



Diagnóstico prenatal y diagnóstico pre-implantacional en Epidermólisis bullosa

Dra. M^a José Trujillo-Tiebas

Dpto. de Genética

IIS-Fundación Jiménez Díaz

La Epidermólisis bullosa engloba un conjunto de genodermatosis que presentan, tanto desde el punto de vista clínico como genético, características muy heterogéneas. Actualmente está enmarcada dentro de las enfermedades consideradas como "raras" debido a la baja frecuencia de aparición en la población general.

El rasgo clínico más significativo es la fragilidad extrema de la piel y de las mucosas siendo debida esta fragilidad a defectos en los mecanismos de adhesión entre los distintos estratos de la piel provocando una separación anómala de éstos.

Clínicamente hablando, podemos distinguir en esta patología tres grandes grupos en función de la capa de la piel que se encuentre afectada: EB simple (cuando se produce afectación de la epidermis), EB Juntural (cuando está afectada la zona intermedia entre epidermis y dermis) y EB Distrófica (cuando se encuentra afectada la dermis).

Genéticamente hablando, pueden presentar distintos modelos de herencia: Autosómico Dominante, Autosómico

Recesivo o Ligado al cromosoma X, además de ser numerosos los genes involucrados en estas patologías.

Para conocer qué gen hay que estudiar, primero hay que realizar una historia clínica completa del paciente donde se recaban los datos clínicos como: presentación de los síntomas, inicio de los mismos, resultado de pruebas analíticas y de la biopsia cutánea; e información sobre el paciente y su familia, que incluirán todos los antecedentes familiares de interés. Para ello, se realiza la construcción del árbol genealógico en donde se refleja, entre otras cosas, la edad de los padres, la posible consanguinidad y el origen geográfico de la familia. Todos estos datos serán de interés para establecer cuál será el gen a estudiar y todo ello condicionará a su vez la estrategia de estudio en el laboratorio. Resultados que serán cruciales para establecer un adecuado "CONSEJO GENÉTICO" para cada situación en particular.

El consejo genético se define como:

"El proceso de comunicación en el que, tras la necesaria valoración clínica, se proporciona información objetiva a individuos afectados de una enfermedad genética concreta y/o a sus familiares".

Por tanto, la información de los resultados en el individuo afecto y sus familiares debe contemplarse bajo las características propias de la enfermedad y la diferente manifestación clínica de cada caso y debe aportar información sobre tratamientos curativos o paliativos si es que existen. También debe aportar una explicación clara sobre el riesgo de que alguien más en la familia pueda desarrollar la misma patología.

El consejo genético lo debe proporcionar un profesional de la salud que esté capacitado con el adecuado entrenamiento (genetista clínico; consejero genético, o enfermera).

Una vez detectada la mutación en la persona afecta, el diagnóstico prenatal técnicamente es abordable. Para ello, la pareja solicitante debe ser asesorada desde una consulta de genética, donde será adecuadamente informada del tipo de opciones reproductivas a las que puede optar así como de las técnicas obstétricas que se utilizan para acceder al ADN

Técnicas obstétricas invasivas

Biopsia corial:

Se obtiene una muestra de vellosidades coriales.
Se realiza a partir de la semana 10 de la gestación.
Presenta un riesgo de pérdida fetal del 1-2%.

Amniocentesis:

Se obtiene una muestra de líquido amniótico de la cavidad amniótica mediante una punción abdominal.
Se realiza en el segundo trimestre de gestación, principalmente entre las semanas 15 y 20 de gestación.
Presenta un riesgo de pérdida fetal del 0,5-1%.

Cordocentesis o funiculocentesis:

Se obtiene una muestra de sangre fetal a través del cordón umbilical.
Se realiza a partir de la semana 20 de gestación.
Presenta un riesgo de pérdida fetal del 2-3%.

del feto (a partir de células presentes en líquido amniótico o en vellosidades coriales) y del riesgo que se corre con el uso de estas técnicas ya que son técnicas invasivas. Una vez tomada la decisión de realizar el diagnóstico prenatal, el estudio se hace de forma personalizada. Por tanto, el diagnóstico prenatal es posible siempre y cuando se conozca la mutación y el gen responsable.

Una de las novedades que se están desarrollando dentro del campo del Diagnóstico Prenatal es el Diagnóstico Prenatal No Invasivo (DPNI) en sangre materna. Este diagnóstico se basa en el estudio de ADN fetal presente en plasma materno. La gran ventaja que presenta este método frente al diagnóstico prenatal convencional es que no implica ningún riesgo para el feto ni para la madre al realizarse a partir de una muestra de sangre materna. Aunque a día de hoy, dos tests de DPNI están ya disponibles en la práctica clínica, su aplicación para el diagnóstico de enfermedades monogénicas aún se encuentra en investigación. Una de las mayores limitaciones que presenta este tipo de diagnóstico es que en la muestra de plasma materno el ADN fetal coexiste con cantidades mucho mayores de ADN de origen materno. La coexistencia de los dos ADNs en la muestra limita estos estudios al análisis de regiones que hayan sido heredadas de novo o vía paterna y no estén presentes en el genoma materno, para poder así asegurar su origen fetal en caso de ser detectadas en la muestra. A pesar de esta limitación hay multitud de publicaciones demostrando la eficacia de este método para la detección de mutaciones.

Hoy en día además existe la posibilidad de, mediante técnicas de reproducción asistida, realizar un diagnóstico de embriones para asegurar la implantación de aquellos que se encuentren libres de la enfermedad, evitando así la posibilidad de interrupciones legales del embarazo en gestaciones espontáneas que, tras estudio prenatal molecular, den lugar a un feto afecto. Es lo que se conoce como diagnóstico de preimplantación (DGP). Este diagnóstico es posible en España de forma oficial tras la aprobación de la Ley 14/2006, de 26 de mayo, sobre técnicas de reproducción humana asistida. Este diagnóstico contempla la posibilidad de ofrecer una opción reproductiva alternativa a las familias que presentan enfermedades hereditarias graves, de aparición precoz y para las que todavía no existe cura.

Para ello, las parejas tienen que asistir además a un Servicio de Reproducción Asistida con experiencia en el manejo de este tipo de diagnósticos que trabaje coordinadamente con un Servicio de Genética para posteriormente someterse a un tratamiento largo con el objeto de conseguir un número determinado de embriones para analizar. Esto se consigue con una estimulación ovárica controlada en la mujer.

Previamente al diagnóstico embrionario, es necesario realizar un estudio de "informatividad en la pareja" para elegir los marcadores genéticos más adecuados. Es decir, los marcadores genéticos que más información nos proporcionen para esa pareja en particular y las posibles combinaciones de los mismos en posibles embriones. A partir de la combinación de la información genética que aportan éstos, podremos estimar los resultados que darían los posibles embriones (afectos/sanos). Si el estudio de marcadores genéticos resultase "no informativo", es posible que la pareja no se considerase apta para el diagnóstico genético preimplantación, dependiendo de la estrategia diagnóstica a seguir posteriormente.

En el caso de que la pareja resultase apta para este estudio, la futura madre (tanto si es ella la afectada como si el afectado es el varón) ha de someterse a un tratamiento farmacológico de estimulación ovárica, consistente en la inyección de hormonas estimulantes con la finalidad de que maduren varios óvulos en el mismo ciclo. Cuando esto se ha conseguido, en la clínica se le extraen los óvulos (folículos maduros) y se fecundan in vitro, y así se consiguen los embriones. Cuando éstos empiezan a formarse y ya tiene

Características del ADN fetal

- Es de origen placentario
- Se extrae del plasma materno
- Coexiste con el ADN materno
- Está muy fragmentado
- Está a baja concentración
- Va en aumento en la gestación
- Desaparece tras el parto

Requisitos para la realización del Diagnóstico Genético Preimplantación

- Confirmación diagnóstica en el afecto con técnicas de genética molecular.
- Consejo genético a la pareja.
- Estudio de fertilidad previo a la pareja
- Estudio de todos los marcadores genéticos posibles en la pareja para personalizar el estudio.
- Asistencia con técnicas de reproducción asistida.
- Biopsia de los embriones conseguidos.
- Realización del estudio por parte de personal de genética con experiencia específica en el diagnóstico.

(1) Masa esférica maciza de células procedente de la división del óvulo fertilizado en los primeros estadios del desarrollo embrionario. Representa una fase intermedia entre el cigoto y el blastocisto, y está compuesta por blastómeros uniformes en cuanto a tamaño, forma y potencialidad fisiológica.



unas ocho células, (inicio de la mórula¹), se biopsia una célula de cada embrión y se envía al laboratorio de Genética para realizar el diagnóstico que dictaminará qué embriones son portadores de la enfermedad y cuáles no y, por tanto, sanos. Este estudio debe realizarse en un período no superior a 24 horas.

De los embriones considerados “aptos” genéticamente se han de seleccionar de nuevo desde el punto de vista embriológico, que serán los embriones (dos o tres) que presentan mejores características morfológicas para ser transferidos al útero materno y por tanto tengan más garantía de implantación. Al transferirse varios embriones no es infrecuente que se implante más de uno y que se desarrolle un embarazo múltiple.

Si fracasa el proceso por alguna razón, la mujer debe someterse a un nuevo ciclo de estimulación ovárica para comenzar de nuevo el proceso.

La pareja debe ser informada en todo momento de cómo va el proceso y, sobre todo, debe conocer que la tasa de embarazo tras el sometimiento a estas técnicas es bajo (menos del 20% en cada ciclo que se intente) y que a esto hay que sumar el error diagnóstico que se estima en torno a un

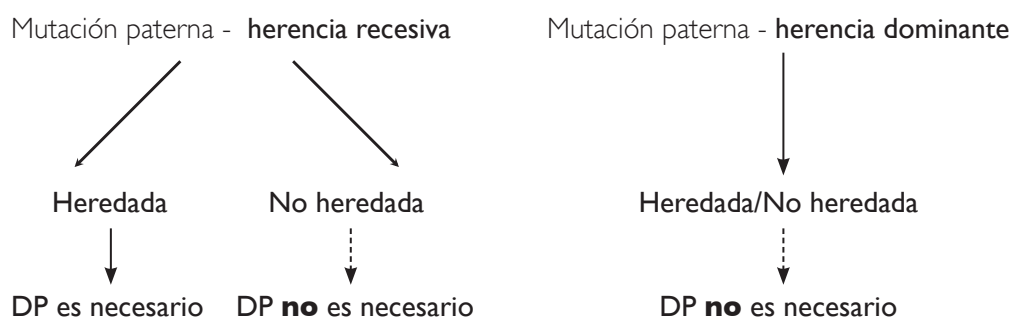
10%, por lo que el protocolo recomienda, a pesar de todo, someterse a un diagnóstico prenatal una vez instaurado el embarazo para confirmar los resultados.

El diagnóstico genético prenatal y de preimplantación están incluidos dentro de las prestaciones del Sistema Nacional de Salud por lo que el procedimiento es gratuito para las parejas portadoras de Epidermólisis bullosa que deciden ir a través del sistema sanitario público.

El sistema sanitario público cubre tres ciclos en aquellas parejas que no tengan ningún descendiente sano, en donde la madre tenga una edad inferior a 38 años, excluyendo del tratamiento a mujeres mayores de cuarenta años ya que las parejas deben ser fértiles y la mujer tener una buena respuesta a la estimulación hormonal. Hay que tener en cuenta que actualmente existen listas de espera en los centros de referencia seleccionados para tal fin por lo que aconsejamos a las parejas que deseen tener hijos mediante éstas técnicas, se decidan lo antes posible. Del mismo modo, actualmente es posible acudir de forma particular a alguno de los centros privados que realiza este tipo de diagnóstico en nuestro país, siendo en este caso asumido el coste económico por la pareja.

Después del DPNI se puede evitar el DP convencional

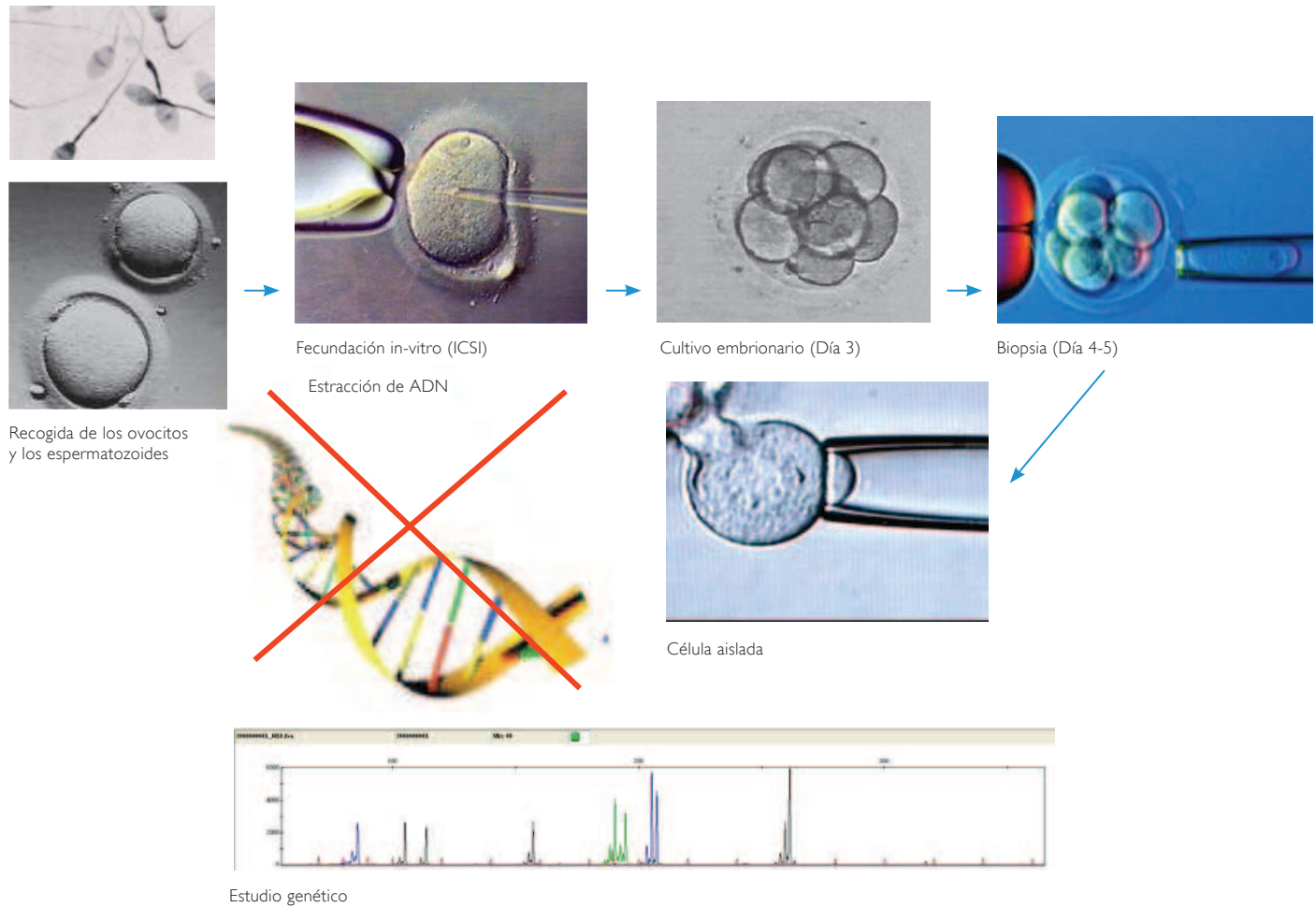
Solo para las mutaciones de origen paterno



Fuente: Dra. A. Bustamante Aragonés

El presente trabajo se realiza actualmente a través de un proyecto intramural de CIBERER en colaboración con el equipo de investigación del CIEMAT liderado por las Dras. Marcela del Río y M^a José Escámez (U714) y el grupo de trabajo del IIS-Fundación Jiménez Díaz (U704) que incluyen entre otros miembros del Servicio de Genética a los siguientes profesionales: D. Camilo Vélez Monsalve, Dra. Ana Bustamante Aragonés y Dra. Carmen Ayuso García.

Proceso de Diagnóstico Genético Preimplantación



PRENATAL SCREENING AND GENETIC DIAGNOSIS IN EPIDERMOLYSIS BULLOSA

Dra. M^a José Trujillo-Tiebas

Department: Genetics

IIS- Jiménez Díaz Foundation

Epidermolysis bullosa forms part of the genodermatosis group of conditions, which have extremely heterogeneous characteristics from both a clinical and genetic point of view. EB is currently considered to be an example of a rare disease because of the low number of cases apparent in the general population.

The most significant clinical symptom of the disease is the extreme fragility of the skin and mucosal membranes. This fragility is caused by the lack of protein anchors which would normally hold the layers of skin together.

Clinically speaking there are 3 different types of EB which range in severity: EB Simplex (affects the epidermis), Junctional EB (the area affected is the layer between the epidermis and dermis) and Dystrophic EB (when the dermis is affected).

Genetically speaking in most cases EB is inherited as a consequence of defective genes: there are a variety defective genes linked to this condition including: the autosomal dominant pattern, and the autosomal recessive inheritance pattern, but it can also be linked to chromosome x.

In order to identify the gene, a complete and comprehensive clinical history of the patient has to initially take place. This includes: information on the symptoms, blood results, skin biopsies and information on both the patient and any family members, which may help with the history. A family tree is put together with data on the parent's age, possible consanguinity, and the geographical origin of the family. All of the information will help to establish the responsible gene and will determine the process for analysis in the laboratory. The results will then be used to establish appropriate genetic counselling for each individual case.