

Lactante hipotónico con AME: pruebas genéticas y electrodiagnósticas

Image



Image



Lactante hipotónico con AME: pruebas genéticas y electrodiagnósticas

El diagnóstico temprano del lactante hipotónico con AME constituye un componente esencial para el manejo efectivo de los signos y síntomas de esta patología. Estudios recientes indican que los pacientes con AME tipo 1 pueden alcanzar la sedestación independiente si reciben el diagnóstico y tratamiento oportunamente¹.

Por esta razón, es importante conocer las herramientas de análisis clínico existentes para la detección de mutaciones en el gen SMN1, así como la medición del grado de afectación en las motoneuronas inferiores de los pacientes con AME. En el siguiente artículo, se llevará a cabo un repaso en torno a las pruebas de laboratorio genéticas y neuromusculares que integran el diagnóstico del lactante hipotónico con AME.

Lactante hipotónico con AME: pruebas genéticas

La confirmación genética del lactante hipotónico con AME se fundamenta en procedimientos avanzados como:

Matriz Array

También conocida como hibridación genómica comparativa basada en microarrays, array CGH o aCGH, esta técnica de citogenética molecular permite examinar el genoma completo de un individuo. De este modo, es posible detectar desequilibrios cromosómicos (deleciones o duplicaciones submicroscópicas) con un mayor nivel de resolución frente al cariotipo convencional²⁻³.

Para llevar a cabo este procedimiento, se utiliza una muestra de ADN del paciente y una muestra de control, las cuales se marcan con dos fluoróforos diferentes. Luego, las dos muestras se cohibridan y se comparan los niveles relativos de fluorescencia mediante un software de análisis de datos. La matriz de Array puede detectar cambios en las copias de ADN en múltiples loci de un genoma²⁻⁴.

En un estudio sobre AME, la matriz Array logró la detección de⁵:

- Paciente #1: microdelección de 1398 Kb en la región del cromosoma 5q13.2 y microdelección de 4832 Kb en la región del cromosoma 10q11.12-911.23.
- Paciente #2: duplicación de 461 Kb en el cromosoma 1q y una deleción de 1.78 Mb en el cromosoma 5q, pérdida de heterocigosidad en una región de 3.6 Mb en el cromosoma 1p y una región de 4.8 Mb en el cromosoma 14q.

Amplificación de sondas tras ligación múltiple

También conocido como Multiplex Ligation dependent Probe Amplification (MLPA) consiste en un método utilizado para la evaluación del número de copias en una secuencia genómica específica. En este sentido, se pueden analizar hasta 50 secuencias de ADN (principalmente exones en genes específicos) e identificar variaciones en el número de copias. Esto incluye pequeños reordenamientos intragénicos a partir de una sola

reacción⁶⁻⁷.

El proceso abarca los siguientes pasos²:

- Desnaturalización del ADN e hibridación de las sondas
- Reacción de ligadura
- Amplificación por PCR
- Separación de los productos de amplificación por electroforesis
- Análisis de datos

En el caso del lactante hipotónico con AME, posibilita la detección de deleciones en el exón 7 y/o 8 en SMN1. Sin embargo, este método no tiene la capacidad de detectar la pérdida de heterocigosidad por copia neutral y puede haber problemas en casos de mosaicismo².

qPCR y PCR-RFLP

Ambas herramientas ofrecen técnicas especializadas para el diagnóstico molecular de AME. Partiendo de aquí, la PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR) se encarga de detectar y cuantificar secuencias génicas de ADN y ARN de una muestra⁸⁻⁹.

Por su parte, la PCR de fragmentos de restricción de longitud polimórfica (PCR-RFLP) se utiliza para amplificar regiones determinadas del ADN a través de enzimas de restricción que cortan dicho ADN en secuencias específicas y fragmentos de tamaños diferentes¹⁰⁻¹¹.

En una investigación sobre AME, se extrajo ADN de una muestra de sangre de los pacientes. Las conclusiones indican que la PCR-RFLP puede detectar deleciones homocigóticas del gen SMN1, pero no heterocigosidad ni el número de copias del gen SMN2. En todo caso, su ventaja reside en su precisión para las pesquisas⁸.

A su vez, la qPCR puede detectar y cuantificar mutaciones puntuales y el número de copias de SMN1 y SMN2 con una especificidad del 100 % y una sensibilidad del 96,2 %. Este aspecto es de vital importancia en la medida que se puede establecer con claridad la probabilidad del desarrollo de fenotipos específicos en recién nacidos o lactantes que no poseen SMN1 homocigoto⁸⁻⁹.

Lactante hipotónico con AME: pruebas de electrodiagnóstico

En los pacientes con signos y síntomas de AME 5q que no cuentan con confirmación genética, se pueden implementar pruebas complementarias para estimar con precisión el grado de afectación en la conexión neuromuscular tales como:

Electromiografía

Este procedimiento aporta una visión completa de las denervaciones activas y ampliación compensatoria de los potenciales de acción de la unidad motora¹².

En el lactante hipotónico con AME, los potenciales de acción de la unidad motora muestran una amplitud y duración reducidas cuya actividad continua y espontánea (en frecuencias de 5 a 15 Hz) se diferencia de los potenciales de fasciculación por su ritmo regular de activación, persistencia durante largos períodos, capacidad de activación por control voluntario y aparición durante el sueño¹².

Estudios de conducción nerviosa

Este instrumento constata la pérdida axonal motora crónica y preservación de los potenciales de acción de los nervios sensoriales. De esta forma, las amplitudes de potencia de acción muscular compuesto funcionan como un biomarcador para la definición de la gravedad clínica del lactante hipotónico con AME¹².

Estimación del número de unidades motoras

Técnica que pondera el número de neuronas motoras que inervan un músculo o grupo de músculos. En lo que concierne a los pacientes con AME, se observa pérdida de unidad motora y transmisión neuromuscular fallida¹².

En suma, el reconocimiento de las pruebas genéticas y de electrodiagnóstico permiten el diagnóstico correcto del lactante hipotónico con AME y la consolidación de herramientas para el tratamiento oportuno de sus variables genotípicas-fenotípicas.

Referencias

1. Schorling DC, et al. Advances in Treatment of Spinal Muscular Atrophy – New Phenotypes, New Challenges, New Implications for Care. J Neuromusc Dis. [Internet]. 2020 [Citado 21 de noviembre 2024];7:1-13. Disponible en: <https://content.iospress.com/articles/journal-of-neuromuscular-diseases/jnd190424>
2. Stuppia L, Antonucci I, Palka G, Gatta V. Use of the MLPA assay in the molecular diagnosis of gene copy number alterations in human genetic diseases. Int J Mol Sci [Internet]. 2012 [Citado 21 de noviembre 2024];13(3):3245-3276. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3317712/>
3. Bejjani BA, Shaffer LG. Application of array-based comparative genomic hybridization to clinical diagnostics. J Mol Diagn [Internet]. 2006 [Citado 21 de noviembre 2024];8(5):528-33. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC1876176/>
4. Coliban I, Blăniță D, Hadjiu S, Ușurelu N, Revenco N, Sacară V. The link between clinical manifestations of sma and unbalanced genomic changes [Internet]. Idsi.md; [Citado el 21 de noviembre de 2024]. Disponible en: https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/126_14.pdf

5. Giordano J, Stosic M, Levy B, Wapner R. Chromosomal microarray analysis. M.E. Norton, J.A. Kuller, L. Dugoff (Eds.). Perinatal Genetics, Inc, Elsevier; 2019. p. 125-136. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780323530941000126>
6. Jedličková I, Přistoupilová A, Nosková L, Majer F, Stránecký V, Hartmannová H, Hodaňová K, Trešlová H, Hýblová M, Solár P, Minárik G, Giertlová M, Kmoch S. Spinal muscular atrophy caused by a novel Alu-mediated deletion of exons 2a-5 in SMN1 undetectable with routine genetic testing. Mol Genet Genomic Med [Internet]. 2020 [Citado 21 de noviembre 2024];8(7):e1238. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7336725/>
7. Kozłowski P, Jasinska AJ, Kwiatkowski DJ. New applications and developments in the use of multiplex ligation-dependent probe amplification. Electrophoresis [Internet]. 2008 [Citado 21 de noviembre 2024];29(23):4627-36. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1002/elps.200800126>
8. Hamzi K, Bellayou H, Itri M, Nadifi S. PCR-RFLP, sequencing, and quantification in molecular diagnosis of spinal muscular atrophy: Limits and advantages. J Mol Neurosci [Internet]. 2013 [Citado 21 de noviembre 2024];50(2):270-4. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s12031-012-9944-9>
9. Feldkötter M, Schwarzer V, Wirth R, Wienker TF, Wirth B. Quantitative analyses of SMN1 and SMN2 based on real-time lightCycler PCR: fast and highly reliable carrier testing and prediction of severity of spinal muscular atrophy. Am J Hum Genet. 2002 [Citado 21 de noviembre 2024];70(2):358-68. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC419987/>
10. Pourzand C, Cerutti P. Genotypic mutation analysis by RFLP/PCR. Mutat Res [Internet]. 1993 [Citado 21 de noviembre 2024];288(1):113-21. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/002751079390213Y>
11. Niba ETE, Rochmah MA, Harahap NIF, Awano H, Morioka I, Iijima K, Takeshima Y, Saito T, Saito K, Takeuchi A, Lai PS, Bouike Y, Matsuo M, Nishio H, Shinohara M. Spinal Muscular Atrophy: Advanced Version of Screening System with Real-Time mCOP-PCR and PCR-RFLP for SMN1 Deletion. Kobe J Med Sci [Internet]. 2019 [Citado 21 de noviembre 2024] 16;65(2):E49-E53. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7012194/>
12. Arnold WD, Kassar D, Kissel JT. Spinal muscular atrophy: diagnosis and management in a new therapeutic era. Muscle Nerve [Internet]. 2015 [Citado 21 de noviembre 2024];51(2):157-67. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/mus.24497>

Source URL:

<https://www.pro.novartis.com/ar-es/terapia-genica/lactante-hipotonico-con-ame-pruebas-geneticas-y-electrodiagnosticas>