorphism with late-onset Alzheimer's disease and vascular dementia. *The Chinese Journal of Physiology*. 2003;46:111–5.
- Liu C, Jin L, Li H, Lou J, Luo C, Zhou. RET polymorphisms and the risk of Hirschsprung's disease in a Chinese population. *Journal of Human Genetics*. 2008;53:825–33.
- Liu C, Li X, Lou J, Xue Y, Luo C-F, Zhou X-W, et al. Association analysis of the PHOX2B gene with Hirschsprung disease in the Han Chinese population of Southeastern China. *Biochemical Genetics*. 2010;48:496–503.
- Liu H, Yu W, Liou LY, Rice AP. Isolation and characterization of the human DC-SIGN and DC-SIGNR promoters. *Gene*. 2003;313:149–59.
- Liu L, Li Y, Li S, Hu N, He Y, Pong R, et al. Comparison of Next-Generation Sequencing Systems. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2012;2012:1–11.
- Liu R, Paxton WA, Choe S, Ceradini D, Martin SR, Horuk R, et al. Homozygous defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some multiply-exposed individuals to HIV-1 infection. *Cell*. 1996;86:367–77.

- Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods San Diego*. 2001;25:402–8.
- Lo H-W, Stephenson L, Cao X, Milas M, Pollock R, Ali-Osman F. Identification and functional characterization of the human glutathione S-transferase P1 gene as a novel transcriptional target of the p53 tumor suppressor gene. *Molecular Cancer Research*. 2008;6:843–50.
- Lodish H, Berk A, Matsudaira P, Kaiser CA, Krieger M, Scott MP, et al. *Molecular Cell Biology. Perspective*. 2008. p. 973.
- López R, Cantos G, Vasconez R. Efectos mutagénicos de la fototerapia en linfocitos humanos de neonatos hiperbilirunémicos. *Revista de la Facultad de Ciencias Médicas*. 1990;15:7.
- López-Cortés A, Jaramillo-Kouperman G, Muñoz MJ, Cabrera A, Echeverría C, Rosales F, Vivar N, Pazy-Miño C. Genetic polymorphisms in MTHFR (C677T, A1298C), MTR (A2756G) and MTRR (A66G) genes associated with pathological characteristics of prostate cancer in the Ecuadorian population. *The American Journal of the Medical Sciences*. 2013; PMID: 23459165.
- Lunn R, Langlois R, Hsieh L, Thompson C, Bell D. XRCC1 polymorphisms: effects on aflatoxin B₁-DNA adducts and glycophorin a variant frequency. *Cancer Research*. 1999;59:2557–61.
- Lyon E, Frank EL. Hereditary hemochromatosis since discovery of the HFE gene. *Clinical Chemistry*. 2001;47:1147–56.
- Lyonnet S, Bolino A, Pelet A, Abel L, Nihoul-Fekete C, Briard ML, et al. A gene for Hirschsprung disease maps to the proximal long arm of chromosome 10. *Nature Genetics*. 1993;4:346–50.
- Lyons RA, Monaghan SP, Heaven M, Littlepage BN, Vincent TJ, Draper GJ. Incidence of leukaemia and lymphoma in young people in the vicinity of the petrochemical plant at Baglan Bay, South Wales, 1974 to 1991. *Occupational and Environmental Medicine*. 1995;52:225–8.
- Madelleti U, Padmaja T, Prasad H, Reddy P. Analysis of chromosomal aberrations in the peripheral lymphocytes of workers exposed to diagnostic X-rays. *International Journal of Human Genetics*. 2002;2:265–8.
- Maeda S, Nakagawa S, Suga M, Yamashita E, Oshima A, Fujiyoshi Y, Tsukihara T. Structure of the connexin 26 gap junction channel at 3,5 Å resolution. *Nature*. 2009;458:597–602.
- Magierowska M, Lepage V, Boubnova L. Distribution of the CCR5 gene 32 base pair deletion and SDF1-3_A variant in healthy individuals from different populations. *Immunogenetics*. 1998;48:417–9.
- Magierowska M, Theodorou I, Debré P, Sanson F, Autran B, Rivière Y, et al. Combined genotypes of CCR5, CCR2, SDF1, and HLA genes can predict the long-term nonprogressor status in human immunodeficiency virus-1-infected individuals. *Blood*. 1999;93:936–41.
- Maldonado A, Narváez A. Ecuador ni es, ni será ya, país amazónico. *Inventario de impactos petroleros. Edorrial Acción Ecológica*. Quito, Ecuador. 2003.
- Maldonado A, Piedra I, Maldonado P, Bonilla M, Chiriboga A. Estado de la nutrición en escuelas ecuatorianas de la frontera norte afectadas por las aspersiones aéreas del plan Colombia. *Acción Ecológica*. 2006.
- Maldonado A. Determinacion de las frecuencias alélicas de los loci hla - drb1 y dqb1 en la población de pacientes del programa nacional de trasplante renal atendidos en el laboratorio de histocompatibilidad e inmunogenética del instituto SELADIS durante las gestiones 2000-2005. Instituto SELADIS. Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas. Universidad Mayor San Andrés. 2007.
- Mani RS, Ganapathy A, Jalvi R, Srikumari Srisailapathy CR, Malhotra V, Chadha S, et al. Functional consequences of novel connexin 26 mutations associated with hereditary hearing loss. *European Journal of Human Genetics*. 2009;17:502–9.

- Marazita ML, Mooney MP. Current concepts in the embryology and genetics of cleft lip and cleft palate. *Clinics in Plastic Surgery*. 2004;31:125–40.
- Marc J, Mulner-Lorillon O, Boulben S, Hureau D, Durand G, Bellé R. Pesticide Roundup provokes cell division dysfunction at the level of CDK1/cyclin B activation. *Chemical Research in Toxicology*. 2002;15:326–31.
- Margulies M, Egholm M, Altman W, Attiya S, Bader J, Bemben L, Berka J, et al. Genome sequencing in open microfabricated high density picoliter reactors. *Nature*. 2005;437:376–80.
- Mariani E, Seripa D, Ingegni T, Nocentini G, Mangialasche F, Ercolani S, et al. Interaction of CTSD and A2M polymorphisms in the risk for Alzheimer's disease. *Journal of the Neurological Sciences*. 2006;247:187–91.
- Mariani R, Salvioni A, Corengia C, Erba N, Lanzafame C, De Micheli V, et al. Prevalence of HFE mutations in upper Northern Italy: study of 1132 unrelated blood donors. *Digestive and liver disease official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*. 2003;35:479–81.
- Marlin S, Feldmann D, Blons H, Loundon N, Rouillon I, Albert S, et al. GJB2 and GJB6 mutations - Genotypic and phenotypic correlations in a large cohort of hearing-impaired patients. *Archives of Otolaryngology Head Neck Surgery*. 2005;131:481–7.
- Martin MP, Lederman MM, Hutcheson HB, Goedert JJ, Nelson GW, Van Kooyk Y, et al. Association of DC-SIGN promoter polymorphism with increased risk for parenteral, but not mucosal, acquisition of human immunodeficiency virus type 1 infection. *Journal of Virology*. 2004;78:14053–6.
- Martínez A, Reyes I, Reyes N. Cytotoxicity of the herbicide glyphosate in human peripheral blood mononuclear cells. *Biomedica revista del Instituto Nacional de Salud*. 2007;27:594–604.
- Martínez Z. Frecuencias de antígenos HLA en población cubana según características étnicas. Primera edición. Cuba. 1998.
- Martinson JJ, Chapman NH, Rees DC, Liu YT, Clegg JB. Global distribution of the CCR5 gene 32-basepair deletion. *Nature Genetics*. 1997;16:100–3.
- Martucciello G, Luinetti O, Romano P, Magrini U. *Molekularbiologie, Grund - lagenforschung und Diagnose des Morbus Hirschsprung*. Pathologie. 2007;28:119–24.
- Maruyama H, Izumi Y, Oda M, Torii T, Morino H, Toji H, et al. Lack of an association between cystatin C gene polymorphisms in Japanese patients with Alzheimer's disease. *Neurology*. 2003;57:1238–44.
- Matson A, Sutton E, Swanson J, Robinson A, Santiana A. Distribution of hereditary blood groups among Indians in South America. *American Journal of Physical Anthropology*. 1966;24:51–70.
- Mattson MP. Accomplices to neuronal death. *Nature*. 2002;377–9.
- Mattson MP. Pathways towards and away from Alzheimer's disease. *Nature*. 2004;430:631–9.
- Matullo G, Peluso M, Polidoro S, Guarrera S, Munnia A, Krogh V, et al. Combination of DNA repair gene single nucleotide polymorphisms and increased levels of DNA adducts in a population-based study. *Cancer epidemiology biomarkers prevention a publication of the American Association for Cancer Research cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2003;12:674–7.
- McDonald T. Public health goal for benzene in drinking water. Office of environmental health hazard assessment. Sacramento, USA. [Disponible en línea] URL: www.oehha.ca.gov. Fecha de acceso: 2001.
- McDuffie HH, Pahwa P, McLaughlin JR, Spinelli JJ, Fincham S, Dosman JA, et al. Non-Hodgkin's lymphoma and specific pesticide exposures in men: cross-Canada study of pesticides and health. *Cancer*

epidemiology biomarkers prevention a publication of the American Association for Cancer Research cosponsored by the American Society of Preventive Oncology. 2001;10:1155–63.

McInerney T, Adam H, Campbell D, Kamat D, Kelleher K, Hoekelman R. Tratado de pediatría. Primera edición. Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. 2011.

McLaren A. The cellular basis of sex determination. American Journal of Human Genetics, supplement. 1991;49:88.

McNicholl JM, Smith DK, Qari SH, Hodge T. Host genes and HIV: the role of the chemokine receptor gene CCR5 and its allele. Emerging Infectious Diseases. 1997;3:261–71.

Meiers I, Shanks JH, Bostwick DG. Glutathione S-transferase pi (GSTP1) hypermethylation in prostate cancer: review 2007. Pathology. 2007;39:299–304.

Meinhardt M, Krebs R, Anders A, Heinrich U, Tronnier H. Wavelength-dependent penetration depths of ultraviolet radiation in human skin. Journal of Biomedical Optics. 2008;13:044030.

Melhman A. Benceno: Un carcinogénico hematopoyético y multiorgánico a cualquier nivel por encima de cero. En salud ocupacional y ambiental: realidades diversas. Memorias de la conferencia internacional: Salud ocupacional y ambiental, emergencias en los países en desarrollo. Editorial IFA. Quito, Ecuador. 2006.

Merlin G, Van Der Leede BJ, McKune K, Knezevic N, Bannwarth W, Romquin N, et al. The gene for the ligand binding chain of the human interferon gamma receptor. Immunogenetics. 1997;45:413–21.

Merriwether D, Clark A, Ballinger S, Schurr T, Soodyal H, Jenkins T, Sherry S, Wallace D. The structure of human mitochondrial DNA variation. Journal of Molecular Evolution. 1991;33:543–55.

Mestre T, Ferreira J, Coelho MM, Rosa M, Sampaio C. Therapeutic interventions for disease progression in Huntington's disease. Cochrane Database of Systematic Reviews Online. 2009;CD006455.

Mette MF, Aufsatz W, Van Der Winden J, Matzke MA, Matzke AJ. Transcriptional silencing and promoter methylation triggered by double-stranded RNA. The European Molecular Biology Organization Journal. 2000;19:5194–201.

Metzker ML. Sequencing technologies - the next generation. Nature Reviews Genetics. 2010;11:31–46.

Meyerson M, Gabriel S, Getz G. Advances in understanding cancer genomes through second-generation sequencing. Nature Reviews Genetics. 2010;11:685–96.

Millikan RC, Player JS, Decotret AR, Tse C-K, Keku T. Polymorphisms in DNA repair genes, medical exposure to ionizing radiation, and breast cancer risk. Cancer epidemiology biomarkers prevention a publication of the American Association for Cancer Research cosponsored by the American Society of Preventive Oncology. 2005;14:2326–34.

Milman N, Á Steig T, Koefoed P, Pedersen P, Fenger K, Nielsen FC. Frequency of the hemochromatosis HFE mutations C282Y, H63D, and S65C in blood donors in the Faroe Islands. Annals of Hematology. 2005;84:146–9.

Ministerio de Relaciones Exteriores (MREE). Misión de verificación: Impactos en el Ecuador de las fumigaciones realizadas en el departamento del Putumayo dentro del Plan Colombia. Quito, Ecuador. 2002.

Mision Solidaria Manuela Espejo (MSME). Memorias: Estudio biopsicosocial clínico genético de las personas con discapacidad en Ecuador. Vicepresidencia de la República del Ecuador. Ecuador. 2013.

Mitacek EJ, St Vallieres D, Polednak AP. Cancer in Haiti 1979-84: distribution of various forms of cancer according to geographical area and sex. International Journal of cancer. 1986;38:9–16.

- Mogensen TH. Pathogen recognition and inflammatory signaling in innate immune defenses. *Clinical Microbiology Reviews*. 2009;22:240–73.
- Monaghan K, Rybicki B, Shurafa M, Feldman G. Mutation analysis of the HFE gene associated with hereditary hemochromatosis in African Americans. *American Journal of Hematology*. 1998;58:213–7.
- Montalvo G. Frecuencia de malformaciones congénitas en hospitales ecuatorianos de la red ECLAMC período 2001-2005. *Cambios. Órgano Oficial de Difusión Científica HCAM*. 2005;5.
- Moore K, Persaud T. *The Developing Human, Clinically Oriented Embriology*. Elsevier. 2008.
- Moore LG. Comparative human ventilatory adaptation to high altitude. *Respiration Physiology*. 2000;121:257–76.
- Moorhead PS, Nowell PC, Mellman WJ, Battips DM, Hungerford DA. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Experimental Cell Research*. 1960;20:613–6.
- Morales A, Morera B, Jiménez-Arce G. La implementación forense de la tecnología del ADN en Costa Rica: Un análisis retrospectivo. *Revista de Biología Tropical*. 2004;52:695–712.
- Morgan W, Sowa M. Effects of ionizing radiation in nonirradiated cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2005;102:14127–8.
- Morrissey D V, Lockridge JA, Shaw L, Blanchard K, Jensen K, Breen W, et al. Potent and persistent in vivo anti-HBV activity of chemically modified siRNAs. *Nature Biotechnology*. 2005;23:1002–7.
- Mostert J, Heersema T, Mahajan M, Van Der Grond J, Van Buchem MA, De Keyser J. The effect of fluoxetine on progression in progressive multiple sclerosis: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *ISRN Neurology*. 2013. doi: 1155/2013/370943.
- Motulsky A. Human genetics: historical lessons and the future. *American Journal of Human Genetics, supplement*. 1991;49:66.
- Moura SB, Almeida LR, Guerra JB, Rocha GA, Camargos Rocha AM, Melo FF, et al. Toll-like receptor (TLR2, TLR4 and TLR5) gene polymorphisms and *Helicobacter pylori* infection in children with and without duodenal ulcer. *Microbes and infection Institut Pasteur*. 2008;10:1477–83.
- Mouret S, Baudouin C, Charveron M, Favier A, Cadet J, Douki T. Cyclobutane pyrimidine dimers are predominant DNA lesions in whole human skin exposed to UVA radiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2006;103:13765–70.
- Moyer AM, Salavaggione OE, Wu T-Y, Moon I, Eckloff BW, Hildebrandt MAT, et al. Glutathione s-transferase p1: gene sequence variation and functional genomic studies. *Cancer Research*. 2008;68:4791–801.
- Moyer B, Meyer T. *Journal of the American Chemical Society*. 1979;101:1328–30.
- Mulero, M. Efecto de la radiación ultravioleta (UV) sobre los procesos de estrés oxidativo e inmunodepresión cutánea. Efecto protector de los filtros solares. *Universidad Rovira i Virgili. Italia*. 2004.
- Mullis KB, Faloona FA. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods in Enzymology*. 1987;155:335–50.
- Mummidi S, Ahuja SS, Gonzalez E, Anderson SA, Santiago EN, Stephan KT, et al. Genealogy of the CCR5 locus and chemokine system gene variants associated with altered rates of HIV-1 disease progression. *Nature Medicine*. 1998;4:786–93.

- Muñoz MJ, López-Cortés A, Sarmiento I, Herrera C, Sánchez ME, Paz-y-Miño C. Biomonitoring genético de individuos expuestos a radiación ionizante y su relación con el desarrollo de cáncer. *Oncología*. 2008;18:75–82.
- Mura C, Ragueneas O, Férec C. HFE mutations analysis in 711 hemochromatosis probands: evidence for S65C implication in mild form of hemochromatosis. *Blood*. 1999;93:2502–5.
- Murchison EP, Hannon GJ. miRNAs on the move: miRNA biogenesis and the RNAi machinery. *Current Opinion in Cell Biology*. 2004;16:223–9.
- Murphy J, Yuan H, Kong Y, Xiong Y, Lolis E. Heterologous quaternary structure of CXCL12 and its relationship to the CC chemokine family. *Proteins*. 2009;78:1331–7.
- Murphy K, Travers P, Walport M. *Janeway's Immunobiology*. Garland Science. 2008. p. 887.
- Murray J. Gene/environment causes of cleft lip and/or palate. *Clinical Genetics*. 2002;61:248-56.
- Mutchinick O, Lisker R, Babinski V. Programa mexicano de registro y vigilancia epidemiológica de malformaciones congénitas externas. *Salud Pública de México*. 1988;30:88–100.
- Nacmias B, Bagnoli S, Tedde A, Cellini E, Bessi V, Guarnieri B, Ortensi L, Piacentini S, Bracco L, Sorbi S. Angiotensin converting enzyme insertion / deletion polymorphism in sporadic and familiar Alzheimer's disease and longevity. *Archives of Gerontology and Geriatrics*. 2007;45:201–6.
- National Center for Biotechnology Information (NCBI). Genetic diseases. [Disponible en línea] URL: www.ncbi.nlm.nih.gov. Fecha de acceso: 2013.
- National Human Genome Research Institute (NHGRI). ENCODE Project. [Disponible en línea] URL: www.genome.gov. Fecha de acceso: 11 de marzo de 2013.
- Nebert D, Dieter M. The evolution of drug metabolism. *Pharmacology*. 2000;61:124–35.
- Neefjes J, Jongstra ML, Paul P, Bakke O. Towards a systems understanding of MHC class I and MHC class II antigen presentation. *Nature Reviews Immunology*. 2011;11:823–36.
- Negrete I, Ortiz M, Vásquez J. *Genética, Evolución, Ecología*. Editorial Pueblo Nuevo. México. 1974.
- Nelson DR. The cytochrome p450 homepage. *Human Genomics*. 2009;4:59–65.
- Neph S, Vierstra J, Stergachis A, Reynolds A, Haugen E, Vernot B, et al. An expansive human regulatory lexicon encoded in transcription factor footprints. *Nature*. 2012;489:83–90.
- Neri M, Ugolini D, Bonassi S, Fucic A, Holland N, Knudsen LE, et al. Children's exposure to environmental pollutants and biomarkers of genetic damage. II. Results of a comprehensive literature search and meta-analysis. *Mutation Research*. 2006;14–39.
- Nolan T, Hands RE, Bustin SA. Quantification of mRNA using real-time RT-PCR. *Nature Protocols*. 2006;1:1559–82.
- Nopoulos P, Epping EA, Wassink T, Schlaggar BL, Perlmutter J. Correlation of CAG repeat length between the maternal and paternal allele of the Huntingtin gene: evidence for assortative mating. *Behavioral and Brain Functions*. 2011;7:45.
- Norris P, Hawk J. Polymorphic light eruption. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*. 1990;5:186–91.
- Norwood FL, Sutherland-Smith AJ, Keep NH, Kendrick-Jones J. The structure of the N-terminal actin-binding domain of human dystrophin and how mutations in this domain may cause Duchenne or Becker muscular dystrophy. *Structure*. 2000;8(5):481–91.

- Nunomura A, Chiba S, Eto M, Saito M, Makino I, Miyagishi T. Apolipoprotein E polymorphism and susceptibility to early- and late-onset sporadic Alzheimer's disease in Hokkaido, the northern part of Japan. *Neuroscience Letters*. 1996;17–20.
- Nussbaum R, McInnes R, Willard H. Thompson & Thompson. *Genetics in Medicine*. Editorial Saunders. Séptima edición. 2008.
- O'Keefe GC, Michell AW, Barker RA. Biomarkers in Huntington's and Parkinson's Disease. *Annals Of The New York Academy Of Sciences*. 2009;1180:97–110.
- Oassa H, Torres L, Nieto L. Frecuencias alélicas y haplotípicas del sistema HLA clase I (loci a*, b*) en una población en indígenas motilom-bari. Santander, Colombia. 2009.
- Ohto U, Yamakawa N, Akashi-Takamura S, Miyake K, Shimizu T. Structural analyses of human Toll-like receptor 4 polymorphisms D299G and T399I. *The Journal of Biological Chemistry*. 2012;287:40611–7.
- Olin R, Ahlbom A, Lindberg-Navier I. Occupational factors associated with astrocytomas: a case-control study. *American Journal of Industrial Medicine*. 1987;6:615–25.
- Oliver RG, Jones G. Neonatal feeding of infants born with cleft lip and/or palate: parental perceptions of their experience in south Wales. *The Cleft palatecraniofacial journal official publication of the American Cleft PalateCraniofacial Association*. 1997;34:526–32.
- Olynyk JK. Hereditary haemochromatosis: diagnosis and management in the gene era. *Liver*. 1999;19:73–80.
- Omura T. Forty years of cytochrome P450. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1999;266:690–8.
- Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM). [Disponible en línea] URL: www.omim.org. Fecha de acceso: 5 de enero de 2013.
- Organización Mundial de la Salud (OMS) y Alianza Mundial de Organizaciones para la prevención de Defectos Congénitos (WAOPBD). Reunión conjunta: Servicios para la prevención y tratamiento de los trastornos genéticos y los defectos congénitos en los países en desarrollo. La Haya. 1999.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). Índice UV solar mundial. Guía práctica. Genova, Suiza. 2003.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). Informe mundial sobre la discapacidad 2011. [Disponible en línea] URL: http://www.who.int/disabilities/world_report/2011/es/index.html. Fecha de acceso: 10 de diciembre de 2011.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). International Program on Chemical Safety. Glyphosate. Genova, Suiza. 1994;159.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). Manual de bioseguridad en el laboratorio. Tercera edición. Ginebra, Suiza. 2005.
- Organización Panamericana de la Salud (OPS). Ejecución de las actividades de salud genética en América Latina y el Caribe. Washington, USA. 1987.
- Organización Panamericana de la Salud (OPS). Prevención y control de las enfermedades genéticas y los defectos congénitos. Washington, USA. 1984.
- Paik YK, Chang DJ, Reardon CA, Davies GE, Mahley RW, Taylor JM. Nucleotide sequence and structure of the human apolipoprotein E gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1985;82:3445–9.
- Palliser D, Chowdhury D, Wang Q-Y, Lee SJ, Bronson RT, Knipe DM, et al. An siRNA-based microbicide protects mice from lethal herpes simplex virus 2 infection. *Nature*. 2006;439:89–94.

- Pan BJ, Hong YJ, Chang GC, Wang MT, Cinkotai FF, Ko YC. Excess cancer mortality among children and adolescents in residential districts polluted by petrochemical manufacturing plants in Taiwan. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 1994;43:117–29.
- Pandya A, Arnos KS, Xia XJ, Welch KO, Blanton SH, Friedman TB, et al. Frequency and distribution of GJB2 (connexin 26) and GJB6 (connexin 30) mutations in a large North American repository of deaf probands. *Genetics in Medicine*. 2003;5:295–303.
- Parc R, Berrod J, Tussiot J, Loygue J. Megacolon in adults. Apropos of 76 cases. *The Annals of Gastroenterology & Hepatology*. 1984;20:133–41.
- Park E, Williams B, Wold BJ, Mortazavi A. RNA editing in the human ENCODE RNA-seq data. *Genome Research*. 2012;22:1626–33.
- Park JY, Shigenaga MK, Ames BN. Induction of cytochrome P4501A1 by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin or indolo(3,2-b)carbazole is associated with oxidative DNA damage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1996;93:2322–7.
- Paz y Miño C, Sánchez ME, Sarmiento I, Leone PE. Genetics and congenital malformations: interpretations, attitudes and practices in suburban communities and the shamans of Ecuador. *Community Genetics*. 2006a;9:268–73.
- Paz-y-Miño C, Arévalo M, Muñoz G MJ, Leone PE. CYP 1A1 genetic polymorphisms in Ecuador, South America. *Disease Markers*. 2005b;21:57–9.
- Paz-y-Miño C, Arévalo M, Sanchez ME, Leone PE. Chromosome and DNA damage analysis in individuals occupationally exposed to pesticides with relation to genetic polymorphism for CYP 1A1 gene in Ecuador. *Mutation Research*. 2004;562:77–89.
- Paz-y-Miño C, Bustamante G, Sánchez ME, Leone PE. Cytogenetic monitoring in a population occupationally exposed to pesticides in Ecuador. *Environmental Health Perspectives*. 2002b;110:1077–80.
- Paz-y-Miño C, Carrera C, López-Cortés A, Muñoz MJ, Cumbal N, Castro B, et al. Genetic polymorphisms in apolipoprotein E and glutathione peroxidase 1 genes in the Ecuadorian population affected with Alzheimer's disease. *The American Journal of the Medical Sciences*. 2010b;340:373–7.
- Paz-y-Miño C, Creus A, Cabre O, Leone PE. *Genética Toxicológica y Carcinogénesis*. Pontificia Universidad Católica de Ecuador. Quito, Ecuador. 2001.
- Paz-y-Miño C, Cumbal N, Araujo S, Sánchez ME. Alterations and chromosomal variants in the Ecuadorian population. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2012b; doi: 10.1155/2012/432302.
- Paz-y-Miño C, Cumbal N, Sánchez ME. Genotoxicity studies performed in the Ecuadorian population. *Molecular biology international*. 2012a;598984.
- Paz-y-Miño C, Dávalos M, Sánchez M, Arévalo M, Leone PE. Should gaps be included in chromosomal aberration analysis? Evidence based on the comet assay. *Mutation Research*. 2002d,516:57–61.
- Paz-y-Miño C, Leone PE, Córdova A, Gutiérrez S, Peñaherrera M, Sánchez ME. Aspectos genéticos de la diferenciación sexual. *Endocrinología Ecuatoriana*. 1993b;2:75–7.
- Paz-y-Miño C, Leone PE, Córdova A, Gutiérrez S, Peñaherrera M, Sánchez ME. Hallazgos citogenéticos en individuos con monosomía del cromosoma X. *MetroCiencia*. 1991;5:41–7.
- Paz-y-Miño C, López-Cortés A, Arévalo M, Sánchez ME. Monitoring of DNA damage in individuals exposed to petroleum hydrocarbons in Ecuador. *Annals of The New York Academy Of Sciences*. 2008a;1140:121–8.

- Paz-y-Miño C, López-Cortés A. Glifosato: Genética, Salud y Ambiente. Imprenta Hojas y Signos. Primera edición. Quito, Ecuador. 2011.
- Paz-y-Miño C, Morillo S, Celi A, Witte T, Muñoz MJ, Collantes JC, Leone PE. CCR5Δ32, CCR2-64I and SDF1-3' a polymorphisms related to resistance to HIV-1 infection and disease in the Ecuadorian population. *Human Biology*. 2005a;77:521–6.
- Paz-y-Miño C, Muñoz MJ, López-Cortés A, Cabrera A, Palacios A, Castro B, Paz-y-Miño N, Sánchez ME. Frequency of polymorphisms pro198leu in GPX-1 gene and ile58thr in MnSOD gene in the altitude Ecuadorian population with bladder cancer. *Oncology Research*. 2010a;18:395–400.
- Paz-y-Miño C, Muñoz MJ, Maldonado A, Valladares C, Cumbal N, Herrera C, López-Cortés A. Baseline determination in social, health, and genetic areas in communities affected by glyphosate aerial spraying on the northeastern Ecuadorian border. *Reviews on Environmental Health*. 2011a;26:45–51.
- Paz-y-Miño C, Ocampo L, Sánchez ME. Manual de prácticas de Genética Molecular y Citogenética Humana. Instituto de Investigaciones Biomédicas. Universidad de las Américas. Quito, Ecuador. 2011b.
- Paz-y-Miño C, Pérez JC, Burgos R, Dávalos M V, Leone PE. The DeltaF508 mutation in Ecuador, South America. *Human Mutation*. 1999a;14:348–50.
- Paz-y-Miño C, Pérez JC, Fiallo BF, Leone PE. A polymorphism in the hMSH2 gene (gIVS12-6T>C) associated with non-Hodgkin lymphomas. *Cancer Genetics and Cytogenetics*. 2002c;133:29–33.
- Paz-y-Miño C, Saltos J, Sánchez ME, Burgos R, Pérez C, Dávalos V, Leone PE. Distrofia muscular de Duchenne: Detección de mutaciones del gen de la ditrofina a través de la utilización de PCR-múltiplex. *Metro Ciencia*. 1999b;8:5–8.
- Paz-y-Miño C, Sánchez ME, Arévalo M, Muñoz MJ, Witte T, De-la-carrera GO, et al. Evaluation of DNA damage in an Ecuadorian population exposed to glyphosate. *Genetics and Molecular Biology*. 2007;460:456–60.
- Paz-y-Miño C, Sánchez ME, Córdova A, Gutiérrez S, Leone PE, Peñaherrera M, Santillán S, Varas C. Registro Nacional Colaborativo de Alteraciones y Variantes Cromosómicas Humanas (RNCVACH). *Metro Ciencia*. 1993a;3:41–4.
- Paz-y-Miño C, Sánchez ME, Leone PE. Alta frecuencia de mosaicismo de síndrome de Down en Ecuador. *Revista Ecuatoriana de Pediatría*. 2002a;3:5–7.
- Paz-y-Miño C, Tapia A, Arévalo M, Muñoz MJ, Llumipanta W, Oleas G, Sánchez ME. Polymorphic variants of the mitochondrial cytochrome b gen (CYB) in the Ecuadorian population. *Revista Española de Antropología Física*. 2008b;28:95–101.
- Paz-y-Miño C. Darwin, Evolución y Biomedicina. Imprenta Hojas y Signos. Quito, Ecuador. 2009.
- Paz-y-Miño C. Ecuador. In: Penchaszadeh V (ed) Medical genetic services in Latin America. World Health Organization. New York, USA. 1998;14–6.
- Paz-y-Miño C. Estandarización de frecuencias alélicas para población mestiza ecuatoriana a partir de estudios por STRs. *Nuestra Ciencia*. 2006b;8:9–10.
- Paz-y-Miño C. Transgénicos: Una Cuestión Científica. Imprenta Hojas y Signos. Quito, Ecuador. 2013.
- Pearl-Yafe M, Fabian I, Halperin D, Flatau E, Werber S, Shalit I. Interferon-gamma and bacterial lipopolysaccharide act synergistically on human neutrophils enhancing interleukin-8, interleukin-1beta, tumor necrosis factor-alpha, and interleukin-12 p70 secretion and phagocytosis via upregulation of toll-like receptor 4. *Shock Augusta Ga*. 2007;27:226–31.
- Peixoto F. Comparative effects of the Roundup and glyphosate on mitochondrial oxidative phosphorylation. *Chemosphere*. 2005;61:1115–22.

- Pérez M, Arancibia S. Estrés oxidativo y neurodegeneración: ¿Causa o consecuencia? *Archivos de Neurociencia*. 2007;12:45–54.
- Petit C, Levilliers J, Hardelin JP. Molecular genetics of hearing loss. *Annual Review of Genetics*. 2001;35:589–646.
- Peyser C, Folstein M, Chase G, Starkstein S, Brandt J, Cockrell J, Bylsma F, Coyle J, McHugh P, Folstein S. Trial of d-alpha-tocopherol in Huntington's disease. *The American Journal of Psychiatry*. 1995;152:1771–5
- Pietrangelo A, Montosi G, Totaro A, Garuti C, Conte D, Cassanelli S, et al. Hereditary hemochromatosis in adults without pathogenic mutations in the hemochromatosis gene. *The New England Journal of Medicine*. 1999;341:725–32.
- Pietrangelo A. Hereditary hemochromatosis - a new look at an old disease. *The New England Journal of Medicine*. 2004;350:2383–97.
- Platt KL, Aderhold S, Kulpe K, Fickler M. Unexpected DNA damage caused by polycyclic aromatic hydrocarbons under standard laboratory conditions. *Mutation Research*. 2008;650:96–103.
- Ponchel F, Toomes C, Bransfield K, Leong FT, Douglas SH, Field SL, et al. Real-time PCR based on SYBR-Green I fluorescence: An alternative to the TaqMan assay for a relative quantification of gene rearrangements, gene amplifications and micro gene deletions. *BMC Biotechnology*. 2003;3:18.
- Power JHT, Blumbergs PC. Cellular glutathione peroxidase in human brain: cellular distribution, and its potential role in the degradation of Lewy bodies in Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *Acta Neuropathologica*. 2009;117:63–73.
- Prasad K, Cole W, Hasse G. Held risk of low dose ionizing radiation in human. *Experimental Biology and Medicine*. 2004;229:378–82.
- Protein Data Bank (RCSB-PDB). Estructuras proteicas. [Disponible en línea] URL: www.rcsb.org. Fecha de acceso: 2013.
- Puri B, Leavitt B, Hayden M, Ross C, Rosenblatt A, Greenamyre J, Hersch S, Vaddadi K, Sword A, Horrobin D, Manku M, Murck H. Ethyl-EPA in Huntington disease: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Neurology*. 2005;65:286–92.
- Quiñones L, Berthou F, Varela N, Simon B, Gil L, Lucas D. Ethnic susceptibility to lung cancer: differences in CYP2E1, CYP1A1 and GSTM1 genetic polymorphisms between French Caucasian and Chilean populations. *Cancer Letters*. 1999;141:167–71.
- Quint P, Reutzel R, Mikulski R, McKenna R, Silverman DN. Crystal structure of nitrated human manganese superoxide dismutase: mechanism of inactivation. *Free Radical Biology & Medicine*. 2006;40(3):453–8.
- Rabionet R, Gasparini P, Estivill X. Molecular genetics of hearing impairment due to mutations in gap junction genes encoding beta connexins. *Human Mutation*. 2000;16:190–202.
- Rad R, Dossumbekova A, Neu B, Lang R, Bauer S, Saur D, et al. Cytokine gene polymorphisms influence mucosal cytokine expression, gastric inflammation, and host specific colonisation during *Helicobacter pylori* infection. *Gut*. 2004;53:1082–9.
- Rad R, Gerhard M, Lang R, Schöniger M, Rösch T, Schepp W, et al. The *Helicobacter pylori* blood group antigen-binding adhesin facilitates bacterial colonization and augments a nonspecific immune response. *The Journal of Immunology*. 2002;168:3033–41.
- Rao KS. Free radical induced oxidative damage to DNA: relation to brain aging and neurological disorders. *Indian Journal of Biochemistry Biophysics*. 2009;46:9–15.

- Rapp A, Bock C, Dittmar H, Greulich KO. UV-A breakage sensitivity of human chromosomes as measured by COMET-FISH depends on gene density and not on the chromosome size. *Journal of Photochemistry and Photobiology Biology*. 2000;56:109–17.
- Reddy PH. Amyloid precursor protein-mediated free radicals and oxidative damage: implications for the development and progression of Alzheimer's disease. *Journal of Neurochemistry*. 2006;96:1–13.
- Remacha AF, Barceló MJ, Sardà MP, Blesa I, Altés A, Baiget M. The S65C mutation in Spain. Implications for iron overload screening. *Haematologica*. 2000;1324–5.
- Rickards O, Tartaglia M, Martínez-Labarga C, De Stefano GF. Genetic characterization of the Cayapa Indians of Ecuador and their genetic relationships to other Native American populations. *Human Biology an International Record of Research*. 1994;66:299–322.
- Rimoin D, Connor J, Pyeritz R. Emery and Rimoin's principles and practice of Medical Genetics. Quinta edición. Churchill Livingstone-Elsevier. Philadelphia, USA. 2007.
- Ríos-Dalenz J, Correa P, Haenszel W. Morbidity from cancer in La Paz, Bolivia. *International Journal of Cancer*. 1981;28:307–14.
- Rochette PJ, Therrien J-P, Drouin R, Perdiz D, Bastien N, Drobetsky EA, et al. UVA-induced cyclobutane pyrimidine dimers form predominantly at thymine-thymine dipyrimidines and correlate with the mutation spectrum in rodent cells. *Nucleic Acids Research*. 2003;31:2786–94.
- Rodríguez C, Jaramillo-Kouperman G, Serrano M, López-Cortés A, Guevara MJ, Castro B, Cabrera A, Paz-y-Miño C. Estudio de variantes genéticas de genes asociados a la enfermedad Alzheimer en población ecuatoriana. *Revista Ecuatoriana Médica Eugenio Espejo*. 2012;1:5–13.
- Rodríguez JLL, Ferri CP, Acosta D, Guerra M, Huang Y, Jacob K, et al. Prevalence of dementia in Latin America, India, and China: a population-based cross-sectional survey. *Lancet*. 2008;372:464–74.
- Rodríguez L, Giraldo M, García N, Velásquez L, París S, Álvarez C, García L. Frecuencias alélicas, genotípicas y haplotípicas HLA-A, HLA-B, HLA-DRB1 en donantes fallecidos, Medellín, Colombia. 2007.
- Rodríguez-Sangrador M. Influencia de la exposición solar y la dieta en el estatus nutricional de vitamina D en mujeres adolescentes y de edad avanzada: Estudio Optiford - Unión Europea. Universidad Complutense de Madrid. Madrid, España. 2006.
- Roks G, Cruts M, Slooter A, Dermaut B, Hofman A, Van Broeckhoven C, Van Duijn C. The cystatin C polymorphism is not associated with early onset Alzheimer's disease. *Neurology*. 2001;57:366–7.
- Romero S, Carrión J. Niveles séricos de Zinc maternos y malformaciones congénitas. *Boletín Epidemiológico*. 1990;6:13–7.
- Ronaghi M, Karamohamed S, Pettersson B, Uhlén M, Nyrén P. Real-time DNA sequencing using detection of pyrophosphate release. *Analytical Biochemistry*. 1996;242:84–9.
- Ronaghi M, Uhlén M, Nyrén P. A sequencing method based on real-time pyrophosphate. *Science*. 1998;281:363, 365.
- Ronaghi M. Pyrosequencing Sheds Light on DNA Sequencing Pyrosequencing Sheds Light on DNA Sequencing. *Genome Research*. 2001;11:3–11.
- Rosenzweig SD, Schäffer AA, Ding L, Sullivan R, Enyedi B, Yim J-J, et al. Interferon-gamma receptor 1 promoter polymorphisms: population distribution and functional implications. *Clinical Immunology Orlando Fla*. 2004;112:113–9.
- Rossi M, Young JW. Human dendritic cells: potent antigen-presenting cells at the crossroads of innate and adaptive immunity. *The Journal of Immunology*. 2005;175:1373–81.

- Rossjohn J, McKinsty WJ, Oakley AJ, Parker MW, Stenberg G, Mannervik B, et al. Structures of thermolabile mutants of human glutathione transferase P1-1. *Journal of Molecular Biology*. 2000;302:295–302.
- Rowland P, Blaney FE, Smyth MG, Jones JJ, Leydon VR, Oxbrow AK, et al. Crystal structure of human cytochrome P450 2D6. *The Journal of Biological Chemistry*. 2006;281:7614–22.
- Rugeles M, Diaz F, Vega J. Frecuencia de mutaciones en el coreceptor CCR5 del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) en diferentes grupos en Medellín, Colombia. *Infectio*. 2001;2:3–17.
- Ruíz M, Zacca E, Lantigua P, Portuondo M, Morales F, Icart E. Caracterización epidemiológica y social de las personas con discapacidad intelectual en Cuba. *Revista Cubana de Salud Pública*. 2011;37:34–43.
- Rupert JL, Devine D V, Monsalve M V, Hochachka PW. Beta-fibrinogen allele frequencies in Peruvian Quechua, a high-altitude native population. *American Journal of Physical Anthropology*. 1999;109:181–6.
- Rupert JL, Hochachka PW. Genetic approaches to understanding human adaptation to altitude in the Andes. *Journal of Experimental Biology*. 2001;204:3151–60.
- Ryan EJ, Dring M, Ryan CM, McNulty C, Stevenson NJ, Lawless MW, et al. Variant in CD209 promoter is associated with severity of liver disease in chronic hepatitis C virus infection. *Human Immunology*. 2010;71:829–32.
- Rybicki BA, Neslund-Dudas C, Nock NL, Schultz LR, Eklund L, Rosbolt J, et al. Prostate cancer risk from occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons interacting with the GSTP1 Ile105Val polymorphism. *Cancer Detection and Prevention*. 2006;30:412–22.
- Sakuntabhai A, Turbpaiboon C, Casadémont I, Chuansumrit A, Lowhnoo T, Kajaste-Rudnitski A, et al. A variant in the CD209 promoter is associated with severity of dengue disease. *Nature Genetics*. 2005;37:507–13.
- Salih MA, Ibrahim ME, Blackwell JM, Miller EN, Khalil EAG, ElHassan AM, et al. IFNG and IFNGR1 gene polymorphisms and susceptibility to post-kala-azar dermal leishmaniasis in Sudan. *Genes and Immunity*. 2007;8:75–8.
- Samanich J, Lowes C, Burk R, Shanske S, Lu J, Shanske A, et al. Mutations in GJB2, GJB6, and mitochondrial DNA are rare in African American and Caribbean Hispanic individuals with hearing impairment. *American Journal of Medical Genetics*. 2007;143A:830–8.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor laboratory press. New York. 1989;931–57.
- Samson M, Libert F, Doranz BJ, Rucker J, Liesnard C, Farber CM, et al. Resistance to HIV-1 infection in caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR-5 chemokine receptor gene. *Nature*. 1996;382:722–5.
- San Sebastián M, Hurting A. Informe Yana Curi. Instituto de Epidemiología y Salud Comunitaria Manuel Amunarriz. Coca, Ecuador. 2002.
- San Sebastián M. Informe Yana Curi: Impacto de la actividad petrolera en la salud de poblaciones rurales de la Amazonía ecuatoriana. Editorial Icaria. Barcelona, España. 2000.
- Sancandi M, Griseri P, Pesce B, Patrone G, Puppo F, Lerone M, et al. Key points. *Journal of Medical Genetics*. 2003;714–9.
- Sánchez M, Bruguera M, Bosch J, Rodes J, Ballesta F, Oliva R. Prevalence of the Cys282Tyr and His63Asp HFE gene mutations in Spanish patients with hereditary hemochromatosis and in controls. *Journal of Hepatology*. 1998;29:725–8.

- Sandelin E. On hydrophobicity and conformational specificity in proteins. *Biophysical Journal*. 2004;86:23–30.
- Santiana A. Los grupos sanguíneos de los indios del Ecuador. Universidad Central del Ecuador. Quito, Ecuador. 1947.
- Santiana A. Los indios del Ecuador y sus características serológicas. *Boletín de Informaciones Científicas Nacionales*. 1953;6:52–64.
- Santos FR, Pandya A, Tyler-Smith C, Pena SD, Schanfield M, Leonard WR, et al. The central Siberian origin for native American Y chromosomes. *The American Journal of Human Genetics*. 1999;64:619–28.
- Sanyal A, Lajoie B, Jain G, Dekker J. The long-range interaction landscape of gene promoters. *Nature*. 2012;489:109–13.
- Sawa A. Mechanisms for neuronal cell death and dysfunction in Huntington's disease: pathological cross-talk between the nucleus and the mitochondria? *Journal of Molecular Medicine Berlin Germany*. 2001;79:375–81.
- Scharfe C, Zaccaria P, Hoertnagel K, Jaksch M, Klopstock T, Dembowski M, et al. MITOP, the mitochondrial proteome database: 2000 update. *Nucleic Acids Research*. 2000;28:155–8.
- Schmitt C, Humeny A, Becker C-M, Brune K, Pahl A. Polymorphisms of TLR4: Rapid Genotyping and Reduced Response to Lipopolysaccharide of TLR4 Mutant Alleles. *Clinical Chemistry*. 2002;48:1661–7.
- Schnur E, Noah E, Ayzenshtat I, Sargsyan H, Inui T, Ding F-X, et al. The conformation and orientation of a 27-residue CCR5 peptide in a ternary complex with HIV-1 gp120 and a CD4-mimic peptide. *Journal of Molecular Biology*. 2011;410:778–97.
- Schröder NWJ, Schumann RR. Single nucleotide polymorphisms of Toll-like receptors and susceptibility to infectious disease. *The Lancet infectious diseases*. 2005;5:156–64.
- Scriver C, Beaudet A, Sly W, Valle D. The metabolic and molecular bases of inherited disease. Octava edición. McGraw-Hill. New York, USA. 2000.
- Seedhouse C, Faulkner R, Ashraf N, Das-Gupta E, Russell N. Polymorphisms in genes involved in homologous recombination repair interact to increase the risk of developing acute myeloid leukemia. *Clinical Cancer Research*. 2004;10:2675–80.
- Segelke BW, Forstner M, Knapp M, Trakhanov SD, Parkin S, Newhouse YM, et al. Conformational flexibility in the apolipoprotein E amino-terminal domain structure determined from three new crystal forms: implications for lipid binding. *Protein Science*. Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2000;9(5):886–97.
- Sempértegui F, Díaz M, Mejía R, Rodríguez-Mora OG, Rentería E, Guarderas C, et al. Low concentrations of zinc in gastric mucosa are associated with increased severity of *Helicobacter pylori*-induced inflammation. *Helicobacter*. 2007;12:43–8.
- Sgura A, Meschini R, Antocchia A, Palitti F, Obe G, Tanzarella C. DNA damage induced by UV light affects restriction endonuclease recognition sites: correlation between effects at chromosomal level and naked DNA. *Mutagenesis*. 1996;11:463–6.
- Sha K. A mechanistic view of genomic imprinting. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*. 2008;9:197–216.
- Shaffer LG, Slovak ML, Cambell LJ. ISCN 2005: an international system for human cytogenetic nomenclature (2005). *Historica*. 2005;138.
- Sharp P. The biology of short RNAs. In "RNA World". Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA. 2006.

- Shay JW, Werbin H. New evidence for the insertion of mitochondrial DNA into the human genome: significance for cancer and aging. *Mutation Research*. 1992;275:227–35.
- Shi X-F, Liu S, Xiangyu J, Zhang Y, Huang J, Liu S, et al. Structural analysis of human CCR2b and primate CCR2b by molecular modeling and molecular dynamics simulation. *Journal of Molecular Modeling*. 2002;8:217–22.
- Shields ED, Bixler D, Fogh-Andersen P. Cleft palate: a genetic and epidemiologic investigation. *Clinical Genetics*. 1981;20:13–24.
- Shimoda-Matsubayashi S, Matsumine H, Kobayashi T, Nakagawa-Hattori Y, Shimizu Y, Mizuno Y. Structural dimorphism in the mitochondrial targeting sequence in the human manganese superoxide dismutase gene. A predictive evidence for conformational change to influence mitochondrial transport, and a study of allelic association in Parkinson's disease. *Biochemical and Biophysical Research Communication*. 1996;226:561–5.
- Shoulson I, Odoroff C, Oakes D, Behr J, Goldblatt D, Caine E, Kennedy J, Miller C, Bamford K, Rubin A. A controlled clinical trial of baclofen as prospective therapy in early Huntington's disease. *Annals of Neurology*. 1989;3:252–9.
- Sijen T, Vijn I, Rebocho A, Van Blokland R, Roelofs D, Mol JN, et al. Transcriptional and posttranscriptional gene silencing are mechanistically related. *Current Biology*. 2001;11:436–40.
- Smith M, Dean M, Carrington M. Contrasting genetic influence of CCR2 and CCR5 variants on HIV-1 infection and disease progression. Hemophilia Growth and Development Study (HGDS), Multicenter AIDS Cohort Study (MACS), Multicenter Hemophilia Cohort Study (MHCS), San Francisco City Cohort (SFCC), ALIVE Study. *Science* 1997;277:959–65.
- Smith, D. Recognizable patterns of human malformation. Genetic, Embryologic and Clinical Aspects. Tercera edición. Saunder Company. Philadelphia, USA. 1984.
- Sohda T, Takeyama Y, Irie M, Kamimura S, Shijo H. Putative hemochromatosis gene mutations and alcoholic liver disease with iron overload in Japan. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. 1999;23:21S–23S.
- Soutschek J, Akinc A, Bramlage B, Charisse K, Constien R, Donoghue M, et al. Therapeutic silencing of an endogenous gene by systemic administration of modified siRNAs. *Nature*. 2004;432:173–8.
- Speit G, Schütz P. The effect of inhibited replication on DNA migration in the comet assay in relation to cytotoxicity and clastogenicity. *Mutation Research*. 2008;655:22–7.
- Spranger J, Benirschke K, Hall J, Lenz W, Lowry R, Opitz J, Pinsky L, Schwarzacher H, Smith D. Errors of morphogenesis: concepts and terms. Recommendations of an international working group. *Journal of Pediatrics*. 1982;100:160–5.
- Steinfeld R, Reinhardt K, Schreiber K, Hillebrand M, Kraetzner R, Bruck W, et al. Cathepsin D Deficiency Is Associated with a Human Neurodegenerative Disorder. *The American Journal of Human Genetics*. 2006;78:988–98.
- Stoia M, Oancea S, Obreja D. Comparative study of genotoxic effects in workers exposed to inorganic lead and low dose irradiation using micronucleus test. *Romanian Journal of Legal Medicine*. 2009;4:287–94.
- Strachan T, Rear A. *Human Molecular Genetics*. Fourth edition. Garland Science. 2010.
- Suau P, Bradbury E, Baldwin J. Higher-order structures of chromatin in solution. *European Journal of Biochemistry*. 1979;2:593–602.
- Suerbaum S, Michetti P. *Helicobacter pylori* Infection. *Nature Reviews Microbiology*. 2002;5:441–52.

- Sutton A, Imbert A, Igoudjil A, Descatoire V, Cazanave S, Pessayre D, et al. The manganese superoxide dismutase Ala16Val dimorphism modulates both mitochondrial import and mRNA stability. *Pharmacogenetics and Genomics*. 2005;15:311–9.
- Szkларz GD, Graham SE, Paulsen MD. Molecular modeling of mammalian cytochromes P450: application to study enzyme function. *Vitamins and Hormones*. 2000;58:53–87.
- Tabara H, Sarkissian M, Kelly WG, Fleenor J, Grishok A, Timmons L, et al. The RDE-1 gene, RNA interference, and transposon silencing in *C. elegans*. *Cell*. 1999;99:123–32.
- Takakubo F, Yamamoto M, Ogawa N, Yamashita Y, Mizuno Y, Kondo I. Genetic association between cytochrome P450IA1 gene and susceptibility to Parkinson's disease. *Journal of Neural Transmission Vienna Austria*. 1996;103:843–9.
- Takeda K, Akira S. Microreview Toll receptors and pathogen resistance. *Cellular Microbiology*. 2003;5:143–53.
- Takeuchi O, Hoshino K, Kawai T, Sanjo H, Takada H, Ogawa T, et al. Differential roles of TLR2 and TLR4 in recognition of gram-negative and gram-positive bacterial cell wall components. *Immunity*. 1999;11:443–51.
- Tam PKH, Garcia-Barceló M. Genetic basis of Hirschsprung's disease. *Pediatric Surgery International*. 2009;25:543–58.
- Tamayo M, Olarte M, Gelvez M, Gómez M, Fría J, Bernal J, Florez S, Medina D. Estudios moleculares en el gen GJB2 (Conexina 26) en la población sorda de Bogotá, Colombia: Resultados de un programa de tamizaje. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*. 2009;73:97–101.
- Tang H, Fang P, Ward PA, Schmitt E, Darilek S, Manolidis S, et al. DNA sequence analysis of GJB2, encoding connexin 26: observations from a population of hearing impaired cases and variable carrier rates, complex genotypes, and ethnic stratification of alleles among controls. *American Journal of Medical Genetics*. 2013;140(22):2401–15.
- Tao X, Xu Y, Zheng Y, Beg AA, Tong L. An extensively associated dimer in the structure of the C713S mutant of the TIR domain of human TLR2. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2002;299(2):216–21.
- Teitelbaum DH, Cilley RE, Sherman NJ, Bliss D, Uitvlugt ND, Renaud EJ, et al. A decade of experience with the primary pull-through for hirschsprung disease in the newborn period: a multicenter analysis of outcomes. *Annals of Surgery*. 2000;232:372–80.
- Texereau J, Chiche J-D, Taylor W, Choukroun G, Comba B, Mira J-P. The importance of Toll-like receptor 2 polymorphisms in severe infections. *Clinical Infectious Diseases*. 2005;41 Suppl 7:S408–S415.
- The Huntington Study Group. Seeking treatments that make a difference 2001. [Disponible en línea] URL: www.huntington-study-group.org. Fecha de acceso: Octubre de 2013.
- The Huntington Study Group. Seeking treatments that make a difference 2006. [Disponible en línea] URL: www.huntington-study-group.org. Fecha de acceso: Octubre de 2013.
- The Huntington's Disease Collaborative Research Group. A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. *Cell*. 1993;72:971–83.
- The Royal Swedish Academy of Sciences. The key to life at the atomic level. The Nobel Prize in Chemistry. 2009.
- Thiel DJ, Le Du MH, Walter RL, D'Arcy A, Chène C, Fountoulakis M, et al. Observation of an unexpected third receptor molecule in the crystal structure of human interferon-gamma receptor complex. *Structure London England*. 2000;8:927–36.

- Thomas AW, Morgan R, Sweeney M, Rees A, Alcolado J. The detection of mitochondrial DNA mutations using single stranded conformation polymorphism (SSCP) analysis and heteroduplex analysis. *Human Genetics*. 1994;94:621–3.
- Thomas P, Fenech M. A review of genome mutation and Alzheimer's disease. *Mutagenesis*. 2007;22:15–33.
- Thompson L & West M. XRCC1 keeps DNA from getting stranded. *Mutation Research*. 2000;459:1–18.
- Thurman R, Rynes E, Humbert R, Vierstra J, Marano M, Haugen E. The accessible chromatin landscape of the human genome. *Nature*. 2012;489:75–82.
- Thye T, Burchard GD, Nilius M, Müller-Myhsok B, Horstmann RD. Genomewide Linkage Analysis Identifies Polymorphism in the Human Interferon- γ Receptor Affecting *Helicobacter pylori* Infection. *The American Journal of Human Genetics*. 2003;72:448–53.
- Tice R, Agurell E, Anderson D, Burlinson B, Hartmann A, Kobayashi H. The single cell gel/comet assay. Guidelines for *in vitro* and *in vivo* genetic toxicology testing. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 2000;35:206–21.
- Tilgner H, Knowles DG, Johnson R, Davis CA, Chakraborty S, Djebali S, et al. Deep sequencing of subcellular RNA fractions shows splicing to be predominantly co-transcriptional in the human genome but inefficient for lncRNAs. *Genome Research*. 2012;22:1616–25.
- Torfs C. An epidemiological study of Hirschsprung disease in a multiracial California population. The Third International Meetings: Hirschsprung disease and related neurocristopathies. Evian, France, 1998.
- Torroni A, Huoponen K, Francalacci P, Petrozzi M, Morelli L, Scozzari R, et al. Classification of European mtDNAs from an analysis of three European populations. *Genetics*. 1996;144:1835–50.
- Touil N, Aka P Vande, Buchet J-P, Thierens H, Kirsch-Volders M. Assessment of genotoxic effects related to chronic low level exposure to ionizing radiation using biomarkers for DNA damage and repair. *Mutagenesis*. 2002;17:223–32.
- Tsui M, Chu L. Aquatic toxicity of glyphosate based formulations: Comparison between different organisms and the effect of environmental factors. *Chemosphere*. 2003;52:1189–97.
- Unión de Promotores Populares de Salud de la Amazonía Ecuatoriana (UPPSAE). Culturas bañadas en petróleo. Diagnóstico de salud realizado por promotores. Editorial Abya Yala. Lago Agrio, Ecuador. 1993.
- US Department of Agriculture (USDA). Forest service. Glyphosate: Human health and ecological risk assessment final report. Virginia, USA. 2003;39.
- Varas C. Malformaciones congénitas en recién nacidos y estudio cromosómico en polimalformados. Tesis de Licenciatura en Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Quito, Ecuador. 1989.
- Vázquez A. La discapacidad en América Latina. [Disponible en línea] URL: <http://www.paho.org/Spanish/DD/PUB/Discapacidad-SPA.pdf>. Fecha de acceso: 10 de diciembre de 2011.
- Verbessem P, Lemiére J, Eijnde B, Swinnen S, Vanhees L, Van Leemput M, Hespel P, Dom R. Creatine supplementation in Huntington's disease: a placebo-controlled pilot trial. *Neurology*. 2003;61:925–30.
- Visner GA, Block ER, Burr IM, Nick HS. Regulation of manganese superoxide dismutase in porcine pulmonary artery endothelial cells. *American Journal of Physiology*. 1991;260:L444–L449.
- Volpe TA, Kidner C, Hall IM, Teng G, Grewal SIS, Martienssen RA. Regulation of heterochromatic silencing and histone H3 lysine-9 methylation by RNAi. *Science*. 2002;297:1833–7.

- Wallace D. Mitochondrial DNA mutations and neuromuscular disease. *Human Genetics*. 1989;5:9–13.
- Walsh AA, Szklarz GD, Scott EE. Human cytochrome P450 1A1 structure and utility in understanding drug and xenobiotic metabolism. *Journal of Biological Chemistry*. 2013;288:12932–43.
- Wang H, Maurano MT, Qu H, Varley KE, Gertz J, Pauli F, et al. Widespread plasticity in CTCF occupancy linked to DNA methylation. *Genome Research*. 2012;22:1680–8.
- Wang J, Zhuang J, Iyer S, Lin X, Whitfield TW, Greven MC, et al. Sequence features and chromatin structure around the genomic regions bound by 119 human transcription factors. *Genome Research*. 2012;22:1798–812.
- Wang K, Kan J, Yuen ST, Shi ST, Chu KM, Law S, et al. Exome sequencing identifies frequent mutation of ARID1A in molecular subtypes of gastric cancer. *Nature Genetics*. 2011;43:1219–23.
- Wang V, Chen S-Y, Chuang T-C, Shan D-E, Soong B-W, Kao M-C. Val-9Ala and Ile+58Thr polymorphism of MnSOD in Parkinson's disease. *Clinical Biochemistry*. 2010;43:979–82.
- Watanabe T, Totoki Y, Toyoda A, Kaneda M, Kuramochi-Miyagawa S, Obata Y, et al. Endogenous siRNAs from naturally formed dsRNAs regulate transcripts in mouse oocytes. *Nature*. 2008;453:539–43.
- Wellcome Trust Sanger Institute. [Disponible en línea] URL: www.sanger.ac.uk. Fecha de acceso: 15 de febrero de 2013.
- Werck-Reichhart D, Feyereisen R. Cytochromes P450: a success story. *Genome Biology*. 2000;1:reviews3003.1–reviews3003.9.
- Werner MH, Huth JR, Gronenborn AM, Clore GM. Molecular basis of human 46X,Y sex reversal revealed from the three-dimensional solution structure of the human SRY-DNA complex. *Cell*. 1995;81:705–14.
- Westphalen GH, Menezes LM, Prá D, Garcia GG, Schmitt VM, Henriques JAP, et al. In vivo determination of genotoxicity induced by metals from orthodontic appliances using micronucleus and comet assays. *Genetics and molecular research GMR*. 2008;7:1259–66.
- Wolf JB, Hager R, Cheverud JM. Genomic imprinting effects on complex traits: A phenotype-based perspective. *Epigenetics official journal of the DNA Methylation Society*. 2008;3:295–9.
- Wolpert L, Beddington R, Jessell T, Lawrence P, Meyerowitz E, Smith J. *Principles of Development*. Oxford University Press. 2002.
- Wu B, Lindeman N, Lip V, Adams A, Amato RS, Cox G, et al. Effectiveness of sequencing connexin 26 (GJB2) in cases of familial or sporadic childhood deafness referred for molecular diagnostic testing. *Genetics in Medicine*. 2002;4:279–88.
- Wu Y, Fan Y, Xue B, Luo L, Shen J, Zhang S, et al. Human glutathione S-transferase P1-1 interacts with TRAF2 and regulates TRAF2-ASK1 signals. *Oncogene*. 2006;25:5787–800.
- Xu Y, Tao X, Shen B, Horng T, Medzhitov R, Manley JL, et al. Structural basis for signal transduction by the Toll/interleukin-1 receptor domains. *Nature*. 2000;408:111–5.
- Yabuki H, Dattagupta N, Crothers D. Orientation of nucleosomes in the thirty-nanometer chromatin fiber. *Biochemistry*. 1982;21:5015–20.
- Yamamoto F, Kazuo J. Papel de los genes del complejo mayor de histocompatibilidad en los procesos infecciosos. *Investigación Clínica*. 2000;52:461–6.
- Yang CY, Cheng MF, Chiu JF, Tsai SS. Female lung cancer and petrochemical air pollution in Taiwan. *Archives of Environmental Health*. 1999;54:180–5.

- Yang Z, Zhou C-Z. Purification, crystallization and preliminary X-ray analysis of glutathione peroxidase Gpx3 from *Saccharomyces cerevisiae*. *Acta crystallographica. Section F, Structural biology and crystallization communications. International Union of Crystallography*. 2006;62:593–6.
- Yasunaga S, Grati M, Cohen-Salmon M, El-Amraoui A, Mustapha M, Salem N, et al. A mutation in OTOF, encoding otoferlin, a FER-1-like protein, causes DFNB9, a nonsyndromic form of deafness. *Nature Genetics*. 1999;21:363–9.
- Yoshinaga S, Sigurdson A, Doody M, Ron E. Cancer risk among radiologic and radiologic technologists: Review of epidemiologic studies. *Radiology*. 2004;233:313-21.
- Yousef MI, Salem MH, Ibrahim HZ, Helmi S, Seehy MA, Bertheussen K. Toxic effects of carbofuran and glyphosate on semen characteristics in rabbits. *Journal of environmental science and health Part B Pesticides food contaminants and agricultural wastes*. 1995;30:513–34.
- Zamore PD, Haley B. Ribo-gnome: the big world of small RNAs. *Science*. 2005;309:1519–24.
- Zang ZJ, Cutcutache I, Poon SL, Zhang SL, McPherson JR, Tao J, et al. Exome sequencing of gastric adenocarcinoma identifies recurrent somatic mutations in cell adhesion and chromatin remodeling genes. *Nature Genetics*. 2012;44:570–4.
- Zendejdel K, Bahmanyar S, McCarthy S, Nyren O, Andersson B, Ye W. Genetic polymorphisms of glutathione S-transferase genes GSTP1, GSTM1, and GSTT1 and risk of esophageal and gastric cardia cancers. *Cancer causes control CCC*. 2009;20:2031–8.
- Zhang X, Morera S, Bates PA, Whitehead PC, Coffey AI, Hainbuecher K, et al. Structure of an XRCC1 BRCT domain: a new protein-protein interaction module. *The European Molecular Biology Organization Journal*. 1998;17:6404–11.
- Zhang Y, Friedlander RM. Using non-coding small RNAs to develop therapies for Huntington's disease. *Gene Therapy*. 2011;18:1139–49.
- Zhou T, Chen Y, Hao L, Zhang Y. DC-SIGN and immunoregulation. *Cellular molecular immunology*. 2006;3:279–83.
- Zimmermann TS, Lee ACH, Akinc A, Bramlage B, Bumcrot D, Fedoruk MN, et al. RNAi-mediated gene silencing in non-human primates. *Nature*. 2006;441:111–4.
- Zlotogora J. Germ line mosaicism. *Human Genetics*. 1998;102:381–6.
- Zoidl G, Dermietzel R. Gap junctions in inherited human disease. *Pflugers Archiv: European journal of physiology*. 2010;460:451–66.
- Zuccato C, Ciammola A, Rigamonti D, Leavitt BR, Goffredo D, Conti L, et al. Loss of huntingtin-mediated BDNF gene transcription in Huntington's disease. *Science*. 2001;293:493–8.

Glosario

Aberraciones cromosómicas: Anormalidad en el número o en la estructura de los cromosomas.

ADN: Molécula compleja, integrante de los cromosomas, que almacena la información hereditaria en forma de variaciones en la secuencia de las bases de purina y pirimidina; esta información se traduce en la síntesis de las proteínas, por lo que es determinante de todas las características físicas y funcionales de las células y del organismo.

Acrocéntrico: Cromosoma que tiene su centrómero muy cercano al extremo de uno de sus brazos, es decir los brazos cortos normalmente no son más que material satélite.

Adenocarcinoma: Tumor benigno desarrollado en el epitelio glandular o que forma estructuras de tipo glandular.

Alelo: Cada una de las diversas formas de un gen que aparece en la misma posición relativa (locus) de cromosomas homólogos.

Ambiente: Lo que rodea. Conjunto de todas las condiciones e influencias externas en las que está sometido, en un determinado momento, el sistema sujeto a estudio.

Aminoácido Compuestos orgánicos que se combinan para formar proteínas. Los aminoácidos y las proteínas son los pilares fundamentales de la vida.

Amplificación de genes: Producción de copias de una secuencia de ADN intra o extra cromosómico. En los plásmidos, se refiere a un aumento de copias del plásmido por célula, inducido por un tratamiento específico de las células transformadas.

Anamnesis: Parte del examen clínico que reúne todos los datos personales, hereditarios y familiares del enfermo, anteriores a la enfermedad (consiste en hacer memoria de los antecedentes).

Aneuploidía: Cualquier variación en el número de cromosomas que afecta a cromosomas individuales más que a grupos completos de ellos.

Anticuerpo: Proteína plasmática secretada por los plasmocitos que posee la facultad de entrañar ciertas reacciones (precipitación o aglutinación) con su correspondiente antígeno.

Antígeno: Es una sustancia que induce la formación de anticuerpos, debido a que el sistema inmune la reconoce como una amenaza. Esta sustancia puede ser extraña (no nativa) proveniente del ambiente (como químicos) o formada dentro del cuerpo (como toxinas virales o bacterianas).

Apoptosis: Proceso fisiológico previsto de muerte y desintegración de tejidos dentro del desarrollo normal de los seres vivos.

ARN de transferencia: El ARNt es una pequeña molécula de ARN que participa en la síntesis de proteínas. Cada molécula de ARNt tiene dos áreas importantes: una región de trinucleótidos denominada anticodón y una región donde se une un aminoácido específico.

ARN mensajero: El ARNm es el ácido ribonucleico que contiene la información genética procedente del ADN para la síntesis de proteínas, es decir, determina el orden en que se unirán los aminoácidos.

ARN ribosómico: El ARNr se combina con distintas proteínas para formar los ribosomas, que luego intervendrán en la síntesis de proteínas.

ARN: Significa ácido ribonucleico. Es una molécula importante con largas cadenas de nucleótidos. Un nucleótido contiene una base nitrogenada, un azúcar ribosa y un fosfato. Justo como el ADN, el ARN es vital para los seres vivos.

Asesoramiento genético: El asesoramiento genético ofrece información y apoyo a las personas que tienen o pueden tener riesgos de trastornos genéticos.

Bioética: rama de la Ética que se ocupa de promulgar los principios que deberá observar la conducta de un individuo en el campo médico.

Biomarcador: Medidas en los niveles molecular, bioquímico o celular, tanto en poblaciones humanas, vegetales o animales, provenientes de hábitats contaminados, como en organismos expuestos experimentalmente a contaminantes, y que indican que el organismo ha estado expuesto a sustancias tóxicas y la magnitud de la respuesta del organismo al contaminante.

Bioseguridad: Es un conjunto de medidas preventivas encaminadas a reducir el riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas, las plagas de cuarentena, las especies exóticas invasoras, organismos vivos modificados.

Cáncer: Denominación de las tumoraciones malignas. Los carcinomas se originan en las células epiteliales; los sarcomas en el tejido conjuntivo.

Carcinogénesis: Este proceso puede ser resultado de eventos endógenos como errores en la replicación del ADN, la inestabilidad intrínseca de ciertas bases del ADN o el ataque de radicales libres generados durante el metabolismo celular. También puede ser resultado de procesos exógenos como radiaciones ionizantes, radiaciones ultravioletas y carcinógenos químicos.

Carcinógeno: Agente físico, químico o biológico capaz de incrementar la incidencia de neoplasias malignas.

Carcinoma: Tumor maligno de células epiteliales.

Cariotipo: Es un examen que se hace para identificar anomalías cromosómicas como causa de una malformación o de una enfermedad. El examen puede realizarse con una muestra de sangre, médula ósea, líquido amniótico o tejido de la placenta

Caso-control, estudio: Estudio que se inicia con la identificación de individuos con una determinada enfermedad de interés, y de un grupo control adecuado sano. Se examina la relación de un atributo con la enfermedad mediante comparación del grupo enfermo y del sano respecto a la presencia o cantidad del atributo en ambos.

Célula: Elemento constitutivo fundamental de los seres vivos, generalmente microscópico y dotado de vida propia, que, según la teoría celular, constituye la unidad morfológica y fisiológica de los seres vivos

Centrómero: Estrechamiento o constricción principal de las cromátidas, que constituye el lugar por el que el cromosoma se une al huso acromático durante la división celular.

Cigoto: Célula resultante de la fusión del gameto masculino (espermatozoide) con el gameto femenino (óvulo), hasta que se implanta en el útero.

Cistrón: Es la unidad más pequeña de material genético capaz de ser responsable de la síntesis de un polipéptido

Citogenética: Rama de la genética que relaciona la estructura y número de los cromosomas en células aisladas, con la variación del fenotipo y genotipo.

Clastógeno: Agentes químicos que aumentan la velocidad de mutación genética interfiriendo la función de los ácidos nucleicos.

Código genético: Es el conjunto de reglas usadas para traducir la secuencia de nucleótidos del ARNm a una secuencia de proteína en el proceso de traducción.

Codominancia: Tipo de herencia que se manifiesta en algunos heterocigotos en los cuales los dos alelos de un carácter se traducen en un fenotipo que presenta los dos caracteres en forma simultánea, o como un estado intermedio.

Complejo mayor de histocompatibilidad: El complejo mayor de histocompatibilidad es un conjunto de genes próximos en un único cromosoma, cuya función es codificar moléculas indispensables para el reconocimiento antigénico por parte de los linfocitos T y así iniciar la respuesta inmune.

Comunidad: En ecología, conjunto de poblaciones que viven en una misma área geográfica y que se interrelacionan entre sí.

Confianza, intervalo de: Conjunto de valores ordenados en el que se encuentra comprendido el valor de un parámetro de una población, con una probabilidad que viene determinada por un nivel de confianza preestablecido (1 -). Mide la precisión de la estimación del parámetro.

Consanguinidad: En los organismos, establecimiento de la homocigosis para todos los caracteres en un plazo más o menos largo, con el riesgo de que el individuo presente anomalías recesivas.

Control, grupo: Grupo seleccionado o establecido necesariamente antes de un estudio, integrado por humanos, animales, células, en todo idéntico al grupo que estudia, y mantenido en la misma situación y condiciones que este, pero sin someterlo a la exposición.

Craniosinostosis: Es un defecto congénito (presente en el momento de nacer) que causa el cierre prematuro anormal de una o más suturas en la cabeza del bebé. Las suturas son conexiones que separan cada uno de los huesos individuales del cráneo. Este cierre prematuro de una sutura lleva a que se presente una forma anormal de la cabeza.

Cromatina: Complejo coloreable de ADN y proteínas presentes en el núcleo de una célula eucariótica.

Cromosoma: Estructura autorreplicante formada por ADN asociado con proteínas, implicadas en el almacenamiento y transmisión de la información genética; la estructura física que contiene los genes.

Cromosopatía: Grupo de enfermedades producidas por las variaciones numéricas, estructurales o combinadas en la población normal de los cromosomas.

Crossing over: Proceso que ocurre en la meiosis e incluye la ruptura de un cromosoma materno y uno paterno (homólogos), el intercambio de las correspondientes secciones de ADN y su unión al otro cromosoma.

Delección: Una delección es un tipo de mutación genética en la cual se pierde material genético, desde un solo par de nucleótidos de ADN hasta todo un fragmento de cromosoma.

Deriva génica: Fluctuaciones arbitrarias en las frecuencias genéticas dentro de una población. A menor población, mayor tendencia a la variación en cada generación, de forma que los grupos pequeños aislados, con parentesco cerrado, se diferencian bastante, desde el punto de vista genético, de los antecesores de quienes proceden.

Deshidrogenasa: Enzima que cataliza la oxidación de compuestos por sustracción de átomos de hidrógeno.

Desnaturalización: Cambios en la estructura molecular de las proteínas, que impiden sus funciones normales; generalmente se producen por alteraciones de los enlaces de hidrógeno intramoleculares, por causa de sustancias reactivas o el calor.

Dismorfología: Estudio de malformaciones congénitas.

Dominancia: Propiedad de un gen de manifestarse siempre, tanto en el sujeto homocigoto como en el heterocigoto, en donde enmascara los efectos del gen alelomorfo recesivo.

ECLAMC: El Estudio Colaborativo Latino Americano de Malformaciones Congénitas es un programa que se dedica a la investigación de factores de riesgo como causas de anomalías congénitas en hospitales de Latinoamérica, el cual utiliza una metodología caso-control.

Embriología: Ciencia que estudia la formación y desarrollo de los embriones.

Empalme alternativo: Fenómeno biológico por medio del cual, tras la transcripción génica, se madura el ácido ribonucleico mensajero (ARNm) en una forma tal que se lee alternativamente exones y se descartan intrones, lo cual redundará en una gran diversidad de productos proteicos a partir de un mismo gen.

Endogamia: Cruce entre individuos emparentados genéticamente.

Enfermedad: Situación patológica que presenta un conjunto de síntomas peculiares, que la distingue como entidad anormal de otras situaciones normales o patológicas.

Enfermedades crónicas: Aquellas enfermedades de larga duración, cuyo fin o curación no puede preverse claramente o no ocurrirá nunca.

Enzima: Catalizador de las reacciones bioquímicas, facilitando la transformación de los sustratos.

Epigenética: La disciplina que se ocupa de investigar cómo los hijos pueden heredar y expresar lo que aparentan ser nuevos rasgos provenientes del comportamiento y entorno de sus padres, sin cambios en el ADN.

Etiología: Parte de la Medicina que se ocupa de las causas de las enfermedades.

Etnia: Se trata de una comunidad humana que puede ser definida por la afinidad cultural, lingüística o racial.

Eucromatina: Material cromosómico, que se tiñe al máximo durante la metafase. Se trata de la cromatina que forma parte de todos los cromosomas excepto los sexuales.

Eutanasia: Acción de provocar la muerte a un enfermo incurable para evitarle mayores sufrimientos físicos y psíquicos.

Exoma: Es la parte del genoma formado por los exones, es decir, las partes codificantes de los genes.

Exón: Los exones son las regiones de un gen que codifican proteína.

Expresión génica: Es el proceso mediante el cual la información almacenada en el ADN es usada para dirigir la síntesis de un producto génico específico.

Expresividad: Variabilidad con la que se modifican los patrones básicos de la herencia, tanto en grado como en variedad, por efecto de un determinado gen en personas con un mismo genotipo.

Factores de crecimiento: Mensajero químico capaz de inducir crecimiento celular de células específicas para formar vasos sanguíneos, tendón, nervios, hueso, piel, etc.

Fármaco: Sustancia que sirve para curar o prevenir enfermedades, o para calmar un dolor físico.

Fenotipo: Características observables de un organismo, estructurales y funcionales, determinadas por el genotipo y moduladas por el ambiente.

Fluorocromo: Sustancia que tiene la propiedad de convertir en fluorescentes los objetos que impregna (técnica de la microscopía fluorescente).

Fragmento de Okazaki: Fragmentos cortos de DNA de hebra simple (1000-2000 bases) producto de la síntesis discontinua del DNA. Posteriormente se unen covalentemente originando una hebra continua.

Frecuencia: Número de veces que sucede un evento, o el número de ocurrencias en un rango.

Funiculosentesis: Es la obtención de sangre fetal, mediante la punción de un vaso umbilical guiada por ecografía. Se practica a partir de la semana 19-20. Es una técnica con indicaciones mucho más selectivas, siendo útil para el estudio rápido de cromosomas fetales y para confirmar infecciones o enfermedades graves del feto.

Gen: Unidad básica estructural y funcional de material hereditario: una secuencia ordenada de nucleótidos que codifica la síntesis de una cadena de polipéptido (traducción), o una secuencia reguladora que hace posible la traducción.

Gen supresor tumoral: Par de genes que hacen que la célula elabore una proteína que controla el crecimiento de las células. Se puede contraer cáncer cuando la proteína de los antioncogenos no funciona debido a mutaciones en los genes.

Genealogía: Conjunto de los antepasados de una persona. Ascendencia.

Genética: Es el estudio de la herencia; el proceso en el cual un padre les transmite ciertos genes a sus hijos.

Genoma: Es el conjunto de secuencias de ADN que caracterizan a un individuo. Por extensión, a las secuencias de ADN características de una especie, se les conoce igualmente como genoma.

Genotipo: Composición alélica específica de una célula bien referida al total del genoma o, más comúnmente, a un gen o conjunto de genes.

Genotoxicidad: Capacidad para causar daño al material genético; el daño puede ser de tipo mutágeno o carcinógeno.

Genotóxico: Capacidad de los elementos físicos, químicos o biológicos de producir alteración en el material genético por cambios en el ADN o en las estructuras intracelulares vinculadas al funcionamiento o propiedades de los cromosomas. Las sustancias genotóxicas pueden unirse directamente al ADN o actuar indirectamente mediante la afectación de las enzimas involucradas en la replicación del ADN y causando, en consecuencia, mutaciones que pueden o no desembocar en un cáncer. Las sustancias genotóxicas no son necesariamente cancerígenas, pero la mayor parte de los cancerígenos son genotóxicos.

Hardy-Weinberg: Modelo estadístico que se utiliza para calcular las frecuencias genotípicas a partir de las frecuencias alélicas.

Hemoglobina: Es una proteína en los glóbulos rojos que transporta oxígeno. Un examen sanguíneo puede determinar qué tanta hemoglobina tiene uno en la sangre.

Herencia dominante: Quiere decir que un gen anormal de uno de los padres es capaz de causar la enfermedad, aunque el gen paralelo del otro padre sea normal. El gen anormal domina.

Herencia recesiva: Significa que ambos genes de un par deben estar defectuosos para causar la enfermedad.

Heterocigoto: Estado en el que los alelos del mismo locus en los cromosomas homólogos son diferentes.

Heterocromatina: Región de la cromatina que no se descondensa durante la interfase, manteniendo aparentemente la misma conformación altamente condensada que presenta en el cromosoma en metafase

***Homo sapiens*:** Es el nombre científico que se le otorga a la raza humana, la que constituye un tipo o especie particular de animal. El *Homo sapiens* es el único animal en la Tierra que ha podido desarrollar un pensamiento abstracto, con razonamiento incluido.

Homocigoto: Cuando hablamos de que un organismo es homocigoto con respecto a un gen específico, significa que posee dos copias idénticas de ese gen para un rasgo dado en los dos cromosomas correspondientes. Tales células u organismos se llaman homocigotos.

Idiograma: Es una representación gráfica de un cromosoma utilizando tinciones.

Incidencia: Número de casos de iniciación de enfermedad, o de personas que caen enfermas, durante un determinado período de una población específica; usualmente se expresa como razón, en la que el denominador es el número medio de personas durante dicho período, o el número estimado de personas en la mitad del período. La incidencia se refiere a casos nuevos, mientras que el término prevalencia abarca a todos los casos, nuevos y antiguos.

Inmunitario, sistema: Conjunto de órganos, células, vasos y ganglios linfáticos que participan en la formación, activación, almacenamiento y distribución de anticuerpos y mediadores de las reacciones de hipersensibilidad.

Intervalo de confianza: Rango de valores de la variable que se mide, que tiene gran probabilidad de contener el valor verdadero de la media, o de la proporción en la población.

Intrón: Es un fragmento de ADN que está presente en un gen pero que no codifica ningún fragmento de la proteína. Los intrones son eliminados en el proceso de maduración del ARN.

Linfocito: Tipo de célula inmunitaria elaborada en la médula espinal; se encuentra en la sangre y el tejido linfático. Los dos tipos de linfocitos son los linfocitos B y los linfocitos T. Los linfocitos B elaboran anticuerpos y los linfocitos T ayudan a destruir las células tumorales y ayudan a controlar las respuestas inmunitarias. Tipo de glóbulo blanco.

Malformación: Es una alteración de la forma producida por un trastorno del desarrollo. Así, las malformaciones pueden concebirse como el resultado de una reacción patológica propia de las estructuras biológicas en desarrollo. Esto significa que concluido el desarrollo deja de existir la posibilidad de que se produzca una malformación.

Meiosis: Proceso de división celular propio de células diploides, por medio de cual cada núcleo hijo recibe la mitad del número de cromosomas característicos de las células somáticas de la especie. Da por resultado gametos en los animales y esporas en las plantas.

Metabolismo: Suma de todos los procesos químicos y físicos que tienen lugar en un organismo. En sentido más estricto, cambios físicos y químicos que sufre una sustancia en un organismo. Incluye la incorporación y distribución en el organismo de los componentes químicos, los cambios y la eliminación de los compuestos y de sus metabolitos.

Metacéntricos: Cromosoma en el que el centrómero está ubicado más o menos en el centro, es decir, los brazos p y q son aproximadamente de la misma longitud.

Metástasis: Movimiento de bacterias u otras células, especialmente las cancerosas, de una parte del cuerpo a otra, dando lugar a modificaciones en la localización espacial de una enfermedad o de sus síntomas. Crecimiento de microorganismos patógenos o de células anormales lejos de su lugar de origen en el cuerpo.

Mitocondria: Orgánulo de las células eucarióticas rodeado de una membrana externa y de una membrana interna. La interna presenta pliegues llamados crestas en las que tiene lugar la síntesis del ATP en la fosforilación oxidativa en las células animales. En el interior, la matriz mitocondrial contiene ribosomas, muchas enzimas oxidativas y una molécula de ADN circular portadora de la información genética para algunas de estas enzimas.

Mitosis: Proceso por el cual el núcleo celular se divide en dos núcleos hijos, cada uno de ellos con la misma dotación genética que la célula primitiva. Consta de cuatro etapas: profase, metafase, anafase y telofase. La división de la célula suele tener lugar inmediatamente después que la del núcleo durante la telofase mitótica.

Mortalidad: Ocurrencia de muerte, estudiada en una población o subpoblación dada. La palabra mortalidad se utiliza a menudo de forma incorrecta en lugar de índice de mortalidad.

Mosaicismo: Se refiere a una condición en donde un individuo tiene dos o más poblaciones de células que difieren en su composición genética. Esta situación puede afectar a cualquier tipo de célula, incluyendo las células sanguíneas, gametos (ovarios y espermatozoides), y la piel.

Mutación: Cualquier cambio heredable, relativamente estable, del material genético que puede ser una transformación química de un gen individual (mutación génica o puntual) que altera su función, o un reordenamiento, ganancia o pérdida de un cromosoma, visible al microscopio. Las mutaciones pueden ocurrir en células germinales y transmitirse a la descendencia o en células somáticas y pasar de una célula a otra al dividirse estas.

Mutagénicos: Una sustancia o agente físico que causa mutaciones, es decir, que altera de forma permanente el ADN de las células.

Mutágeno: Cualquier sustancia que puede inducir cambios heredables (mutaciones) en el genotipo de una célula, como consecuencia de alteraciones o de pérdida de genes, o de cromosomas, o de parte de los mismos.

Necrosis: Muerte masiva de áreas de tejido rodeadas de zonas sanas. Cambios morfológicos subsiguientes a la muerte celular, caracterizados frecuentemente por cambios nucleares.

Neoplasia: Formación nueva y anormal de tejido tumoral, o crecimiento por proliferación celular más rápida de lo normal y que continúa después de haber cesado el estímulo inicial que lo desencadenó.

Nucleosoma: Formación nuclear en la que el ADN se enrolla alrededor de proteínas de tipo histona. Es el primer nivel de enrollamiento de ADN. Para transcribir el ADN que lo forma hay que deshacer el nucleosoma.

Nucleótido: Es un compuesto orgánico que está formado por una base nitrogenada, un azúcar y ácido fosfórico. Es posible dividir a los nucleótidos en ribonucleótidos (cuando el azúcar es la ribosa) y desoxirribonucleótidos (si el azúcar es la desoxirribosa).

Odds ratio: Término inglés utilizado en estadística, sin equivalente en español. Es el cociente obtenido al dividir un conjunto de “odds” por otro.

Oncogén: Es un gen que contribuye a convertir células normales en células cancerosas. Cualquier gen que produce la estimulación, para que una célula se divida descontroladamente, califica como un oncogén. Los oncogenes son versiones mutadas de los genes (llamados proto-oncogenes) que juegan un papel en la mitosis normal.

Panmixia: Sistema de apareamiento en el que la elección de pareja se realiza al azar.

Paracéntricas: Los dos puntos de inversión se encuentran situados en el mismo brazo cromosómico o bien son aquellas en las que el segmento invertido no incluye al centrómero.

PCR: La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una técnica de Biología Molecular que permite la rápida replicación del ADN. Con la PCR, cantidades mínimas de material genético pueden ser amplificadas millones de veces en pocas horas, permitiendo la detección rápida y fiable de los marcadores genéticos de enfermedades infecciosas, cáncer y desórdenes genéticos.

Penetrancia: Capacidad de un gen de originar un carácter dado, medida por el porcentaje de casos en los que el carácter se manifiesta.

Pericéntricas: Ambos puntos de inversión (puntos de rotura y reunión) están en brazos cromosómicos diferentes. También se pueden definir como aquellas en las que el segmento invertido incluye al centrómero y por ello pueden modificar la morfología del cromosoma.

Pirimidina: Compuesto orgánico nitrogenado formado por un anillo hexagonal que contiene cuatro átomos de carbono y dos de nitrógeno.

Pleiotropía: Es el fenómeno por el cual un solo gen es responsable de efectos fenotípicos o caracteres distintos y no relacionados.

Población en riesgo: Grupo de personas que pueden desarrollar un efecto adverso y que están potencialmente expuestas a un factor de riesgo determinado. Aquellas personas que ya han desarrollado la enfermedad se excluyen en los estudios de incidencia.

Población: Conjunto de individuos de una misma especie que viven en la misma área geográfica.

Poligénico: Rasgo fenotípico o enfermedad causado por la interacción de varios genes.

Polimerasa: Enzima que ayuda a construir moléculas y cataliza, es decir interviene químicamente, en la formación de ADN o ARN actuando como plantilla o molde a partir de ADN o ARN preexistente.

Polimorfismo genético: Situación en la que un carácter genético aparece en más de una forma en una población, lo que produce la coexistencia de más de un tipo morfológico.

Polimorfismo: Variación en la secuencia de un lugar determinado del ADN entre los individuos de una población. Aquellos polimorfismos que afectan a la secuencia codificante o reguladora y que producen cambios importantes en la estructura de la proteína o en el mecanismo de regulación de la expresión, pueden traducirse en diferentes fenotipos.

Prión: Es un agente infeccioso que se compone principalmente de proteínas.

Prognosis: Es el acto de efectuar un pronóstico sobre la base de la previsión de algo concreto que va a suceder en el futuro.

Pseudohermafroditismo: Anomalía física o trastorno de la diferenciación sexual, de tener la constitución genética de un sexo y los órganos genitales de otro.

Purinas: Las purinas son un grupo de moléculas que se encuentran en la naturaleza en todos los seres vivos. Están implicadas en una gran cantidad de rutas bioquímicas y son esenciales para la vida. Proporcionan los ladrillos del esqueleto básico del ADN y ARN.

Radiación: Emisión de energía o de partículas, por parte de una sustancia radiactiva, que se propaga por el espacio y a través de los cuerpos con un determinado poder de penetración.

Recesividad: Propiedad de un gen o de un carácter de manifestarse solamente en el sujeto homocigoto; en el heterocigoto no puede presentarse puesto que está enmascarado por el carácter dominante del gen aleomorfo.

Replicación: Reproducción exacta de una molécula de ácido nucleico monocatenario o bicatenario.

RFLP: Los fragmentos de restricción de longitud polimórfica son un tipo de polimorfismo que resulta de la variación en la secuencia de ADN reconocida por las enzimas de restricción. Estas son enzimas bacterianas que utilizan los científicos para cortar moléculas de ADN en lugares conocidos. Los RFLPs (se pronuncia "rif lips") se utilizan como marcadores en los mapas genéticos.

Ribosoma: Es un orgánulo pequeño formado por ARNr y proteínas, cuya función es colaborar en la traducción, una etapa de la síntesis de proteínas.

Riesgo: Probabilidad de que se produzcan efectos adversos o daños por exposición a un agente tóxico, a causa de las propiedades inherentes del mismo y a las circunstancias o grados de la exposición.

Salud: Estado de bienestar completo, físico, mental y social, y no meramente la ausencia de dolencia o enfermedad. Estado de equilibrio dinámico en el cual la capacidad de un individuo o un grupo para hacer frente a las circunstancias, está en un nivel óptimo.

Satélite: Segmento distal de un cromosoma que está separado del resto del mismo por un pedúnculo o constricción secundaria.

Segregación: Transmisión al azar de alelos de un locus de padres a hijos vía meiosis.

Significación, grado de (p): En un estudio comparativo, valora la verosimilitud de una hipótesis respecto a los datos empíricos. Por convenio se considera significativo (que discrepa de la hipótesis) todo desvío con un grado de significación $p < 0,05$, lo que lleva a rechazar la hipótesis.

Síndrome: Conjunto de signos y síntomas que caracterizan a una determinada enfermedad.

Síntoma: Evidencia subjetiva de una afección o enfermedad, percibida por el propio sujeto que la sufre.

Sistema nervioso central: Está constituido por el encéfalo (cerebro y cerebelo) y la médula espinal (albergada en la columna vertebral), conectados por el tronco cerebral (bulbo raquídeo).

Sistema nervioso: Conjunto de nervios, centros, tejido y ganglios nerviosos. Existen nervios sensitivos y nerviosos.

Sondas: Tubo delgado que se introduce en una persona para administrarle alimentos, extraerle líquidos o explorar una cavidad.

Susceptibilidad: Condición en la que existe una disminución de la resistencia de un individuo frente a determinada enfermedad o intoxicación, y que se experimenta con dosis a exposiciones inferiores a las habitualmente nocivas para el resto de la población.

Telomerasa: Enzima de las células que las ayuda a mantenerse vivas al agregar ADN a los telómeros (extremos de los cromosomas). Cada vez que una célula se multiplica, los telómeros pierden una cantidad pequeña de ADN y se acortan. Con el transcurso del tiempo, los cromosomas se dañan y las células mueren. La telomerasa ayuda a evitar que esto ocurra.

Terapia génica: Es un tratamiento médico que consiste en manipular la información genética de células enfermas, para corregir un defecto genético o para dotar a las células de una nueva función que les permita superar una alteración.

Teratógeno: Agente que por administración a la madre en período prenatal, induce a malformaciones estructurales o defectos a la descendencia.

Toxicología: Disciplina científica dedicada al estudio del peligro actual o potencial presentado por los efectos nocivos de las sustancias químicas sobre los organismos vivos y ecosistemas, de las relaciones de tales efectos nocivos con la exposición, y de los mecanismos de acción, diagnóstico, prevención y tratamiento de las intoxicaciones.

Traducción: Es el paso de la información transportada por el ARN-m a proteína. La especificidad funcional de los polipéptidos reside en su secuencia lineal de aminoácidos que determina su estructura primaria, secundaria y terciaria. De manera que los aminoácidos libres, que hay en el citoplasma, tienen que unirse para formar los polipéptidos y la secuencia lineal de

aminoácidos de un polipéptido depende de la secuencia lineal de ribonucleótidos en el ARN, que a su vez está determinada por la secuencia lineal de bases nitrogenadas en el ADN.

Transcripción reversa: Proceso por el cual se realiza la síntesis de una cadena de ADN a partir de una de ARN.

Transcripción: Proceso por el que la información genética, codificada en una secuencia lineal de nucleótidos, en una rama de ADN, se copia en una secuencia exactamente complementaria de ARN.

Translocación: Anomalía cromosómica debida al cambio de posición de un segmento cromosómico. El segmento translocado puede situarse en el mismo cromosoma (translocación intracromosómica) o en otro cromosoma (translocación intercromosómica).

Transposón: Secuencia de DNA que puede moverse de un lugar a otro del cromosoma, insertar copias adicionales de ella misma en otros puntos o pasar de un cromosoma a otro. Tramo de DNA que puede incorporarse en otras moléculas de DNA en lugares donde no hay homología de secuencia.

Tumor: Inflamación o crecimiento anormal de un tejido, ya sea benigno o maligno.

Variabilidad genética: La variabilidad genética es una medida de la tendencia de los genotipos de una población a diferenciarse. Los individuos de una misma especie no son idénticos. Si bien son reconocibles como pertenecientes a la misma especie, existen muchas diferencias en su forma, función y comportamiento.

Índice analítico

A

Ácido retinoico, 21
 Acrocéntrico, 241-5, 274-8, 354
 Adaptabilidad, 51, 308
 ADN de secuencias repetidas, 34, 128, 136
 ADN de secuencias únicas, 34
 ADN espaciador, 34-5
 ADN espaciador intergénico, 34
 ADN minisatélite, 35
 ADN mitocondrial, 65-6, 68, 153, 199
 ADN para proteínas histonas, 34
 ADN satélite, 35
 ADN telomérico, 34
 Alelo, 49-54, 62-3, 65, 72-3, 104-9, 111-3, 124, 147, 150-2, 156, 165, 167-71, 176, 179-80, 192-202, 212, 216
 Alteraciones cromosómicas, 6, 7, 9, 15, 19, 26, 77-8, 210-2, 226, 237, 242, 245, 250-1, 263, 272-4, 277, 329
 Alteraciones de sexo gonadal, 264
 Alteraciones fetales, 43, 281
 Altura, 18, 19, 95, 119
 Aminoácido, 40, 69, 103, 113, 117-18, 146, 157, 172, 177, 180, 192, 208-10, 283, 354
 Amniocentesis, 285, 291
 Aminopterina, 21
 Análisis absoluto, 122, 128
 Análisis relativo, 122
 Aneuploidía, 243, 250, 275, 277, 354
 Anticoagulante, 21
 Anticuerpo, 34-5, 103, 185, 282, 354
 Antígeno, 104, 185, 187-8, 193, 198, 263, 265, 354
 Apo E, 146-7, 150-2
 Arrays, 137, 253-4, 256
 ARN mensajero, 115-6, 119, 122, 137-9, 354
 ARN ribosómico, 65, 118-9, 355
 ARN de interferencia, 137, 141
 ARN de transferencia, 65, 116, 119, 354
 Artritis reumatoidea, 200, 277
 Autoinmunidad, 276
 Autosomas, 59, 241
 Autosómico dominante, 80, 243
 Autosómico recesivo, 177, 243, 263
 Autosomopatías, 251-2

B

Bandeamiento gtg, 238
 Biología Molecular, 103, 105, 120, 198, 294, 308, 361
 Biopsia corial, 7, 285, 287, 290-2
 Biosaqueo, 301, 307
 Bioseguridad, 128, 298-9, 307-8, 316-7, 355
 Biodiversidad, 11, 217, 300, 307-11, 315
 Busulfan, 21

C

Caja CAT, 113
 Caja TATA, 113-4
 Cáncer, 6-7, 9, 19, 21, 35, 40, 43, 58, 68, 74, 83, 113, 130, 135, 149, 185, 187-9, 194-5, 208-10, 212, 215-7, 220, 222-5, 228-30, 232-3, 245, 276, 289, 297, 301, 309, 311, 313, 315
 Carcinógenos, 41, 209, 214-5, 217, 219-20, 327, 355, 359
 Cardiopatías congénitas, 58, 286
 Cariotipo, 25, 59, 95, 128, 210-1, 214, 237, 241, 243, 250-1, 253, 255-6, 265, 290, 355
 CCR2, 195-8
 CCR5, 52, 74, 195-8
 CD209, 187-91, 193
 CFTR, 113, 168-70
 CST3, 146, 149, 152-4
 CTSD, 146, 148, 152-4
 CYP1A1, 214-7
 CXCL12, 195-7
 Célula/s, 3-8, 10, 23, 31, 34-6, 42-3, 53, 65-8, 72-3, 95, 103, 114, 116-7, 119, 137, 140, 146, 148, 151, 156, 163-5, 171-2, 174, 185, 187-8, 191, 193-5, 197, 205-9, 214-5, 228-30, 238-9, 241, 244, 264, 270-3, 279, 283, 285, 290, 297, 299, 312-3, 316, 354-6, 358-9, 361, 363
 Centrómero, 35, 241-2, 246, 248-9, 254, 277, 354-5, 360-1
 Cistrón, 10, 356
 Citogenética, 3, 5-8, 10, 32, 76, 230, 233, 237, 243, 252, 275, 280, 283, 285, 287, 289, 291, 356
 Clastógeno, 41, 356
 Clorambucil, 21, 45
 Código genético, 5, 8, 32, 66, 113, 117-8, 307, 356
 Complejo mayor de histocompatibilidad, 198, 356
 Consanguinidad, 51, 54, 57-8, 74, 78-9, 89, 289, 356
 Consulta genética, 26, 57, 64
 Craniosinostosis, 356
 Cromosoma/s, 6, 8, 10, 15, 20, 24, 32, 34-5, 40, 42, 57-8, 63-4, 72-3, 95, 103-4, 111, 113, 116, 118-9, 121, 127-8, 135, 146-50, 154, 156, 164, 168-73, 175, 177-8, 186-8, 195-9, 208-10, 215-6, 224, 226-8, 230, 237-57, 261-2, 264, 270, 274-80, 283-5, 293, 308, 310, 354-60, 363-4
 Cromosomopatía, 15-7, 26, 77-8, 94, 243, 247, 250-1, 273-4, 277, 280-1, 283-5, 289, 292-3, 357
 Crossing over, 53, 250, 356
 Cultivo de linfocitos, 6, 283

D

Darwin, 5, 6

Deformación, 22, 23
 Deleción, 67, 72, 168, 170, 173, 177-9, 195, 225, 245, 248-9, 251, 357
 Deriva génica, 49, 51-3, 357
 Diabetes, 15-6, 20, 61, 83, 94, 105, 113, 169, 174, 282, 312
 Diagnóstico genético, 8, 25, 57, 155, 241, 303
 Diagnóstico prenatal, 6, 7, 57, 159, 171, 173, 243, 278, 282, 285, 287, 290-4, 302, 303
 Diferenciación sexual, 20, 261-6, 269, 279, 280, 362
 Discapacidad, 83-6, 88-90, 94, 95, 97, 99, 176, 178, 282, 289, 294
 Discapacidad intelectual, 84-6, 89, 90, 99, 178
 Disgenesia gonadal, 264, 265
 Dismorfología, 19, 357
 Distrofia muscular de Duchenne, 8, 64, 94, 163, 171, 174, 272, 273, 276
 Distrofia muscular de Becker, 8, 64, 171
 DMD, 64, 171-4
 Duplicación, 34, 39, 95, 115, 231, 245, 274

E

ECLAMC, 16-8, 318, 357
 Ecuador, 3, 5-9, 11, 15-9, 25, 62-4, 70-1, 76, 83-6, 88-90, 94-7, 99, 106, 110, 145-59, 163-81, 185-202, 205-33, 248, 250, 275, 278, 289, 290, 293, 294, 307, 314
 Embriología, 5, 7, 20, 357
 Empalme alternativo, 10, 113, 114, 116, 117, 120, 357
 Empaquetamiento del ADN, 32
 Enfermedades congénitas, 63, 64, 163-81
 Enfermedades crónicas, 16, 20, 83, 282, 357
 Enfermedad de Alzheimer, 113, 145-9, 151-4, 208
 Enfermedad de Hirschsprung, 163, 164, 167, 168
 Enfermedad de Huntington, 63, 72, 107, 154, 156-9, 311
 Enfermedades neurodegenerativas, 9, 63, 145-59
 Enzima, 10, 18, 43, 52, 63, 65, 103, 105, 107, 108, 114, 115, 120, 121, 131, 139, 145, 147, 148, 150-3, 159, 168, 171, 205, 206, 209, 210, 212, 214-6, 225, 233, 264, 275, 277, 285, 286, 288, 290-2, 357, 359, 360, 362, 363
 Epigenética, 11, 73, 308, 357
 Esterilidad, 15, 44, 225, 274, 279, 280, 284, 292
 Estreptomina, 21, 45
 Etiología, 19, 20, 24, 43, 80, 89, 164, 170, 357
 Eucromatina, 32, 120, 283, 357
 Eugenesia, 4, 7, 300
 Eutanasia, 9, 300, 358
 Exoma, 130, 135, 358
 Exón, 10, 65, 109, 112-7, 120, 146, 148, 149, 154, 156, 165, 169, 170, 172-4, 178, 179, 209, 210, 216, 357, 358
 Expresión génica, 120-7, 137, 140, 358

F

Factor de determinación testicular, 262
 Factores de crecimiento, 271, 358
 Fármaco, 9, 41, 44, 45, 57, 136, 145, 159, 288, 289, 293, 297, 312, 313, 358
 Fenilcetonuria, 21, 94, 114, 272, 278, 283
 Fenotipo, 5, 6, 8, 11, 31, 49, 50, 53, 59-64, 67, 68, 72-5, 80, 89, 104-6, 154, 155, 167, 193, 238, 244-6, 250, 251, 253-6, 261, 262, 264, 269, 274, 275, 356, 358, 362
 Fibrosis quística, 8, 28, 63, 73, 113, 136, 163, 168, 272, 276
 FISH, 7, 225, 243, 245, 254
 Fluorocromo, 125, 129, 132, 237, 358
 Fragmento de Okazaki, 358
 Frecuencia, 7, 16-9, 23, 24, 39, 41, 49-51, 53, 59-62, 70, 76-8, 80, 89, 90, 99, 103-8, 111-3, 122, 128, 145, 150-4, 164-8, 170, 176, 178, 180, 185, 189, 190, 193, 195, 196-202, 209-12, 216, 229, 230, 232, 244, 248, 250, 271-4, 277, 282, 286, 288, 291, 292, 357-9
 Funiculosentesis, 291, 358

G

Gen, 8-11, 18, 20, 31, 32, 34, 35, 40, 42, 49, 51-4, 59, 62-6, 68-74, 76, 80, 103-105, 107, 109, 110, 113-20, 122, 126-8, 130, 135-7, 141, 146-57, 164-79, 181, 186-9, 193, 195-200, 208-10, 212, 214-6, 224, 225, 227, 239, 244, 251, 254, 258, 261-3, 269, 270, 274-6, 278, 282, 287, 288, 291, 292, 297, 300, 311-4, 356-62
 Genealogía, 4, 59-61, 63, 64, 77, 199, 288, 292, 301, 358
 Genes endógenos, 119, 122, 126, 127
 Genética humana, 3, 4, 8-10, 32, 59, 171, 237, 298, 300, 302, 303, 310, 314
 Genoma, 8-10, 32-5, 39, 40, 52, 65-9, 107, 108, 110, 112-5, 121, 123-6, 128-30, 132, 134-6, 139, 140, 155, 172, 186, 187, 208, 225, 228, 230, 239, 292, 294, 300, 311-4, 358, 359
 Genotipo, 11, 35, 49, 50, 59, 62, 68, 72-5, 80, 105, 106, 108, 109, 147, 150-4, 165, 167, 168, 171, 180, 181, 189-91, 193, 194, 216, 250, 262, 269, 275, 356, 358, 359, 361, 364
 Genotóxico, 7, 9, 41, 205-33, 289, 316, 359
 Giemsa, 242, 277, 283
 GJB2, 177, 178, 179, 181
 GJB6, 177-9
 Glifosato, 90, 205-13
 Glucogenosis, 272, 278
 Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, 52, 276, 311
 Gonosomopatías, 15, 251, 257, 280
 GPX-1, 146, 147, 150-2
 GSTP1, 208-12

H

Hamartosis, 26, 28
 Hardy-Weinberg, 9, 49, 51, 106, 359
 Hematológico, 217, 282

Hélice G-cuádruple, 35
 Hemocromatosis, 8, 163, 174-6, 318
 Hemofilia, 39, 64, 271-2, 276, 286
 Hemoglobina, 10, 52, 311, 359
 Hepatitis, 44, 105
 Herencia dominante, 62-4, 75, 80, 359
 Herencia dominante ligada al sexo, 64
 Herencia ligada al Y, 65
 Herencia mitocondrial, 10, 31, 65, 243
 Herencia por impresión génica, 10, 59, 243
 Herencia por impresión genómica, 275
 Herencia recesiva ligada al sexo, 62
 Hermafroditismo verdadero, 263, 265
 Heterocigoto, 10, 50-2, 61-5, 74, 106, 124, 167, 170, 180-1, 190-1, 250, 270, 278, 356-7, 359, 362
 Heterocromatina, 32, 63, 119, 283, 359
 HFE, 175-6, 320
 Hidrocarburos, 9, 41, 215, 217-9, 222-4, 318
 Hipoacusia, 63, 176-9, 180-1, 255
 Historia familiar, 25, 278, 285, 292
 Homocigoto, 10, 50, 54, 61-2, 106-7, 124, 170, 175, 180-1, 190-1, 194, 198, 270, 357, 359, 362
Homo sapiens, 4, 310, 359
 HTT, 154-6, 159

I

Idiograma, 241, 359
 IFNGR1, 188, 191-4
 Impresión génica, 10, 31, 59, 156, 243
 Infecciones, 20, 58, 74, 90, 93, 140, 169-70, 187-8, 192, 194-5, 221, 286, 311, 317, 358
 Infertilidad, 15, 21, 42, 168, 221, 225, 274, 279, 280, 284, 292
 Inserción, 40, 68, 214, 245, 249
 Instituto de Investigaciones Biomédicas, 9, 120, 251-2, 318
 Intersexo masculino, 264
 Intersexo virilizante, 264
 Intrón, 10, 69, 112-6, 164-6, 172-3, 314, 357, 360
 Inversión, 15, 248-9, 254, 313, 315, 316
 Investigación, 3, 5, 7, 9, 16, 26, 35-6, 63-4, 68-9, 79, 90, 94-5, 104, 120, 137, 140-1, 145-6, 154, 163-7, 175-6, 178, 185-7, 194, 196, 198-9, 205-7, 212, 214, 217, 222-6, 228, 230, 232, 244, 251-2, 272, 297-303, 307-9, 311, 313, 315-6, 318

L

Lesch Nyhan, 272
 Ligado al sexo, 59, 243, 276
 Líquido amniótico, 283, 285, 287, 291-3
 Lupus, 105, 277

M

Malformación, 4, 5, 7, 16-26, 41, 43-5, 75, 81, 94, 210, 220, 225, 243, 277-9, 281, 282-5, 287, 289, 293-4, 302, 318, 355, 357, 360, 363

Manipulación genética de embriones, 297, 300
 Manipulación perinatólogica, 300
 Meiosis, 43, 114-5, 250, 279-80, 356, 360, 363
 Mendel, 4-6, 10, 31, 52, 58-9, 61-2, 65, 68, 80, 106, 135, 318
 Metacéntricos, 241, 360
 Metotrexato, 21, 45
 Misión Solidaria Manuela Espejo, 83-5, 88, 95, 289, 318
 Mitocondria, 10, 31-2, 59, 65-9, 71, 103, 111, 113-5, 146, 149-50, 153, 158-9, 199, 206, 225, 243, 311, 360
 Mitosis, 6, 42-3, 73, 114-5, 244, 250, 283, 360-1
 MnSOD, 146, 149-153
 Mosaico, 73, 95, 244, 248-50, 252, 257, 263-4, 275
 Mucopolisacaridosis, 27, 272
 Mutación, 8, 10-1, 21, 24, 32, 39, 40-3, 49, 51-3, 62, 65, 86, 95, 103-5, 110, 115-6, 118, 120, 124, 130, 148-51, 164, 166, 169-82, 198, 209-10, 232, 244, 271-3, 282, 310, 356-61
 Mutación sin sentido, 180
 Mutagénicos, 20, 41, 215, 233, 244, 289, 303, 316, 361

N

Nucleosoma, 238-9, 240, 361
 Nucleótido, 32, 40, 49, 103, 111-13, 117-8, 124, 129, 131-3, 137, 139, 170, 180, 210, 311, 361

O

OMS, 213, 301, 316
 Oncogén, 164, 166, 168, 361
 OPS, 286, 301
 Osteocondrodiasplasia, 26, 28
 Osteogénesis imperfecta, 63, 114, 272

P

Panmixia, 49, 361
 Paracéntricas, 248, 249, 361
 Paternidad, 8, 108-10
 Patologías genéticas, 9, 94, 302
 PCR, 8, 69, 107, 109, 120-6, 128, 130, 155, 156, 167, 169, 170, 172-5, 179, 189, 199, 361
 Penetrancia, 57, 62, 63, 75, 79, 80, 154, 155, 164, 180, 205, 361
 Pericéntrica, 248, 249, 361
 Perinatal, 25, 88, 90-2, 94, 98, 99
 Pesticida, 7, 9, 41, 45, 90, 205-7, 210, 213-7
 Pirimidina, 32, 33, 70, 230, 354, 361
 Pleiotropía, 63, 361
 Poligénico, 31, 73, 74, 286, 362
 Polimerasa, 8, 107, 115, 119, 120, 124, 130, 133, 208, 233, 361, 362
 Polimorfismo, 8, 10, 18, 19, 32, 40, 49, 70, 71, 103, 105-12, 118, 124, 129, 130, 136, 146-9, 153, 154, 164-8, 179, 180, 187-94, 196, 197, 208-10, 212, 214-6, 257, 277, 278, 311, 312

Postnatal, **19, 72, 88, 90, 93, 94, 98, 99, 269**
 Prenatal, **6, 7, 57, 58, 88-91, 94, 98, 99, 171, 173, 243, 276, 278, 282, 285, 287, 290-4, 302**
 Proyecto ENCODE, **135-7, 318**
 Proyecto genoma humano, **10, 135, 313, 314**
 Proyecto varioma humano, **135, 136, 318**
 Pseudohermafroditismo femenino, **257, 263, 265**
 Pseudohermafroditismo masculino, **257, 263, 265**
 Purina, **32, 33, 70, 71, 354, 362**

Q

Quimeras, **39, 250, 264**
 Quito, **7, 8, 16-7, 19, 61, 76, 106, 223, 250, 277, 291**

R

Radiación no ionizante, **43**
 Radiación ionizante, **9, 21, 41, 42**
 Reacción en cadena de la polimerasa, **107, 120, 361**
 Repetición en tándem, **154**
 Replicación, **20, 33, 35, 67, 114, 115, 134, 232, 233, 239, 270, 355, 359, 361, 362**
 RET, **164-8**
 Retinoblastoma, **28, 251, 272, 273**
 RFLP, **107, 167, 362**
 Ribosoma, **118, 362**

S

Satélite, **6, 35, 118, 241, 243, 277, 278, 354, 363**
 Secuenciación, **8-10, 70, 71, 120, 128-35, 155, 156, 178, 287**
 Segregación, **39, 45, 244, 250, 363**
 Síndrome de Beckwith-Wiedemann, **27, 251**
 Síndrome de DiGeorge, **251**
 Síndrome de Down, **6, 7, 17, 18, 39, 89, 94-7, 245, 272-5, 282, 289-91**
 Síndrome de genes contiguos, **251**
 Síndrome de Klinefelter, **7, 64, 94, 105, 149, 150, 257, 264, 265, 280**
 Síndrome de Langer-Giedion, **251**
 Síndrome de Marfan, **28, 94, 272, 273**
 Síndrome de Martin Bell, **27, 39, 105, 249, 276, 283**
 Síndrome de Miller-Dieker, **251**
 Síndrome de regresión sexual, **264**
 Síndrome de testículos rudimentarios, **264**
 Síndrome de Turner, **6, 43, 94, 105, 249, 257, 264, 275, 276, 280**
 Síndrome de X frágil, **8**
 Sistema de histocompatibilidad, **104**
 Solenoide, **114, 238-40**
 Sondas, **122, 124, 125, 172, 237, 254, 363**
 SRY, **261-3**
 Submetacéntrico, **241**

T

Talidomina, **90**
 Telocéntrico, **241-2**
 Telomerasa, **263**
 Telómero, **34-5, 241, 248-9, 363**
 Terapia génica, **10, 297, 300, 313**
 Terapia intrauterina, **282, 288**
 Teratógenos, **41-4**
 Teratología, **19, 20**
 Tetraciclina, **21, 44, 68**
 TLR2, **186, 189-91**
 TLR4, **186-91**
 Topoisomerasa, **239**
 Traducción, **117, 137, 140-1, 210, 352, 359, 363**
 Transcripción, **113-6, 119-20, 136-7, 141, 157, 159, 192-3, 239, 357, 364**
 Transgénico, **141, 312**
 Translocación, **245-7, 252, 256-7, 289-90, 364**
 Transposón, **364**
 Trisomía, **40, 43, 94-5, 105, 249, 252, 254, 257, 275, 289-90**

U

Úlcera gástrica, **105**
 Ultrasonografía, **285**

V

Variabilidad genética, **49, 51, 71, 103, 270, 309, 364**
 VNTR, **107, 128**

W

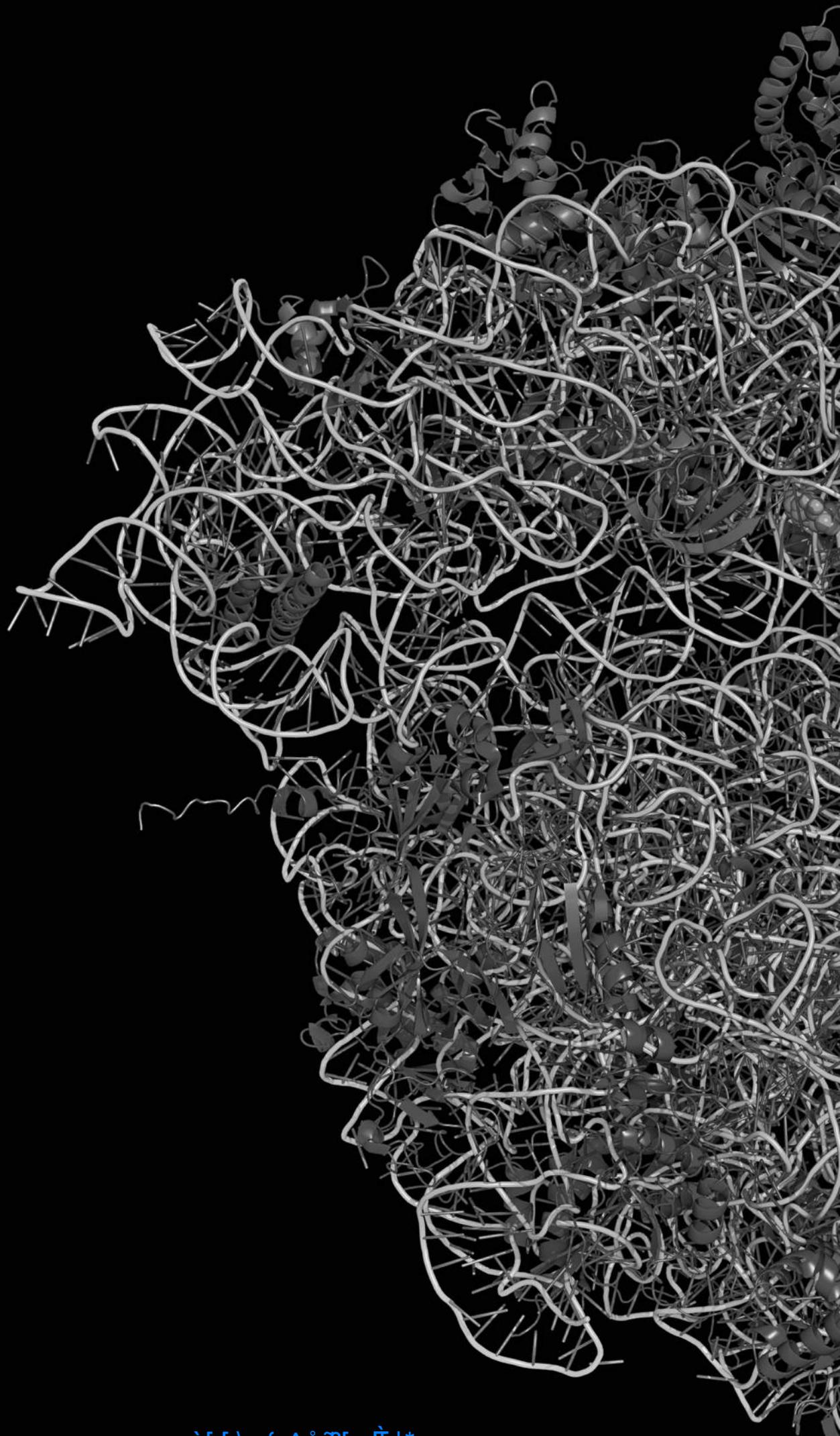
Warfarina, **21, 45**

X

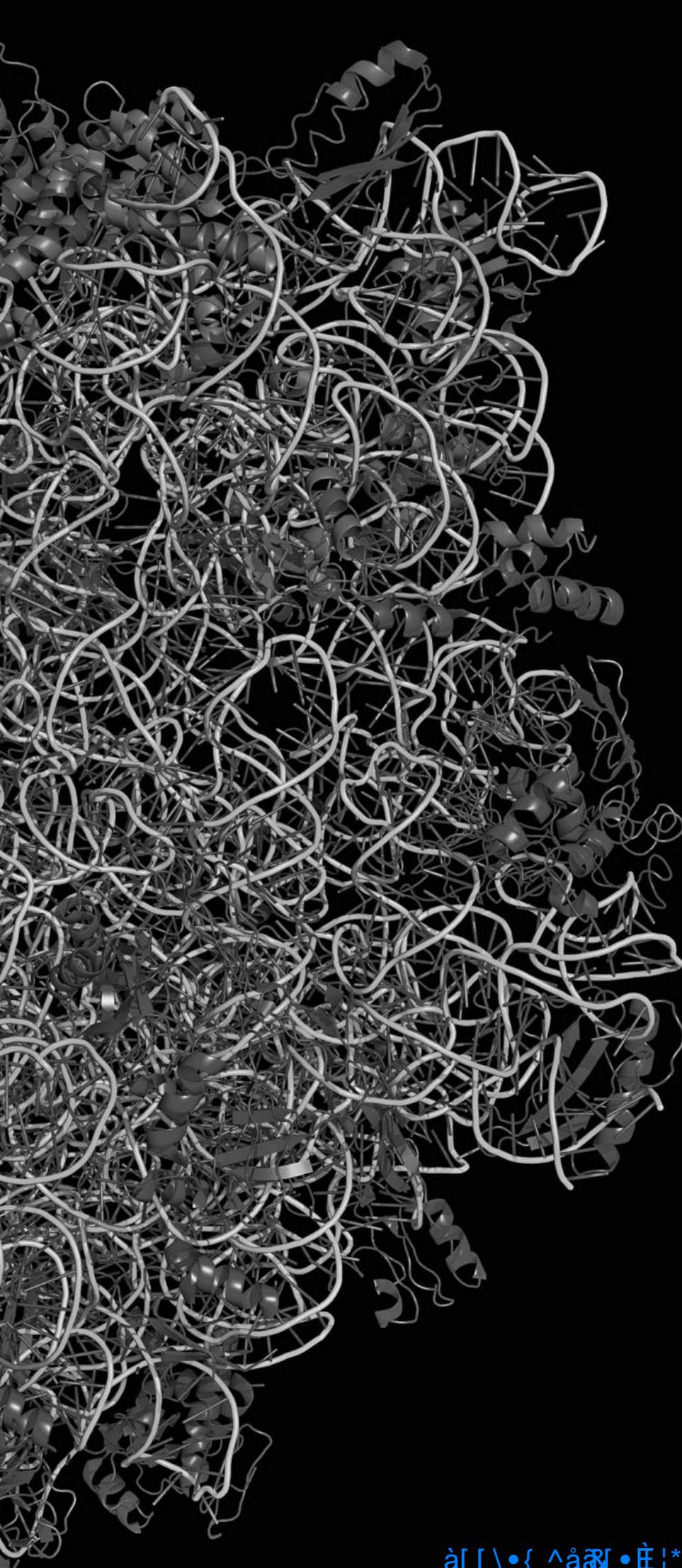
XRCC1, **208-9, 211-12**

Z

Zn fingers, **119**



à [\ • { ^ ¨ ¢ ¤ • ¶ ! *



à [\ • { ^ º æ [• ð ! *

Genética Molecular y Citogenética Humana

El libro GENÉTICA MOLECULAR Y CITOGENÉTICA HUMANA detalla información específica y de fácil entendimiento acerca de los procesos genéticos, moleculares y cromosómicos que ocurren en las células humanas. Este libro brinda una extensa revisión bibliográfica desde el descubrimiento de la célula, de la doble cadena del ADN, hasta la actualización de los descubrimientos científicos y técnicas moleculares más relevantes en el campo científico como el descubrimiento de la hélice G-cuádruple del ADN y la secuenciación genómica. Además, el libro narra sobre el desarrollo de la Genética Humana y analiza datos muy valiosos como el origen de las discapacidades en el Ecuador o la incidencia de síndromes genéticos estudiados los últimos 20 años. Los 17 capítulos que conforman este libro son: *Historia de la Genética en el Ecuador. Impacto social de los trastornos genéticos. Conceptos básicos de la Genética Molecular. Población de riesgo genético. Nociones sobre Genética de Poblaciones. Patrones de la herencia. Origen genético de las discapacidades en el Ecuador. Biología Molecular y caracterización de poblaciones humanas. Investigaciones moleculares en el Ecuador: Enfermedades neurodegenerativas, enfermedades congénitas, inmunología, genotoxicología. Citogenética. La genética de la diferenciación sexual. Aspectos genéticos del crecimiento y desarrollo. Aspectos bioéticos en la investigación. Biodiversidad y bioseguridad en la genética.* Finalmente, este libro científico ha sido certificado por científicos internacionales bajo el sistema de revisión por pares, obteniendo los mejores comentarios debido a su actualización y aporte para el Ecuador.



Instituto de
Investigaciones
Biomédicas



ISBN 978-9942-07-508-6



9 789942 075086